

ПОМАГАЛО

ЗА ПОДГОТОВКА ЗА ДЪРЖАВЕН ИЗПИТ ПО

БИОЛОГИЯ

за студентите от специалности

Биология

Екология и опазване на околната среда

Медицинска биология

Микробиология и вирусология

Молекулярна биология



УНИВЕРСИТЕТСКО ИЗДАТЕЛСТВО „ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ“

Настоящото учебно помагало е предназначено за подготовка на студентите от специалности „Биология“, „Екология и опазване на околната среда“, „Медицинска биология“, „Микробиология и вирусология“ и „Молекулярна биология“ за държавния изпит. То е синхронизирано с конспектите за държавния изпит на петте специалности и покрива учебното съдържание по всички въпроси от изпитната програма. Обемът на отделните въпроси е съобразен с продължителността на държавния изпит и включва базовата информация, която студентите трябва да представят за успешното му полагане. В написването на настоящото учебно помагало са включени преподаватели от всички катедри на Биологическия факултет, които участват в обучението на студентите от петте специалности на професионално направление 4.3 Биологически науки. Авторите нямат претенциите помагалото да бъде единствения възможен и достатъчен източник на информация за подготовка на студентите. Всеки, който проявява интерес и има амбицията за отлично представяне, може да допълни съдържанието на въпросите, като за целта е посочена и подходяща литература.

Авторският колектив изразява надежда, че помагалото ще улесни студентите при подготовката и ще повиши резултатите от представянето им на държавния изпит.

Помагалото би могло да се използва и от студенти, които се обучават в специалност „Обучение по природни науки в прогимназиалния етап на училищното образование“ от Физико-технологичния факултет.

От авторите

АВТОРСКИ КОЛЕКТИВ

(авторите са подредени по академични длъжности и азбучен ред на собственото име):

проф. д-р Велизар Гочев (обща редакция и структуриране на помагалото, въпроси № 30 и 31 (ЕООС), № 28 (МедБ), № 25, 26 и 27 (МВ), № 22 (МолБ))
проф. д-р Валентина Тонева (въпроси № 18 (Б), № 10 (ЕООС))
проф. д-р Веселин Баев (въпрос № 20 (МолБ))
проф. д-р Галина Яхубян (въпроси № 6 и 7 (МВ), № 10, 11, 12, 13, 14 (МолБ))
проф. д.б.н. Дилян Георгиев (въпроси № 23, 27 (ЕООС))
проф. д-р Еленка Георгиева (въпроси № 8 (Б и МедБ), № 3 (ЕООС), № 4 (МВ и МолБ))
проф. д-р Иванка Димитрова – Дюлгерова (въпроси № 14 (Б), № 8 (ЕООС))
проф. д-р Пламен Стоянов (въпроси № 13 и 14 (МедБ))
проф. д-р Соня Костадинова (въпроси № 1 – за всички специалности, № 11 (Б), № 6 (ЕООС), № 2 и 10 (МедБ), № 9, 10 и 11 (МВ), № 8 (МолБ))
проф. д-р Теодора Стайкова (въпроси № 27 (Б), № 19 (ЕООС))
доц. д-р Анелия Стоянова (въпроси № 26 (Б), № 11, 13 и 15 (ЕООС), № 15 (МедБ))
доц. д-р Атанас Арнаудов (въпроси № 24 (Б), № 17 (ЕООС), № 19 (МедБ), № 22 (МВ), № 30 (МолБ))
доц. д-р Весела Митковска (въпроси № 21 (Б), № 12 (ЕООС), № 16 (МедБ), № 20 (МВ), № 28 (МолБ))
доц. д-р Гана Гечева (въпроси № 25, 26, 28, 29, 32 (ЕООС))
доц. д-р Елена Апостолова – Кузева (въпроси № 4 (Б и МедБ), № 19 и 21 (МолБ))
доц. д-р Емилия Андреевко (въпроси № 23 (Б), № 16 (ЕООС), № 17 и 20 (МедБ), № 21 (МВ), № 29 (МолБ))
доц. д-р Иван Илиев (въпроси № 30 и 31 (ЕООС), № 29 (МВ))
доц. д-р Иванка Тенева – Джамбазова (въпроси № 29 и 30 (МедБ), № 17 (МВ))
доц. д-р Ивелин Моллов (въпроси № 28 и 30 (Б), № 18, 20, 22, 24 (ЕООС), № 27 (МедБ))
доц. д-р Красимир Тодоров (въпроси № 18 и 19 (МВ), № 23 и 24 (МолБ))
доц. д-р Мариана Мърхова (въпроси № 25 (Б), № 22 и 23 (МедБ), № 15, 23 и 28 (МВ), 31 (МолБ))
доц. д-р Мария Пишмишева (въпрос № 31 (МВ))
доц. д-р Марияна Гозманова (въпроси № 17 (Б), № 8 и 16 (МВ), № 15 и 25 (МолБ))
доц. д-р Пенка Василева (въпроси № 4 (ЕООС), № 5 (МолБ))
доц. д-р Петър Бояджиев (въпроси № 27 (МолБ)).
доц. д.с.н. Самир Наимов (въпроси № 17 и 18 (МолБ), № 14 (МВ))
доц. д-р Славя Петрова (въпроси № 29 (Б), № 21, 34 и 36 (ЕООС), № 24 (МВ))
доц. д-р Стела Стоянова (въпроси № 9 (Б и МедБ), № 5 (ЕООС), № 6 (МолБ))
доц. дн Тихомир Въчев (въпроси № 5 (Б, МедБ))
доц. д-р Тонка Василева (въпроси № 10 и 12 (Б) № 11 (МедБ), № 7 (МолБ), № 13 (МВ))
доц. д-р Теодора Попова (въпроси № 7 (Б и МедБ), № 5 (МВ))
доц. д-р Христо Димитров (въпроси № 21 (Б), № 12 (ЕООС), № 16 (МедБ), № 20 (МВ), № 28 (МолБ))
доц. д-р Ценка Радукова (въпроси № 15 и 16 (Б), № 9 (ЕООС))
доц. д-р Ценка Часовникарлова (въпрос № 15)
гл. ас. д-р Боряна Георгиева (въпроси № 22 (Б), № 18 (МедБ))
гл. ас. д-р Весела Янчева (въпроси № 27, 33 и 35 (ЕООС))
гл. ас. д-р Веселин Биволарски (въпроси №13 (Б), № 7 (ЕООС), № 12 (МедБ), № 12 (МВ), № 9 (МолБ))
гл. ас. д-р Джамал Мотен (въпроси № 2 (Б и ЕООС), № 3 (МедБ), № 2, 32 и 33 (МолБ))
гл. ас. д-р Десислава Апостолова (въпроси № 3 (Б), № 2 и 3 (МВ))
гл. ас. д-р Евелина Даскалова (въпроси № 16 (МолБ))
гл. ас. д-р Иван Стоянов (въпрос № 6 (Б и МедБ), № 24 и 25 (МедБ), № 3 (МолБ))
гл. ас. д-р Мирослав Антов (въпроси № 19 и 20 (Б), № 11 (ЕООС), № 15 (МедБ), № 30 (МВ))
гл. ас. д-р Младен Найденов (въпроси № 22 (Б), № 17 (ЕООС), № 18 (МедБ))
гл. ас. д-р Огнян Тодоров (въпроси № 14 (ЕООС))
гл. ас. д-р Румяна Вълкова (въпроси № 26 (МолБ))
гл. ас. д-р Яна Христова – Иванова (въпроси № 26, 27, 32, 33 и 34 (МВ))
д-р Борислав Матеев (въпрос № 26 (МедБ))
д-р Станислав Коцев (въпрос № 31 (МВ))

СЪДЪРЖАНИЕ

СПЕЦИАЛНОСТ „БИОЛОГИЯ“.....	18
1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори	23
2. Структурна организация на еукариотната клетка. Едномембранни клетъчни органели – структура и функция	28
3. Клетъчна сигнализация. Функции на клетъчно-повърхностните рецептори. G-протеин-свързани рецептори, протеин-тирозинкиназни рецептори и цитокинови рецептори	33
4. Генетичен материал и ДНК репликация. Нуклеинови киселини – първична и вторична структура на ДНК и РНК, денатурация и ренатурация. Репликация на ДНК – репликон, ДНК полимерази, основни етапи. Особенности при прокариоти и еукариоти	38
5. Реализация на генетичната информация. Транскрипция – транскрипционна единица. РНК полимерази, основни етапи, транскрипционни фактори. Особенности при прокариоти и еукариоти. Транслация – основни етапи, транслационни фактори	43
6. Хромозомите – клетъчни структури, носители на наследствеността. Морфология и молекулен строеж. Кариотип	48
7. Мутационна изменчивост. Геномни мутации.....	53
8. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Оплождане. Етапи на ембрионалното развитие при животните. Зародишни обвивки и плацентация	58
9. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете).....	63
10. Ензими. Общи свойства на ензимите. Субстратна специфичност на ензимното действие. Кинетика на ензимната реакция. Регулация на ензимната активност.....	68
11. Ферментации.....	74
12. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.....	79
13. Катаболизъм на белтъци и α -аминокиселини. Дезаминиране, трансаминиране, декарбоксилиране. Разграждане на въглеродния скелет. Орнитинов цикъл.....	87
14. Анатомо-морфологична характеристика на растенията. Размножителни структури и размножаване при спорови и семенни растения	93
15. Характеристика и класификация на талусните растения – представители	98
16. Характеристика и класификация на кормусните растения – представители.....	103
17. Фотосинтеза. Обща характеристика. Пигментни системи. Механизми на фотосинтезата	108
18. Растителни пигменти – физични и химични свойства, физиологична роля.....	113
19. Тип <i>Mollusca</i> (Мекотели) – обща характеристика. Организация на тялото и особености в устройството при различните класове. По-важни представители на класовете <i>Gastropoda</i> , <i>Bivalvia</i> и <i>Cephalopoda</i>	118

20. Клас <i>Insecta</i> (Насекоми) – морфология и придатъци на тялото. Хемиметаболно и холометаболно развитие. Основни разреди и представители	123
21. Адаптации за живот при клас <i>Aves</i> (Птици). Класификация на клас <i>Aves</i>	128
22. Морфологичен строеж на сърцето. Физиологични свойства на миокарда. Сърдечен цикъл. Основни показатели на работата на сърцето. Регулация на сърдечната дейност	133
23. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората	138
24. Физиология на възбудимите системи. Мембранен потенциал и потенциал на действие. Невронът като възбудима структура. Синапси и видове медиатори	143
25. Структура и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие. Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими	149
26. Ареали на организмите – определение, структура, картиране, видове ареали. Ендемити и реликти – определение, палеоендемити и неоендемити, терциерни и ледникови реликти	155
27. Фактори, променящи генотипната структура на популациите	159
28. Закономерности на влиянието на факторите на средата	164
29. Екосистема – същност, трофична структура и поток на енергията, екологични пирамиди	168
30. Заплахи за биологичното разнообразие в България. Защитени природни територии в Република България	172
СПЕЦИАЛНОСТ „ЕКОЛОГИЯ И ОПАЗВАНЕ НА ОКОЛНАТА СРЕДА“	177
1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори	182
2. Структурна организация на еукариотната клетка. Едномембранни клетъчни органели – структура и функция	187
3. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Оплождане. Етапи на ембрионалното развитие при животните	192
4. Генетика на пола. Детерминиране на пола при мъжка и женска хетерогаметност. Половосвързана наследственост	197
5. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете)	202
6. Ферментации	207
7. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм	212
8. Вегетативни органи при растенията – функция, морфологична и анатомична характеристика. Метаморфози на вегетативните органи при растенията	220
9. Обща характеристика и класификация на талусни и кормусни растения. Представители с консервационен статус в Българската флора	224

10. Растителни пигменти – физични и химични свойства, физиологична роля.....	229
11. Тип <i>Platyhelminthes</i> (Плоски червеи) – обща характеристика. Устройство на тялото и жизнени цикли на представители от клас <i>Trematoda</i> и клас <i>Cestoda</i>	234
12. Адаптации за живот във водна среда при надклас <i>Pisces</i> (Риби). Класификация на надклас <i>Pisces</i>	239
13. Биологичен контрол – същност. Екологични основи на биологичния контрол, категории биоагенти. Методи и подходи за използване на ентомофаги и акарофаги.....	244
14. Главни местообитания в хидроферата. Основни жизнени форми при хидробионтите: планктон, нектон и бентос.....	247
15. Биомии на сушата – физикогеографски и екологични характеристики. Характерни представители на растителните и животински съобщества	252
16. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората	257
17. Физиология на дишането при човека. външно дишане. обеми и капацитети на белите дробове. газова обмяна. регулация на дишането. адаптационни промени под влияние на външни фактори	262
18. Популации – същност, особености, свойства и динамика	267
19. Фактори, променящи генотипната структура на популациите	272
20. Биоценози. Положителни и отрицателни взаимоотношения в биоценозите.....	277
21. Екосистема – същност, трофична структура и поток на енергията, екологични пирамиди	284
22. Заплахи за биологичното разнообразие в България.....	288
23. Закон за Биологичното разнообразие	292
24. Защитени природни територии в Република България	297
25. Мониторинг – основни понятия и класификация. Организация на екологичния мониторинг в България. Национална система за мониторинг на биологичното разнообразие	301
26. Мониторинг на води. Физикохимични методи. Биологичен мониторинг. Биотични индекси. Рамкова Директива за Води 2000/60/ЕС. Биологични елементи за качество	306
27. Замърсяване на водите – твърди отпадъци, детергенти и нефт	309
28. Качествени параметри на отпадъчните води. Биологично пречистване в естествени условия. ИВЗ-процеси.....	316
29. Управление на качеството на водите в България	320
30. Биотехнологични методи за пречистване на отпадни води. Интензивни методи за аеробно и анаеробно пречистване на отпадни води – състав на активната утайка. Фактори влияещи върху хода на процеса, технологични особености	324
31. Биотехнологични методи за пречистване на твърди отпадъци. Теоретични основи и технологични особености на процеса компостиране.....	329
32. Замърсяване на въздуха: регионални и глобални проблеми. Градско замърсяване. Особености на оценката на замърсяване на атмосферния въздух	335
33. Процеси на акумулация, биоаккумуляция и биоманефикация. Синергизъм и антагонизъм в действието на токсичните вещества.....	340

34. Класификация на почвите в България. Разпространение на типовете почви на територията на страната.....	343
35. Есетрови риби в България – биологична характеристика, консервационен статус и стопанско значение	347
36. Основни етапи при разработване на система за управление на околната среда. Обща характеристика	351
СПЕЦИАЛНОСТ „МЕДИЦИНСКА БИОЛОГИЯ“	356
1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори.....	361
2. Вируси. Вирусна структура. Репродукция на ДНК и РНК вируси.....	366
3. Структурна организация на еукариотната клетка. Двумембранни клетъчни органели – структура и функция	371
4. Генетичен материал и ДНК репликация. Нуклеинови киселини – първична и вторична структура на ДНК и РНК, денатурация и ренатурация. Репликация на ДНК – репликон, ДНК полимерази, основни етапи. Особенности при прокариоти и еукариоти	376
5. Реализация на генетичната информация. Транскрипция – транскрипционна единица. РНК полимерази, основни етапи, транскрипционни фактори. Особенности при прокариоти и еукариоти. Транслация- основни етапи, транслационни фактори.....	381
6. Хромозомите – клетъчни структури, носители на наследствеността. Морфология и молекулен строеж. Кариотип	386
7. Мутационна изменчивост. Хромозомни мутации.....	391
8. Мъжки и женски полови клетки при човека – образуване и устройство. Ембрионално развитие при човека от първа до осма седмица от оплождането. Зародишни обвивки и плацентация	397
9. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете).....	402
10. Ферментации.....	407
11. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.....	412
12. Катаболизъм на белтъци и α -аминокиселини. Дезаминиране, трансаминиране, декарбоксилиране. Разграждане на въглеродния скелет. Орнитинов цикъл.....	420
13. Специфични структури и биологично-активни вещества в растителните клетки. Отделителни структури при висшите растения	426
14. Покритосеменни растения с приложение в народната и официалната медицина	430
15. Паразитни плоски и кръгли червеи с медицинско значение – жизнени цикли на <i>Taenia solium</i> , <i>Taenia saginata</i> , <i>Echinococcus granulosus</i> , <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichinella spiralis</i>	433
16. Видове зоонози и разпространение при основни групи гръбначни животни	438
17. Морфологичен строеж на сърцето и кръвоносните съдове при човека. Кръгове на кръвообращение	443

18. Функции на сърцето. Физиологични свойства на миокарда. Сърдечен цикъл. Основни показатели на работата на сърцето. Физиология на кръвоносните съдове. Регулация на сърдечно-съдовата система	448
19. Физиология на възбудимите системи. Мембранен потенциал и потенциал на действие. Невронът като възбудима структура. Синапси и видове медиатори	453
20. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората	459
21. Ендокринни жлези – натомични и функционални особености. Хипофиза-топография, макро- и микроскопско устройство, хормони на адено- и неврохипофизата. Хипоталамо-хипофизна система. Устройство и хормони на щитовидната, надбъбречните и задстомашната жлези	464
22. Структура и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие. Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими	470
23. Инфекция, инфекциозен процес, инфекциозна болест. Свойства на инфекциозните агенти – патогенност, вирулентност, инвазивност, токсигенност. Фактори на патогенност и вирулентност	476
24. Полово свързано предаване на наследствените признаци (болести) при човека. X-свързан рецесивен и X-свързан доминантен тип унаследяване	483
25. Менделиращи признаци при човека. Моногенни заболявания с автозомно-доминантно и автозомно-рецесивно унаследяване	487
26. Признаци и симптоми за безплодие (инфертилитет) при жените. Причини, диагностика и лечение	491
27. Класификация и методи на изучаване на биоритмите. Биоритми и адаптация при човека	494
28. Обща характеристика и класификация на антибиотиците. Механизъм на действие на различните класове антибиотици. Биотехнологии за получаване на антибиотици (β -лактами, тетрациклини, аминогликозиди, макролиди и анзамицини)	500
29. Основни концепции в токсикологията и видове токсично увреждане на организмите. Токсикокинетика и токсикодинамика – същност	504
30. Токсични вещества и интоксикации. Нелекарствени и лекарствени отравяния. Характеристика на основните увреждания с токсични вещества и медикаменти	509
СПЕЦИАЛНОСТ „МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ“	514
1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори	518
2. Клетъчна сигнализация. Функции на клетъчно-повърхностните рецептори. G-протеин-свързани рецептори, протеин-тирозинкиназни рецептори и цитокинови рецептори	523
3. Цитоскелет и микротръбички. Роля на микротръбичките при вирусно-клетъчните взаимодействия	528

4. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Етапи на ембрионалното развитие при животните. Кратка морфофункционална характеристика на типовете тъкани при животните.....	533
5. Мутационна изменчивост. Хромозомни мутации.....	538
6. Репликация. Полуконсервативен модел. Молекулен апарат – репликон, ДНК полимерази. Механизъм и основни етапи – инициация, удължаване (синтез на водещата и изоставащата верига) и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти	544
7. Транскрипция. Молекулен апарат – транскрипционна единица, РНК-полимерази. Механизъм и основни етапи – инициация, удължаване и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти	549
8. Репликация и регулация на генната експресия на вируси с РНК геноми	553
8. Ферментации.....	558
10. Хемолитотрофен метаболизъм. Основни физиологични групи хемолитотрофи. Фиксация на CO ₂ – цикъл на Калвин; редукиривен цикъл на трикарбоновите киселини.....	563
11. C1 метаболизъм	570
12. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.....	576
13. Катаболизъм на α-аминокиселини	584
14. Вектори за молекулярни клониране – плазмидни и фагови вектори, космиди. Клонирание в плазмидни вектори, скрининг и селекция за рекомбинанти – инсертна инактивация, синьо-бяла селекция	590
15. Защитни механизми при бактерии и археи. Системи за рестрикция и модификация. Система BREX. Argonaute – центрирана система. Системи токсин – антитоксин. ABI системи за изключване на фаги. Система DISARM. Адаптивен имунитет: системи CRISPR–Cas	593
16. Основните механизми за резистентност на растенията към вируси, естествена резистентност и съвременни генно-инженерни подходи	599
17. Водораслови цъфтежи. Токсин-продуциращи водорасли. Цианотоксини – класификация, характеристика и механизъм на действие. Методи за детекция на цианотоксини	604
18. Растителна клетка – форма, размери и специфични структури.....	609
19. Отделителни (секреторни) структури при растенията – видове и характеристика	611
20. Произход и еволюция на надклас Tetrapoda (Четирикраки)	613
11. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората	619
22. Физиология на храносмилането. Храносмилане в устната кухина, стомаха, тънкото и дебелото черво. Роля на нормалната чревна микрофлора и пробиотиците при поддържането на хомеостазата	624
23. Структура и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие. Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими.....	629

24. Екосистема – същност и дефиниция.....	635
25. Морфологична, физиологична и технологична характеристика на промишлените микроорганизми. Изолиране на природни щам-продуценти и подходи за повишаване на продуктивността им. Методи за съхранение на индустриални микробни продуценти на биопродукти.....	639
26. Култивиране на микроорганизмите в промишлени условия – кинетични и технологични особености на периодично култивиране. Фактори, влияещи върху развитието на продуцентите и биосинтеза на целеви продукти	644
22. Обща характеристика и класификация на антибиотиците. Механизъм на действие на различните класове антибиотици. Биотехнологии за получаване на антибиотици (β -лактами, тетрациклини, аминогликозиди, макролиди и анзамицини).....	649
28. Инфекция, инфекциозен процес, инфекциозна болест. Свойства на инфекциозните агенти – патогенност, вирулентност, инвазивност, токсигенност. Фактори на патогенност и вирулентност.....	653
29. Микотични инфекции при човека – етиология, патогенеза и диагностика на мукормикози, кандидози и аспергилози. Антимикотични агенти – азоли, алиламини, ехинокандини, полиени	660
30. Тип Apicomplexa (Спорови) – обща характеристика. Медицинско значение на представителите от класовете Coccidia (Кокцидии) и Naematozoa (Кръвни спорови): морфология, жизнени цикли и заболявания	665
31. Природоогнищни инфекции. Кърлежово-преносими болести	670
32. Микрофлора на водата. Микробиологична оценка на питейната вода. Индикаторни микроорганизми. Мембранно-филтрационен метод за определяне на общ брой микроорганизми, <i>Escherichia coli</i> и колиформни бактерии.....	673
33. Микробиологично изследване на мляко и млечни продукти – микробиологични показатели, патогенни микроорганизми в млякото, определяне на общ брой микроорганизми и коагулазо-положителни стафилококи (<i>Staphylococcus aureus</i>) в пастеризирано мляко	677
34. Принципи и обхват на системата HACCP. Етапи на разработване на HACCP – план. Системи за управление на микробиологичната безопасността на храните, базирани на HACCP. Акредитация и сертификация	681
СПЕЦИАЛНОСТ „МОЛЕКУЛЯРНА БИОЛОГИЯ“.....	686
1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазматична мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори	690
2. Структурна организация на еукариотната клетка. Двумембранни клетъчни органели – структура и функция	695
3. Хромозомите – клетъчни структури, носители на наследствеността. Морфология и молекулен строеж. Кариотип	700
4. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Оплождане. Етапи на ембрионалното развитие при животните	705
5. Генетика на пола. Детерминиране на пола при мъжка и женска хетерогаметност. Половоствързана наследственост	710
6. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете).....	715

7. Ензими. Общи свойства на ензимите. Субстратна специфичност на ензимното действие. Кинетика на ензимната реакция. Регулация на ензимната активност	720
8. Ферментации.....	726
9. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.....	731
10. Нуклеинови киселини. Първична и вторична структура на ДНК и РНК. Денатурация и ренатурация, хибридизация. Секвениране по Сангър	739
11. Репликация. Полуконсервативен модел. Молекулен апарат – репликон, ДНК полимерази. Механизъм и основни етапи – инициация, удължаване (синтез на водещата и изоставащата верига) и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти	744
12. Транскрипция. Молекулен апарат – транскрипционна единица, РНК-полимерази. Механизъм и основни етапи – инициация, удължаване и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти	749
13. Транслация. Генетичен код. Молекулен апарат – иРНК, тРНК и рибозоми. Механизъм и основни етапи на транскрипция – натоварване на аминокиселините върху тРНК, инициация, удължаване и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти	753
14. Регулация на генната експресия при прокариоти – основна цел, координирана регулация на прокариотните гени, лактозен оперон. Регулация на генната експресия при еукариоти – основни цели, нива и механизми на регулация	758
15. Репликация и регулация на генната експресия на вируси с РНК геноми	763
16. Подвижни генетични елементи (транспозони) – класификация, теории за геномната функция. Примери за функционални подвижни елементи	768
17. Вектори за молекулярни клониране – плазмидни и фагови вектори, космиди. Клонирание в плазмидни вектори, скрининг и селекция за рекомбинанти – инсертна инактивация, синьо-бяла селекция	773
18. Получаване на индивидуални ДНК клонове – геномни и кДНК библиотеки. Получаване на клонове посредством PCR. Подходи за скрининг геномни и кДНК библиотеки	776
19. ДНК маркери: основни видове, характеристики и прилагането им в екологични проучвания	779
20. Биологични бази данни – структура. NCBI – GeneBank. Сравняване на секвенции и BLAST	784
11. Дизайн и анализ на биологичен експеримент: принципи, етапи и методи за обработка и интерпретация на експериментални данни.....	788
22. Микробни продуценти на биопродукти – морфологични, физиологични, генетични и технологични характеристики. Индустриални микробни биотехнологии за получаване на биологично активни вещества (антибиотици и витамини).....	793
23. Растителна клетка – специфични структури. Цитологична характеристика, местоположение и функции на растителните тъкани	799
24. Обща характеристика и класификация на талусни и кормусни растения	802
25. Фотосинтеза. Обща характеристика. Пигментни системи. Механизми на фотосинтезата	806

26. Растителни <i>in vitro</i> култури; видовете култури, начините на култивиране, значението и практическо приложение. Тотипотентност	811
27. Тип <i>arthropoda</i> (членестоноги) – обща характеристика. подтип <i>chelicerata</i> (хелицерови) – морфология на тялото при различните разреди и представители	815
28. Произход и еволюция на надклас Tetrapoda (Четирикраки)	821
29. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората	826
30. Физиология на възбудимите системи. Мембранен потенциал и потенциал на действие. Невронът като възбудима структура. Синапси и видове медиатори	831
31. Структура и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие. Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими	837
32. Пътища на сигнална трансдукция при ембрионалното развитие. Wnt сигнализация и Wnt рецептори. Hedgehog сигнализация и Hedgehog рецептори	843
33. Принципи на регенерацията. Модели за изучаване на регенерацията. Регенеративна медицина	848

ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- Ангелов, П. Анатомия, морфология и систематика на безгръбначните животни. Изд. „Наука и изкуство“, София, 1986.
- Антонова-Николова, С., Йочева, Л., Иванова, И. Хранителна микробиология. 2015.
- Арnaudов, А. Екологична физиология на животните и човека. Университетско издателство „П. Хилендарски“, 2010 г.
- Асенов, А. Биогеография. УИ „Св. Климент Охридски“, 2019.
- Асенов, А. Биогеография и природен капитал на България. УИ „Св. Климент Охридски“, 2021.
- Атанасова, А. Зоология на гръбначните животни. Изд-во „Абагар“, Велико Търново, 1999.
- БДС EN ISO 9308-1:2014. Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 1: Membrane filtration method, 2014.
- БДС EN ISO 6222:2002. Water quality – Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium, 2002.
- Белкинова, Д., Гечева, Г., Чешмеджиев, С., Димитрова-Дюлгерова, И., Младенов, Р., Маринов, М., Тенева, И., Стоянов, П., Иванов, П., Михов, С., Пехливанов, Л., Варадинова, Е., Карагъзова, Ц., Василев, М., Апостолу, А., Велков, Б., Павлова, М. Биологичен анализ и екологична оценка на типовете повърхностни води в България. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив., 2013.
- Бечев, Д. Биогеография, кратък курс <http://web.uni-plovdiv.bg/bechev/biogeobg>, 2019.
- Богоев, В., А. Кенарова. Основи на екологията. Пенсофт, София, 2009.
- Боев, З., Г. Герасимов. Колхидски фазан *Phasianus colchicus*, Common Pheasant. – В: Атлас на гнездящите птици в България. (Природозащитна поредица; 10). Българско дружество за защита на птиците, София, 2007.
- Бояджиян, Х. (ред.). Инфекциозни болести. Медицина и физкултура. София, 2009.
- Василев, В., Р. Василев, П. Янков, Н. Камбурова, Й. Узунов, Л. Пехливанов, Б. Георгиев, Г. Попгеоргиев, Б. Асьов, С. Аврамов, Р. Ценова, Ю. Корнилев. Национален план за опазване на най-значимите влажни зони в България 2013 – 2022. Проект LIFE08/ NAT/BG/000277, София, 2013.
- Василева, Т., Илиев, И., Биволарски, В. Ръководство по ензимология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2015.
- Воденичаров, Д. Систематика на растенията. Част I. Прокариотни водорасли и талусни растения. PENSOFT, България, 2000.
- Генов, Т., В. Бисерков, Б. Георгиев. Зоология. Кратък курс. Изд-во Пенсофт, София, 2002.
- Генова, Г., Китанова, М., & Кръстанова, О. Генетика. Гей-Либрис, София, 2019.
- Георгиев, Г. Националните и природните паркове и резерватите в България. Изд. „ГейЛибрис“, София, 2004.
- Георгиев, Г. Природа под закрила. Националните и природните паркове и резерватите в България. Изд. „ГейЛибрис“, София, 2010.
- Георгиев, Д., И. Велчева, Г. Гечева, С. Петрова, В. Янчева, И. Моллов. Замърсяване на водите и въздействие върху екосистемите. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, 2023.
- Гечева, Г., Л. Юрукова. Екологичен мониторинг. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2010.
- Гикова, М., Савова, Н., Пендева, М., Зарева, И., Стефанов, З. Анатомия на човека, Изд. НСА ПРЕС, София, 2006.
- Големански, В., Р. Давидова, Хр. Христов. Безгръбначни животни. Ръководство за лабораторни и теренни занятия по зоология. УИ „Епископ Константин Преславски“, Шумен, 2006.
- Големански, В. Зоология на безгръбначните животни. УИ „Епископ Константин Преславски“, Шумен, 2003.
- Големански, В., М. Шишиньова. Зоология на безгръбначните животни. „Гера-Арт“, София, 2001.
- Гърчев, Р., Витанова, Л., Белова, Н., Куртев, А., Йорданова-Попова, Е., Стоименова, Б., Няголов, Ю. Физиология (В. Витанова, Л.; Гърчев (Ed.); второ издание). Медицинско издателство „АРСО“, Пловдив, 2015
- Груев, Б., Кузманов, Б. Обща биогеография. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 1999.
- Дажо, Р. Основы экологии. Изд. „Прогрес“, Москва, 1975.
- Даскалова, Е. Минков, И. Молекулярна еволюция. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2007.

- Денкова, З., Костов, Г., Денкова-Костова, Р., Тенева, Д., Горанов, Б. Хранителна микробиология. Акад. Изд. УХТ, 2018
- Донев, А. Зоология на безгръбначните. ИПК „Екобелан“, Асеновград, 2001.
- Донев, А., А. Стоянова, П. Бояджиев. Ръководство за лабораторни упражнения по зоология на безгръбначните. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2009
- Иванов, Д. Фауна на България. 30., Птици, 3. БАН, София, 2011.
- Иванова, Л., Въткова, В., Попова, Р., Янева, П. Хигиена и хранене. София, 2025
- Иванова, Е., Стайкова, Т., Андреев, Е. *Генетика с биологични основи на поведението и психогенетика*. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2011.
- Иванова, Е., Стайкова, Т., Ирикова, Т. *Генетика на човека*. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2001.
- Илиев, И., Василева, Т. Ензимология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2014.
- Кирчева, М. Екологични биотехнологии. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2002.
- Киряков, И. К. Систематика на растенията. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 1999.
- Комитова, Р. Инфекциозни болести. Лакс Бук, Пловдив, 2022.
- Костадинова, П., И. Велчева, К. Кузмова. Основи на екологията. Изд. АУ, Пловдив, 2006.
- Костадинова, С. Микробен метаболизъм. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2001.
- Кратък наръчник по „Фирмено управление на околна среда“ за МСП в България от секторите: металообработване, химически, повърхностна обработка, електроника и електротехника, текстил. Фондация „ГИС-ТрансферЦентър“, София, 2012, <https://www.gis-tc.org/>
- Межова, Л. А., Луговской, А. М., Братков, В. В. 2023. Биогеография. КноРус, 244 с.
- Митев, Д. Зоология на гръбначните животни. УИ „П. Хилендарски“, Пловдив, 2011.
- Митов, И., Гергова, Р., Боянова, Л. и др. Медицинска микробиология. Медицинско издателство Арсо, София, 2023.
- Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова, И., Белкинова, Д., Тенева, И., Радукова, Ц., Младенов Р., Стоянов, П. Фармацевтична ботаника I част. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2018.
- Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова-Дюлгерова, И., Белкинова, Д., Тенева, И. Радукова, Ц., Стоянов, П. Фармацевтична ботаника II част. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2017.
- Младенова, Ц., Гюзелева, Д., Тодоров, К., Стоянов, П. Учебно помагало по Систематика на растенията (Фармацевтична ботаника II част). УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2025.
- Наредба № Н-4 от 14.09.2012 г. за характеризиране на повърхностните води. Издадена от министъра на околната среда и водите, обн., ДВ, бр. 22 от 5.03.2013 г., в сила от 5.03.2013 г., изм. и доп., бр. 79 от 23.09.2014 г., в сила от 23.09.2014 г., бр. 85 от 2.10.2020 г., изм., бр. 13 от 16.02.2021 г., в сила от 16.02.2021 г., изм. и доп., бр. 67 от 4.08.2023 г., в сила от 4.08.2023 г.
- Наредба № 9 от 16.03.2001 г. за качеството на водата, предназначена за питейно-битови цели. Министерство на здравеопазването, ДВ, посл. изм. и доп.
- Национален доклад за състоянието и опазването на околната среда в Република България. Изпълнителна агенция по околна среда (ИАОС), ежегодни издания.
- Николова, М. Анатомия на човека. Учебник за студенти по биология. Изд. „Макрос“, Пловдив, 2011.
- Нанкинов, Д., Симеонов, С. Д., Милчев, Т. М. и Иванов, Б. Е. 1997. Фауна на България. 26., Птици, 2. БАН.
- Наумова, Е. (ред.) Клинична имунология. Ръководство за студенти. Централна медицинска библиотека. МУ – София, 2021.
- Николова, М., Тинешев, С., Андреев, Е., Младенова, С., Балтаджиев, А. Анатомия и физиология на човека. Изд. „Макрос“, Пловдив, 2013.
- Нинова, Д. Анатомия и морфология на растенията. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2003.
- Пенин, Р. Природна география на България. Булвест, София, 2000.
- Пенчев, Г. Екологично право. Специална част. Изд. Ciela, София, 2019.
- Петрова, С., И. Велчева, Б. Николов. Ръководство за лабораторни упражнения по почвознаие и замърсяване на почвите. УИ „Паисий Хилендарски“, 2018.
- Пешев, Ц. Зоология на гръбначните животни. София, 1994.
- Пешев, Ц., Д. Нанкинов, Д. Пешев. Гръбначните животни в България. София, 2003.
- Попов, П., Ирикова, Т. Обща генетика. УИ ПУ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2003.

- Примак, Р., Й. Узунов, Б. Георгиев. Консервационна биология. Изд. Pensoft, София, 2018.
- Рукмански, Г. Ролята на мутациите в живата природа. Издателство „Гемплант“, София, 2005.
- Русев, В., Божкова, К. Медицинска микробиология. МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов“, Варна, 2013.
- Семерджиева, Е., Арnaudов, А. Основи на биофизиката. Университетско издателство „П. Хилендарски“, 2021 г.
- Стайкова, Т., Иванова, Е., Попова, Т., Стоянов, И., Василева, П. Учебник по Популационна генетика. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2011.
- Стойчева-Въртигова, М. Инфекциозни болести – учебник за медицински специалисти и студенти по дентална медицина, компендиум за студенти по медицина. Издателство Лаксбук, Пловдив, 2023.
- Тачев, А. Физиология на човека и животните. УИ „П. Хилендарски“, 2010.
- Тенева, И. Фикология. – Второ преработено и допълнено издание. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2025.
- Терзийски, Г. Наръчник за изграждане на изкуствени влажни зони за пречистване на отпадъчни води. СНЦ Екофорум – За природата, 2006.
- Тодоров, К., Младенова, Ц., Гюзелева, Д., Стоянов, П. Учебно помагало по Ботаника (Фармацевтична ботаника). УИ „Паисий Хилендарски“, 2025.
- Узунов, Й., Ковачев, С. Хидробиология. Pensoft, София-Москва, 2002.
- Цонев, Р. Защитени територии и опазване на биологичното разнообразие. Университетско издателство „Св. Климент Охридски“, София, 2020.
- Хайдушка, И., Атанасова, М., Кирина, В., Кълвачев, З. Медицинска микробиология. Лакс Бук, Пловдив, 2016.
- Хиткова, Х., В. Едрева-Бешева, М. Молова, К. Лисаева, П. Лачовска. Санитарна микробиология, МУ – Плевен, 2023
- Янчева, Н. Учебник по инфекциозни болести. Арбилис, 2023.
- Яхубян, Г. Регулация на генната експресия при еукариоти: Транскрипция и Транскрипционен контрол. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2025.
- Яхубян, Г. Основи на молекулярната биология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив, 2025.
- Abbas, A., Lichtman, A., Pillai, S. Cellular and Molecular Immunology. 10th ed., Elsevier, Philadelphia, USA, 2021.
- Alberts, B., Hopkin, K., Johnson, A., Morgan, D., Roberts, K. Essential Cell Biology. 6th ed., W. W. Norton & Company, New York, USA, 2023.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. *Molecular biology of the cell* (7th ed.). W. W. Norton & Company, New York, USA, 2022.
- Bartram, J., Cotruvo, J., Exner, M., Fricker, C., Glasmacher, A., Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety. London: IWA Publishing, 2003.
- Bhattacharjee, D. Human chromosome structure, aberrations and technique. In K. N. Saraswathy & B. Murry (Eds.), *Genes, health and anthropology* Concept Publishing Company, USA, 2023.
- Brusca, R., G. Giribet, W. Moore. Invertebrates. Fourth edition, 2022.
- Cohen, G. Microbial Biochemistry, 3th Ed., Springer, 2014.
- Cooper, G. M. The Cell – A Molecular Approach. 8th ed. Sinauer Associates, Inc., Oxford University Press, 2019.
- Cooper, G. M., & Hausman, R. E. *The cell: A molecular approach* (9th ed.). Oxford University Press, UK, 2021.
- Cox, C. B., Moore, P., Ladle, R., Biogeography: An ecological and evolutionary approach. Ninth edition. Wiley Blackwell scientific publication, 2010.
- Dawson, V. & Donovan, J. (Eds.). The art of teaching science: A comprehensive guide to the teaching of secondary school science. Routledge. 2020.
- Delves, P., Martin, S., Burton, D., Roitt, I. Roitt's Essential Immunology. 13th ed., Wiley–Blackwell, 2017.
- Donald Voet**, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt, Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, 2016.
- European Environment Agency (EEA). Environmental indicators and the DPSIR framework. Copenhagen.

- Gecheva, G., E. Varadinova, T. Milkova. Chapter 24 – Constructed wetlands for controlled bioremediation of wastewater: case studies on bioremediation of wastewaters for the elimination of heavy metals, pesticides, microplastics. In *Biotechnologies for Wastewater Treatment and Resource Recovery*, Editor(s): Arun Lal Srivastav, Inga Zinicovscaia, Liliana Cepoi. Elsevier, 2025.
- Ghai, N., K. Nissa, H. Kaur. *Myxobolus coriurumicus* n.sp. (Cnidaria: Myxozoa) Causing Scale Disease Associated with Skin Lesions in Indian Cultured Carp, *Cirrhinus mrigala* in Punjab. *Acta Parasitol.* 68(4):769-781. doi: 10.1007/s11686-023-00714-w. Epub 2023.
- Gilbert, S. F. *Developmental Biology*, 11th Edition. Sinauer Associates, Inc., USA, 2016.
- Glick, B., Pasternak J., Patten C. *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*. 6th ed. Wiley, Hoboken, 2022.
- Goldfarb, T. Sberro H., Weinstock E. et al. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes. *The EMBO Journal*, 34(2), 169–183. doi:10.15252/embj.201489455, 2015.
- Grafton, R., T. Kompas, R. Hilborn. Economics of overexploitation revisited. – *Science*, 318(5856), 1601, 2007.
- Hickman, C., L. Roberts, A. Larson. *Integrated Principles of Zoology*, Ninth Edition, Mosby – Year Book, USA, 1993.
- Henkin, T. M., Peters J. M. *Snyder & Champness Molecular Genetics of Bacteria*. 5th ed. Wiley, Hoboken, 2020.
- Hetherington, L., Graham, L., & Moore, D. (Eds.). *Learning to Teach Science in the Secondary School: A Companion to School Experience*. 5th Ed. Taylor & Francis. UK, 2024.
- Hubenov, Z. *Invertebrate animals (Metazoa: Invertebrata) from the Bulgarian Black Sea coast*. Generis Publishing, Sofia, 2025.
- Isaev, A., Musharova, O., Severinov, K. Microbial arsenal of antiviral defenses – Part I. *Biochemistry (Moscow)*, 86(3), 319–337. doi:10.1134/S0006297921030081, 2021.
- IUCN. Threats Classification Scheme (Version 3.3). IUCN RedList. Available at: <https://www.iucnredlist.org/resources/threat-classification-scheme>, 2022.
- Kannan, R., D. James. Effects of climate change on global biodiversity: a review of key literature. – *Tropical Ecology*, 50(1): 31–39, 2009.
- Karp, G., Iwasa, J., Marshall, W. *Karp's Cell Biology*. 9th edition. John Wiley & Sons Inc., UK, 2020.
- Kassem, H., Girolami, F., & Sanoudou, D. *Molecular genetics made simple. Global Cardiology Science and Practice*, 2012.
- Kauffman, C. A., P. G. Pappas, J. D. Sobel, W. E. Dismukes, *Essentials of Clinical Mycology*. 2nd ed. Springer, New York, USA, 2011.
- Kim, B., Gadd, G. *Bacterial Physiology and Metabolism*. Cambridge University Press, 2008.
- Larone, D. H., L. F. Westblade, E. M. Bird, S. R. Lockhart, G. W. Procop, T. J. Walsh. *Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification*. John Wiley & Sons, Inc, USA, 2023.
- LeRoux, M., Laub, M. T. (2022). Toxin–antitoxin systems as phage defense elements. *Annual Review of Microbiology*, 76, 21–43. doi:10.1146/annurev-micro-020722-013730, 2022.
- Lewis, W. *Principles of Development*, 6th Edition. Oxford University Press, Inc., UK, 2019.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Amon, A., & Martin, K. C. *Molecular cell biology* (9th ed.). W. H. Freeman, 2021.
- Madigan, M., Martinko, M., Bender, K., Buckley, D., Stahl, D. *Brock Biology of Microorganisms*, 14th Ed., Pearson, 2017.
- Martin, M. H., P. J. Coughtrey. *Biological Monitoring of Heavy Metal Pollution*. Applied Science Publishers, London & New York, USA, 1982.
- Munro, C., Z. Vue, R. R. Behringer, et al. Morphology and development of the Portuguese man of war, *Physalia physalis*. *Sci Rep* 9, 15522. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51842-1>, 2019.
- Murphy, K., Weaver, C. *Janeway's Immunobiology*. 9th ed., Garland Science, New York, USA, 2017.
- Murray, P. *Basic Medical Microbiology*. Elsevier, 2018.
- Naghavi, M. H., Walsh, D. Microtubule Regulation and Function during Virus Infection. *J Virol* 91:10.1128/jvi.00538-17. <https://doi.org/10.1128/jvi.00538-17>, 2017.
- Odum, E. P., G. W. Barrett. 2004. *Fundamentals of Ecology*, Fifth edition, Cengage Learning Publ.
- Parham, P. *The Immune System*. 5th ed., Garland Science. New York, USA, 2021.
- Poole, R. (Ed.). *Advances in Microbial Physiology*. Elsevier, 2012.
- Reginald, H. Garrett, Charles M. Grisham, *Biochemistry*, 6th ed., Brooks Cole, Boston, USA, 2016.

- Rhymer, J., D. Simberloff. Extinction by hybridization and introgression. – *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 83–109, 1996.
- Rocha, J., L. Peixe, NCM. Gomes, R. Calado. Cnidarians as a source of new marine bioactive compounds--an overview of the last decade and future steps for bioprospecting. *Mar Drugs*. 9(10):1860-1886. doi: 10.3390/md9101860. Epub 2011 Oct 10. PMID: 22073000; PMCID: PMC3210609.
- Ross, K., Lakin, L., McKechnie, J., & Baker, J. Teaching secondary science: Constructing meaning and developing understanding. Fourth edition. Routledge. 2015.
- Sánchez, A.; Gea, T.; Font, X.; Artola, A.; Barrena, R.; Moral-Vico J. Composting: Fundamentals and Recent Advances, Royal Society of Chemistry, London, UK, 2025.
- Schierwater, B., R. DeSalle. *Invertebrate Zoology A Tree of Life Approach*, CRC Press, UK, 2021.
- Schatz D., Swanson P. V(D)J recombination: mechanisms of initiation, *Annu Rev Genet.*, 45, 167–202, 2011.
- Seo, D., & Gammon, D. B. Manipulation of Host Microtubule Networks by Viral Microtubule-Associated Proteins. *Viruses*, 14(5), 979. <https://doi.org/10.3390/v14050979>, 2022.
- Siddall, ME., DS. Martin, D. Bridge, SS. Desser, DK. Cone. The demise of a phylum of protists: phylogeny of Myxozoa and other parasitic cnidaria. *J Parasitol.* 81(6):961-7. PMID: 8544072, 1995.
- Sidwick, J.M. and R.S. Holdom, *Biotechnology of wastewater treatment and exploitation*, Ellis Horwood Limited, UK, 1987.
- Simpson, C., & Yamauchi, Y. Microtubules in Influenza Virus Entry and Egress. *Viruses*, 12(1), 117. <https://doi.org/10.3390/v12010117>, 2020.
- Whipps, C.W., S.D. Atkinson, B.W. Hoeksema. World List of Myxozoa. Accessed at <https://www.marinespecies.org/myxozoa> on 2025-11-26. doi:10.14284/756, 2025.
- Willey, J., Sherwood, L., Woolverton, Cr. Prescott's Microbiology 11th Ed., McGraw-Hill Education, 2019.
- WHO, 2020. Cyanobacterial toxins: Anatoxin-a and analogues; Cyllindro-spermopsins; Microcystins; Saxitoxins. Background documents for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality and Guidelines for Safe Recreational Water Environments. Geneva: World Health Organization.
- WHO. *Guidelines for Drinking-water Quality*, 4th ed. Geneva: WHO, 2017.
- Zaid, A. Genetic pollution: Uncontrolled spread of genetic information (frequently referring to transgenes) into the genomes of organisms in which such genes are not present in nature. – fao.org, 1999.

Електронни източници на снимки и схеми, използвани в помагалото:

<http://www.wasser-wissen.de/abwasserlexikon/r/raedertierchen.htm>
<https://istudy.pk/mechanism-of-sex-determination/>
https://extension.psu.edu/media/wysiwyg/extensions/catalog_product/9aa8232654a241f1ac25aa399e733702/h/a/haplodiploidy.png
<https://www.nature.com/articles/hdy200917>

Специальность
„Биология“

КОНСПЕКТ ЗА ДЪРЖАВЕН ИЗПИТ

СПЕЦИАЛНОСТ „БИОЛОГИЯ“

ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНО-КВАЛИФИКАЦИОННА СТЕПЕН

„БАКАЛАВЪР“

ПРОФЕСИОНАЛНА КВАЛИФИКАЦИЯ „БИОЛОГ“

1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори.
2. Структурна организация на еукариотната клетка. Едномембранни клетъчни органели – структура и функция.
3. Клетъчна сигнализация. Типове междуклетъчна сигнализация. Механизми на действие на G протеин-свързаните рецептори, протеин-тирозин киназните рецептори и цитокиновите рецептори.
4. Генетичен материал и ДНК репликация. Нуклеинови киселини – първична и вторична структура на ДНК и РНК, денатурация и ренатурация. Репликация на ДНК – репликон, ДНК полимерази, основни етапи. Особенности при прокариоти и еукариоти.
5. Реализация на генетичната информация. Транскрипция – транскрипционна единица, РНК полимерази, основни етапи. Транслация – генетичен код, рибозоми, основни етапи. Особенности при прокариоти и еукариоти.
6. Хромозомите – клетъчни структури, носители на наследствеността. Морфология и молекулен строеж. Кариотип.
7. Мутационна изменчивост. Геномни мутации.
8. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Оплождане. Етапи на ембрионалното развитие при животните. Зародишни обвивки и плацентация.
9. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете).
10. Ензими. Общи свойства на ензимите. Субстратна специфичност на ензимното действие. Кинетика на ензимната реакция. Регулация на ензимната активност.
11. Ферментации – алкохолна, млечнокисела, мравченокисела, масленокисела, пропионовокисела. Представители, биохимизъм, приложение.
12. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.
13. Катаболизъм на белтъци и α-аминокиселини. Дезаминиране, трансаминиране, декарбоксилиране. Разграждане на въглеродния скелет. Орнитинов цикъл.
14. Анатомоморфологична характеристика на растенията. Размножителни структури и размножаване при спорови и семенни растения.
15. Характеристика и класификация на талусните растения – представители.
16. Характеристика и класификация на кормусните растения – представители.
17. Фотосинтеза. Обща характеристика. Пигментни системи. Механизми на фотосинтезата.
18. Растителни пигменти – физични и химични свойства, физиологична роля.
19. Тип *Mollusca* (Мекотели) – обща характеристика. Организация на тялото и особености в устройството при различните класове. По-важни представители на класове *Gastropoda*, *Bivalvia* и *Cephalopoda*.
20. Клас *Insecta* (Насекоми) – морфология и придачи на тялото. Хемеметаболно и холометаболно развитие. Основни разрези и представители.

21. Адаптации за живот при клас *Aves* (Птици). Класификация на клас *Aves*.
22. Морфологичен строеж на сърцето. Физиологични свойства на миокарда. Сърдечен цикъл. Основни показатели на работата на сърцето. Регулация на сърдечната дейност.
23. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората.
24. Физиология на възбудимите системи. Мембранен потенциал и потенциал на действие. Невронът като възбудима структура. Синапси и видове медиатори.
25. Структурни и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие – генетика на VDJ пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности, ензими.
26. Ареали на организмите – определение, структура, картиране, видове ареали. Ендемити и реликти – определение, палеоендемити и неоендемити, терциерни и ледникови реликти.
27. Фактори, променящи генотипната структура на популациите – генен дрейф, мутационен натиск, поток от гени и естествен отбор.
28. Закономерности на влияние на факторите на средата върху живите организми.
29. Екосистема – същност, трофична структура и поток на енергията, екологични пирамиди.
30. Заплахи за биологичното разнообразие в България. Категории защитени територии в България.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бечев, Д. 2010. Морфология и систематика на насекомите. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
2. Бигон, М., Харпер, Д., Таунсенд, К. 1989. Екология. Особи, популации и общества. Том 1, Том 2.
3. Богоев, В., Кенарова, А. 2009. Основи на екологията. Изд. „Пенсофт“, София – Москва.
4. Влахов, С. Микробиология. Акад. изд. „Проф. М. Дринов“, София, 2006.
5. Джамбазов, Б., Бацалова, Ц. 2010. Практически занятия по клетъчна биология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
6. Димитрова, И., Коев, К., Нинова, Д. 2003. Ръководство по Анатомия и морфология на растенията. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
7. Донеv, А., Стоянова, А., Бояджиев, П. 2009. Ръководство за лабораторни упражнения по зоология на безгръбначните. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
8. Драганов, М., Попов, Н. 2010. Клетъчна биология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
9. Дюкянджиев, С., Наимов, С. 2006. Генно инженерство. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“.
10. Иванова, Е. 2003. Генетика във въпроси и отговори. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
11. Иванова, Е., Стайкова, Т., Андреевко, Е. 2011. Генетика с биологични основи на поведението и психогенетика. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
12. Иванова, Е., Стайкова, Т., Андреевко, Е. и др. 2011. Генетични основи на поведението. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
13. Иванова, Е., Стайкова, Т., Ирикова Т. 2002. Ръководство за упражнения по генетика. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
14. Иванова, Е., Стайкова, Т., Ирикова, Т. 2001. Генетика на човека. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
15. Кайданов, Л. 1996. Генетика популаций. Москва: Висшая Школа.
16. Киряков, И. 1999. Систематика на растенията. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
17. Коева, И., Атанасова, П., Петрова, Е., Пенкова, Н., Тричкова, В. 2005. Цитология, обща хистология, ембриология. ИК „ВАП“, Пловдив.
18. Косекова, Г., Митев, В., Алексеев, А., Николов, Т., 2010. Лекции по биохимия, 2^{ро} издание, Централна медицинска библиотека, София.
19. Костадинова, П., Велчева, И., Кузмова, К. 2004 . Основи на екологията, Изд. на АУ – Пловдив.
20. Кръстев, Х., Витанов, С. 1993. Цитология и хистология. ЗЕМИЗДАТ – София, 2^{ро} издание.
21. Минков, И. 1992. Молекулярна биология, Унив. изд. „Св. Кл. Охридски“.
<http://plantgene.uni-plovdiv.bg/materials/>
22. Минков, И. и др. 2013. Молекулярна генетика. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
23. Митев, Д. 2010. Зоология на гръбначните животни. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
24. Младенов, Р., Тенева, И. 2011. Фикология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
25. Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова-Дюлгерова, И., Белкинова, Д., Тенева, И., Радукова, Т., Стоянов, П. 2017. Фармацевтична ботаника. Част 2, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
26. Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова-Дюлгерова, И., Белкинова, Д., Тенева, И., Радукова, Т., Стоянов, П. 2018. Фармацевтична ботаника. Част 1, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
27. Национален план за опазване на биологичното разнообразие“. 2000. МОСВ, София.
28. Николова, М. 2011. Анатомия на човека. Пловдив, „Макрос“ ООД.
29. Николова, М., Андреевко, Е. 2012. Учебно пособие за тестова проверка върху нервна система. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
30. Николова, М., Тинешев, С. 2011. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
31. Нинова, Д. 2003. Анатомия и морфология на растенията. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
32. Овчаров, Вл., Такева, Ц. 1996. Цитология, обща хистология и обща ембриология. МИ „Арсо“.
33. Петков, П. 2003. Цитология, обща хистология и ембриология. Изд. „Знание“.

34. Петкова, С., Рукмански, К., Делчев, И. 1999. Генетика. София, Земиздат.
35. Пирьова, Б., Начев, Н. 2006. Физиология на човека. Изд. Арсов, София.
36. Пловдив. <http://plantgene.uni-plovdiv.bg/materials/>. ISBN 978-954-423-833-9
37. Попов, Н., Томова, Е., Джамбазов, Б. 2008. Цитология, хистология и ембриология. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
38. Попов, П. 1999. Теория на еволюцията. УИ „Климент Охридски“, София.
39. Попов, П., Ирикова, Т. 2003. Обща генетика. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
40. Попова, М., Чешмеджиев, И., Терзийски, Д. 2012. Систематика на растенията. Академично издателство на Аграрния университет, Пловдив.
41. Синельников, Р.Д. 1972. Атлас анатомии человека: I, II, III том.
42. Тачев, А. 2010. Физиология на човека и животните. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
43. Тенева, И. 2025. Фикология. – Второ преработено и допълнено издание. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, ISBN 978-619-281-020-7, Пловдив, 232 стр.
44. Терзийски, Д., Попова, М., Чешмеджиев, И. 2012. Анатомия и морфология на растенията. Акад. изд на АУ – Пловдив.
45. Физиология на животните. 2000. Колос, Хасково, под ред. на Авр. Петков. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив. <http://plantgene.uni-plovdiv.bg/materials/>
46. Чучков, Х., Йотовски, П. 2011. Цитология, обща хистология, обща ембриология. Университетско издателство „Св. Климент Охридски“, София.
47. Шмидт, Т. 1996. Физиология человека, Мир, Москва.
48. Яхубян, Г. Основи на молекулярната биология. 2025, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
49. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2002. Molecular Biology of the Cell 4th ed., New York: Garland Publishing.
50. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A. 2009. Essential Cell Biology, 3rd Edition. Garland Science. ISBN 0815341296
51. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. 2002. Biochemistry. New York: W. H. Freeman and Co.
52. Claverie, J., Notredame, M. 2008. Bioinformatics For Dummies , 3rd edition.
53. Cooper, G.M. 2000. The Cell – A Molecular Approach. 2nd ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc.
54. Krebs, J. E. 2011. Lewin's Genes X. J&B Publishers.
55. Leninger, A., Nelson, DL., Cox, MM., Leninger Principles of Biochemistry, 5th ed., Plagrave Macmillan, 2008.
56. Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J.E. 1999. Molecular Cell Biology 4th ed. New York: W. H. Freeman & Co.
57. Madigan, M., Martinko, M., Bender, K., Buckley, D., Stahl, D. 2017. Brock Biology of Microorganisms, 14th Ed., Pearson.
58. McKenzie, J.C., Klein, R.M. 2000. Basic concepts in Cell Biology and Histology. McGraw-Hill Companies, Inc., New York.
59. Willey, J., Sherwood, L., Woolverton, C. 2017. Prescott's Microbiology, 9th Ed., McGraw-Hill Higher Education.

Растенията, животните и висшите протисти са **еукариоти**. Бактериите и цианобактериите са **прокариоти**. Основните характеристики на прокариотната клетка са следните: (1) Липсва морфологически обособено ядро, генетичният материал е локализиран в нуклеоид, който не е ограничен от ядрена мембрана; (2) Слаба компартментализация; липсват мембранни органели като митохондрии, хлоропласти, апарат на Голджи, ендоплазматичен ретикулум; (3) Клетъчната мембрана не съдържа стероли, като холестерол; (4) Рибозомите са 70S, с 30S и 50S субединици; (5) Прокариотната клетка е хаплоидна; дели се чрез проста фузия.

Прокариотите се разделят на две големи таксономични групи – Еубактерии и Архебактерии. **Еубактериите** (същински бактерии) съдържат пептидогликан (муреин) в клетъчната си стена. Основен компонент на муреина е мурамовата киселина. Клетъчните стени на някои **архебактерии** съдържат псевдомуреин, в който липсва мурамова киселина. В прокариотната клетка са установени редица структури: клетъчна стена, цитоплазмена мембрана, цитоплазма, рибозоми, нуклеоид, капсула и слизести слоеве, фимбрии, пили, флагелуми, ендоспори.

Клетъчна стена

Всички прокариотни клетки с изключение на родове *Mycoplasma* и *Thermoplasma* (архебактерии без клетъчна стена) притежават стена. Клетъчната стена е един от най-съществените компоненти на прокариотната клетка по няколко причини: (1) стената е здрава, придава форма на клетката и я предпазва от осмотичен лизис; (2) клетъчната стена участва в патогенезата при редица патогенни бактерии; (3) стената защитава клетката от токсични субстанции; (4) стената е място за действие на някои антибиотици.

През 1884 г. Кристиан Грам разработва оцветителен метод, по който бактериите се разделят на две групи. Грам-положителните бактерии (Грам⁺) се оцветяват в синьо-виолетово, а Грам-отрицателните (Грам⁻) в розово-червено. Оцветяването по Грам корелира със съществени структурни особености на бактериите и е важен таксономичен признак. Грам⁺ и Грам⁻ бактерии се различават помежду си, преди всичко по устройството на клетъчните стени.

Основен компонент на клетъчната стена е хетерополимерът **пептидогликан** (муреин). Пептидогликанът се състои от полизахариден скелет и странична верига съдържаща D- и L-аминокиселини. Скелетът на веригите е съставен от редуващи се остатъци на N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамова киселина, свързани с β-1,4-гликозидни връзки. N-ацетилмурамова киселина представлява N-ацетилглюкозаминлактат. С карбоксилната група на лактилния остатък на N-ацетилмурамовата киселина е свързана къса пептидна верига, включваща аминокиселините L-аланин, D-глутаминова киселина, *meso*-диаминопимелинова киселина (*meso*-DAP) и D-аланин. При повечето Грам⁺ бактерии, *meso*-DAP е заместена от L-лизин. Три от аминокиселините (D-глутаминова киселина, *meso*-DAP и D-аланин) не се срещат в природните белтъци.

Страничните вериги на пептидогликана са свързани чрез пептидни връзки, които варират. Диаминокиселините (*meso*-DAP и L-лизин) изпълняват важна роля в междумолекулното свързване, тъй като образуват пептидни връзки и с двете си аминокиселинни групи. При Грам⁻ бактерии карбоксилната група на терминалния D-аланин е свързана директно с аминокиселинната група на *meso*-DAP. Грам⁺ бактерии осъществяват напречното свързване чрез пептиден мост, съставен от 1 до 5 аминокиселинни остатъка (най-често пентаглицинов мост). В резултат на напречното свързване, пептидогликанът добива структурата на мрежа, която здрава и поддържа формата на клетката. Мурамовата киселина, D-аминокиселините и *meso*-DAP не се синтезират от бозайниците.

Клетъчна стена при Грам-положителни бактерии. Грам⁺ бактерии са обвити от плътна, хомогенна клетъчна стена съставена предимно от многослоен пептидогликан с дебелина 20-80 nm. Стената съдържа също голямо количество **тейхоеви киселини** – полимери на глицерол или рибитол, свързани с фосфатни групи. Към глицероловите или рибитоловите групи се присъединяват аминокиселини (най-често аланин) или захари (глюкоза). Тейхоевите киселини се свързват с пептидогликана или с липидите на цитоплазмената мембрана; този случай се наричат липотейхо-

еви киселини. Тейхоевите киселини са отрицателно заредени и концентрират метални йони около молекулите си; достигат до повърхността на пептидогликана и придават на клетъчната стена отрицателен заряд. Тези молекули са от значение и за поддържане структурата на клетъчната стена.

Клетъчна стена при Грам-отрицателни бактерии. Грам-отрицателната клетъчна стена има комплексна структура. Тя включва тънък (1-3 nm) пептидогликан, съставен от 1 или 2 слоя, обкръжен от **външна мембрана**. Пространството между цитоплазмената и външната мембрана се нарича периплазмено пространство (периплазма). Пептидогликанът при Грам⁻ бактерии се намира в периплазменото пространство. Размерите на периплазмата варират при различните Грам⁻ бактерии, най-често от 30 до 70 nm. Периплазмата съдържа редица протеини – предимно хидролитични ензими (**екзоензими**) и транспортни белтъци. Само при някои Грам⁺ бактерии се установява подобна тясна цепнатина между цитоплазмената мембрана и пептидогликана, поради което за периплазма се говори предимно при Грам⁻ бактерии.

Външната мембрана на стената е съставена от белтъци, липиди и липополизахариди. Липополизахаридите са най-съществените компоненти на външната мембрана и са съставени от три части: липид А, сърцевинен полизахарид и О-странична верига. Липополизахаридът (LPS) е проучен детайлно при род *Salmonella*. Липид А се състои от два фосфорилирани остатъка на глюкозамин, естерифизирани с дълговерижни мастни киселини. Сърцевинният полизахарид е прикрепен към липид А. При *Salmonella* е изграден от 10 захарни остатъци, повечето със специфична структура. Сърцевинният полизахарид съдържа заредени захари и фосфатни групи и допринася за отрицателния заряд на бактериалната повърхност. О-страничната верига или **О антигенът** е къса, повтаряща се последователност от захарни остатъци, някои от които са специфични.

Липополизахаридът предпазва патогенните Грам⁻ бактерии от имунната защита на гостоприемника. О-страничната верига се нарича **О антиген**, защото предизвиква имунен отговор. Много Грам⁻ бактерии са в състояние бързо да променят състава на странични вериги, като по този начин преодоляват защитните механизми на гостоприемника. Липид А често е токсичен; в резултат на това LPS може действа като **ендотоксин**. Външната мембрана има по-голяма пропускливост от цитоплазмената, поради наличието на поринови канали, съставени от три молекули, наречени порини. През каналите преминават молекули с размери 600 – 700 Da.

Цитоплазмена мембрана

Цитоплазмената мембрана е най-динамичната структура в прокариотната клетка. Тя е определяща за контакта на клетката с обкръжаващата я среда. Мембраната е **селективна полупропусклива бариера**, която регулира както постъпването на вещества в клетката, така и извеждането им от клетката в средата. Бактериалната мембрана позволява свободно движение на вода и незаредени молекули с маса около 100 Da. По-големи молекули и заредени субстанции се придвижват само с участие на специални мембранни транспортни процеси и **транспортни системи**. Прокариотите са лишени от вътреклетъчни органели, поради което в мембраната са локализиран редица важни метаболитни процеси: **аеробно дишане, фотосинтеза и синтез на АТФ**. Освен транспортни протеини, медиращи постъпването на вещества в клетката прокариотната мембрана съдържа **рецепторни молекули – сензорни протеини**, които определят концентрацията на молекулите в средата и изпращат сигнали в цитоплазмата. Чрез тях, клетката може да установи и отговори на химични сигнали от обкръжаващата я среда. Мембраната съдържа **ензими**, участващи в синтеза клетъчната стена, формирането на септа в делящи се клетки, мембрания синтез, репликацията на ДНК, фиксацията на CO₂ и окислението на амоняк.

Бактериалните мембрани са съставени от около 40% фосфолипиди и 60% белтъци. Фосфолипидите са амфипатични молекули с полярни, хидрофилни глицеролови „глави“, свързани чрез естерни връзки с две неполярни, хидрофобни мастнокиселинни „опашки“. Тези свойства на липидите им позволяват да формират бислой в мембраната, в който са диспергирани различни структурни и ензимни протеини, които изпълняват повечето мембранни функции. Бактериалните мембрани се различават от клетъчните мембрани на еукариотите по това, че съдържат **наситени** или **мононенаситени** мастни киселини и нормално **не съдържат стероли**, като холестерол. Редица бактериални мембрани, обаче съдържат пентациклични стерол-подобни молекули наречени **хопанониди**, които стабилизират мембраната.

Мембраните при архебактериите са различни, което е свързано с адаптирането им към екстремални местообитания. Мембраните формират бислой, но липидите са наситени, разклонени, повтарящи се изопреноидни субединици, свързани с глицерола чрез етерни връзки.

Независимо, че прокариотите нямат мембранни органели, като митохондрии и хлоропласти, някои бактерии притежават **вътреклетъчни мембранни структури**. Често цитоплазматичната мембрана образува **вгъвания**, които заемат голяма част от вътреклетъчното пространство при фототрофните и нитрифициращите бактерии. При нитрифициращите бактерии (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*) вътрешните мембранни структури осигуряват по-голяма повърхност във връзка с интензивното дишане. Мембранните системи при фототрофните бактерии съдържат пигменти, поглъщащи светлина (бактериохлорофил и каротеноиди), а също компоненти на фотосинтетичната електрон-транспортна верига и фосфорилиращата система.

Друга мембранна структура при бактериите е **мезозомата**. Мезозомите са инвагинации на цитоплазматичната мембрана под формата на везикули, тубули или ламели. Въпреки, че мезозомите се свързват с различни функции (напр. координация на репликацията на ДНК, формиране на септа при деленето на клетката) много бактериолози смятат, че те са артефакти, получени по време на химическата фиксация на бактериите за електронна микроскопия.

Цитоплазма и включения

Цитоплазмата е съдържанието на клетката, ограничено от цитоплазматичната мембрана. Цитоплазматичната фракция, която има хомогена консистенция и съдържа растворими РНК, ензими, продукти и субстрати на метаболитни реакции се нарича **цитозол**. Друга част от цитоплазмата е представена от структурни елементи: рибозоми, нуклеоид и включения. Включенията в цитоплазмата са органични и неорганични, и най-често са резервни вещества. Някои от включенията нямат собствена мембрана и лежат в цитоплазматичния матрикс, напр. гликоген, цианофицин. Други включения имат обвивка, която е еднослойна и може да се състои само от протеини или да бъде мембранна структура, съставена от протеини и фосфолипиди. Включения с мембрана са поли- β -хидроксibuтират, карбоксизоми, газови вакуоли.

Органичните включения обикновено са резервен източник на въглерод и енергия. **Гликогенът** е разклонен полимер на глюкозата. Глюкозните остатъци са свързани в дълги вериги с α -1,4-връзки; в местата на разклоненията, връзките са α -1,6. Гликогенът е диспергиран равномерно цитоплазматичния матрикс под формата на малки гранули и може да се наблюдава само с електронен микроскоп. Гликогенът, наричан още животинска скорбяла, се синтезира от *Escherichia coli*, *Salmonella* и други ентеробактерии, някои видове *Bacillus*, дрожди.

Поли- β -хидроксibuтиратът е полиестер, разтворим в хлороформ, съставен от приблизително 60 остатъка на β -хидроксимаслена киселина, свързани с естерни връзки. Полихидроксibuтиратът се натрупва във включения, които могат да достигнат до 80% от сухата маса на клетката. Наричат се суданофилни, т.к. се оцветяват с багрилото суданово черно и могат да се наблюдават със светлинен микроскоп. Поли- β -хидроксимаслена киселина синтезират видове на род *Pseudomonas*, *Bacillus megaterium*, анаеробни фототрофни бактерии.

Гликогенът и поли- β -хидроксibuтиратът са двете основни съединения, които бактериите използват като резервни източници на въглерод и енергия. Обикновено, бактериите синтезират само гликоген или поли- β -хидроксibuтират, но някои пурпурни серни бактерии образуват и двете.

Скорбяла като резервен източник на въглерод и енергия, образуват бактериите от род *Neisseria* и *Acetobacter pasteurianum*. **Гранулеза** (скорбялоподобно вещество) се съдържа в голямо количество в клетките на видове от род *Clostridium*. **Масни вещества** под формата на липидни капки образуват и използват като резервен източник на въглерод и енергия, много бактерии, дрожди и други гъби. Микобактериите могат да съдържат до 40% восъци.

Цианофицинови гранули образуват цианобактерите. Състоят се от полипептид, изграден от аминокиселините аргинин и аспартат в еквивалентни количества. Цианофициновите гранули служат като резервен азотен източник, който цианобактериите използват при недостиг в средата.

Газови вакуоли (аерозоми) са установени при бактерии, обитаващи водна среда (цианобактерии, фототрофни бактерии, *Thiothrix*, *Halobacterium*). Представяват агрегати от газови везикули. Стената на везикулите се състои от протеинови субединици, свързани така, че образуват твърд затворен цилиндър, който е кух и непромокаем за вода, но свободно пропуска атмосферните газове. Чрез газовите вакуоли бактериите „плуват“ близо или на повърхността на водоема и могат да променят разположението си в зависимост от наличието на субстрати, кислород, светлина.

Карбоксизоми съдържат клетките на някои автотрофни бактерии (нитрифициращи, фототрофни бактерии, цианобактерии). Имат форма на многостенник с диаметър 90–100 nm, обвит с еднослойна белтъчна обвивка. Карбоксизомите съдържат ензима рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза, който е ключов за фиксацията на CO_2 в цикъла на Калвин.

Неорганичните включения са два основни типа: полифосфатни и серни гранули. Много бактерии съхраняват фосфати като **полифосфатни** или **волутинови** гранули. Полифосфатните естери служат като фосфатно депо и източник на енергия. Полифосфатните гранули се наричат още „**метахроматинови**“ т.к. проявяват свойството метахромазия – оцветяване в цвят, различен от този обогряващия разтвор. Полифосфати образуват някои млечнокисели бактерии (*Lactobacillus bulgaricus*), *Corynebacterium diphtheriae*, дрожди и др.

Серни гранули образуват редица фототрофни бактерии (пурпурни и зелени серни бактерии), които използват H_2S като електронен донор в процеса фотосинтеза. Сярата, получена при окислението на H_2S се натрупва в периплазмата или в специални цитоплазмени гранули. При отсъствие на H_2S , натрупаната в клетката сяр се окислява до сулфат.

Нуклеоид. Генетичният материал на прокариотите е представен от молекула (молекули) ДНК, разположена в компактна структура, локализирана в ограничен участък на цитоплазмата, без собствена ядрена мембрана (за разлика от еукариотите). ДНК молекулата включва няколко хиляди гена, разположени линейно и се нарича **хромозома**. В химично отношение хромозомата се състои от около 60% ДНК, 30% РНК и 10% белтъци. Обикновено прокариотите съдържат една двуверижна пръстеновидна ДНК, но някои бактерии съдържат линейна ДНК хромозома, а други, като *Vibrio cholerae* и *Borrelia burgdorferi* (съответно причинителите на холера и лаймска болест), имат повече от една хромозома. Нуклеоидът е компактно образование. Стабилизираща роля в организацията му изпълняват специфични белтъци, които участват в „упаковането“ на ДНК.

Рибозомите са структурите, в които се извършва белтъчният синтез. Прокариотните рибозоми имат коефициент на седиментация 70S. Те са съставени от две субединици – 30S и 50S. По размери и някои други особености бактериалните рибозоми са сходни с рибозомите на митохондриите и хлоропластите. Малката субединица (30S) съдържа 16S рРНК и в повечето случаи по една молекула от 21 вида белтъци. Голямата субединица (50S) се състои от два типа рРНК (23S и 5S) и около 35 молекули различни белтъци, представени в едно копие. Бактериалната клетка съдържа от 5000 до 50000 рибозоми.

Капсула и слизест слой

Върху клетъчната стена на много бактерии се отлагат слоеве с високо водно съдържание. **Капсулата** е добре организиран слой, който е тясно свързан с клетката и не се отмива лесно. **Слизестият слой** е дифузна зона от неорганизиран материал, който лесно се отделя.

Капсулата и слизестите слоеве обикновено се състоят от **полизахариди** и/или **пептиди**. **Капсулните полизахариди** освен глюкоза съдържат аминокиселини, рамноза, уронови киселини, 2-кето-3-дезоксигалактонова киселина и органични киселини, като пирогроздена и оцетна. Полизахаридни капсули са установени при *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*. При *Bacillus anthracis* капсулата е белтъчна и се състои от поли-D-глутаминова киселина.

Редица компоненти на капсулата се отделят в средата под формата на **слуз**. Обилно образуване на слуз се наблюдава при култивиране на среди, съдържащи захароза. Хетероферментативната млечнокисела бактерия *Leuconostoc mesenteroides* бързо превръща разтвор, съдържащ тръстиков захар в декстран (слуз). Това превръщане протича извън клетката и се катализира от извънклетъчна хексозилтрансфераза–декстранзахараза. Декстранът се състои от остатъци на α -D-глюкоза, свързани с 1,6 връзки, т.е. 1,6- α -глюкан.

Капсулата не е необходима за бактериалния растеж и репродукция, но дава известно преимущество. (1) Придава на някои патогенни микроорганизми резистентност към фагоцитоза. Например, *Bacillus anthracis* „избягва“ поглъщане от фагоцитите, т. к. лизозомните ензими на фагоцитите не могат да инициират хидролиза на поли-D-глутаминовата капсула. (2) Капсулата е с високо водно съдържание и предпазва клетката от изсушаване. (3) Капсулата изключва бактериофаги и повечето хидрофобни токсични материали, като детергенти. (4) Капсулата и слизестите слоеве често медиат прикрепяне на клетките към твърди повърхности във водна среда или повърхността на тъканите на гостоприемника. (5) Капсулни материали (например декстран) се синтезират при усвояване на захари и представляват резерви на въглехидрати за метаболизма.

Фимбрии, пили, флагелуми

Фимбриите и **пилите** са фини, къси израстъци на повърхността на прокариотната клетка, които нямат отношение към подвижността и са по-тънки от флагелумите. Клетката може да бъде покрита с до 1000 **фимбрии**, видими само с електронен микроскоп. Фимбриите са характерни предимно за Грам-отрицателни бактерии; най-често участват в прикрепянето на бактериите към

повърхности, субстрати или други клетки. **Пилите** (F или sex пили) са подобни израстъци; от 1 до 10 на клетка. Пилите са детерминирани от половия фактор (F плазмид) или други конюгативни плаزمиди и са необходими за бактериалната конюгация. Някои бактериални вируси се прикрепят специфично към рецептори върху пили и стартират репродуктивния си цикъл

Повечето бактерии се придвижват с **флагелуми**. Броят и разположението на флагелумите имат таксономично значение. Разграничават се 4 типа клетки: монотрихи, лофотрихи, амфитрихи, перитрихи.

Бактериалният флагелум е съставен от три части – филамент (нишка), базално тяло и кука, свързваща нишката с базалното тяло. **Нишката** е кух, ригиден цилиндър, изграден от субединици на белтъка флагелин. **Куката** е съставена от различни протеинови субединици. **Базалното тяло** е най-сложната част от флагелума. При *E. coli* и повечето Грам⁻ бактерии, е съставено от четири пръстена, свързани с централна ос. Най-външните L- и P пръстени се свързват съответно с липополизахаридния и пептидогликановия слой. Вътрешният M пръстен контактува с плазмената мембрана, а S пръстенът е разположен над него. Грам⁺ бактерии имат само два пръстена – вътрешен, свързан с цитоплазмената мембрана и външен, свързан с пептидогликана. Флагелумите се движат в резултат на взаимодействието между S- и M пръстените. Оста на базалното тяло се разполага между куката и края на M пръстена, който свободно се върти в цитоплазмената мембрана, а S пръстенът е прикрепен и е неподвижен. Потокът от протони между двата пръстена или между базалното тяло и обкръжаващите го мембранни белтъци генерира протондвижеща сила, която задвижва флагелумите. P- и L пръстените при Грам⁻ действат като опора на въртящата се ос.

Бактериални ендоспори

Редица Грам⁺ бактерии могат да формират специални резистентни, инертни структури, наречени **ендоспори**. Ендоспорите се развиват във вегетативните клетки на бактерии от родове *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*. Спорите са високо-резистентни към стресови фактори на средата, като топлина, ултравиолетови лъчи, химични дезинфектанти и изсушаване и са начин за преживяване на условия на средата с критична влажност и хранителни вещества. Ендоспорите често преживяват обработка при 100°C в продължение на 30 – 60 min.

Спорите могат да се разполагат централно, субтерминално или терминално в майчината клетка (спорангиум). Понякога спорите са с по-голям диаметър и причиняват издуване на спорангиума. Структурата на спората е комплексна. Спорите често са обкръжени от тънка обвивка, наречена **екзоспориум**. **Обвивката на спората** (екзина), която лежи под екзоспориума е съставена от няколко протеинови слоя; тя е непропусклива и отговорна за резистентността към химични вещества. **Кортексът**, който може да заеме повече от половината от обема на спората, се разполага под обвивката. Той се състои от пептидогликан, който е с по-малко напречни връзки отколкото във вегетативната клетка. **Стената на спората** (интина) е навътре от кортексът и обкръжава протопласта или сърцевината. Сърцевината на спората съдържа нормални клетъчни структури, като рибозоми и нуклеоид. Повече от 15% от сухото вещество на спората представлява дипиколинова киселина, свързана с калциеви йони. Калциевият дипиколинат стабилизира споровите нуклеинови киселини. Дехидратацията на протопласта също е от значение за терморезистентността. В процеса на спорообразуване водата се отстранява осмотично от протопласта, което го защитава от температурно и радиационно повреждане.

Спорогенезата (спорулацията) нормално започва при спиране на растежа, вследствие изчерпване на хранителните вещества. Тя е комплексен процес и може да бъде разделен на 7 етапа. (I) – формира се аксиален филамент от ядрен материал; (II) – цитоплазмената мембрана се вгъва навътре, затваря част от ДНК и формира септа; (III) – мембраната продължава да расте и поглъща незрялата спора, като по този начин я обвива във втора мембрана; (IV) – образува се кортексът между двете мембрани; натрупват се калциеви йони и дипиколинова киселина; (V) – около кортексът се формира протеиновата обвивка; (VI) – формира се зрялата спора: завършва синтеза на споровата обвивка; увеличава се терморезистентността и пречупването; (VII) – литични ензими разрушават спорангиума и спорите се освобождават. Процесът на спорулация при *Bacillus megaterium* продължава около 10 часа.

Трансформацията на спящите спори във вегетативни клетки също е комплексен процес и протича в 3 етапа: (1) активация, (2) герминация (покълване), (3) прорастване.

Еукариотната клетка представлява високоорганизирана биологична система, чиято структурна организация отразява сложността на функциите, които тя изпълнява. За разлика от прокариотните клетки, еукариотите се характеризират с ясно изразена вътрешна компартментализация, при която различни биохимични процеси са пространствено разделени в специализирани мембранно-ограничени органели. Еукариотната клетка съдържа добре развита ендомембранна система, която включва ендоплазмения ретикулум, апарата на Голджи, лизозомите и различните видове везикули.

Ендоплазменият ретикулум (ЕР) представлява най-обширната и комплексна мембранна система в еукариотната клетка. Изграден е от система от плоски цистерни, каналчета (тубули) и вакуоли (везикули), които се простират из цялата цитоплазма. Тази мембранна система е пряко свързана с външната мембрана на ядрената обвивка. Вътрешното пространство на ретикулума, известно като лумен, представлява отделен компартмент, чиито химичен състав и условия се различават съществено от тези на цитозола.

Разграничават се два основни типа ендоплазмен ретикулум – грануларен (грапав, груб, зърнест, ергастоплазма, алфа-цитомембрани) и агрануларен (гладък, бета-цитомембрани) ендоплазмен ретикулум. Гранулираният ендоплазмен ретикулум се характеризира с наличието на рибозоми, прикрепени към цитозолната страна на мембраната, което му придава характерния „зърнест“ вид при електронно-микроскопско наблюдение. Прикрепването на рибозомите е функционално и временно, като то се осъществява само по време на синтеза на протеини, предназначени за секреция, за вграждане в мембраните или за насочване към определени органели като лизозомите. Мембраните на грануларния ендоплазмен ретикулум обикновено образуват паралелно подредени цистерни, което осигурява голяма повърхност за синтез на протеини и първоначално нагъване на полипептидните вериги в лумена. Мембраната на тези цистерни е с дебелина 5 – 6 nm, с високо глицерофосфатидно (90 – 95%) и в частност лецитинно (55%) съдържание.

Луменът на зърнестия ендоплазмен ретикулум представлява специфична вътрешна среда, в която новосинтезираните полипептидни вериги навлизат още по време на синтеза им. Вътре в лумена те претърпяват първоначално нагъване, образуване на дисулфидни връзки и начални етапи на посттранслационни модификации. В лумена на органела се намират във висока концентрация молекулни чаперони и ензими, които са пряко свързани с тези функции и осигуряват контрол на качеството на синтезираните протеини.

Гладкият ендоплазмен ретикулум се различава структурно от грануларния по липсата на прикрепени рибозоми и преобладаващите тубулни мембранни структури. Тези тубули образуват сложна, триизмерна мрежа, която може да заема значителна част от цитоплазмата, особено в клетки със силно развит липиден метаболизъм. Протеини като ретикулоните са отговорни за поддържането на тубуларната форма на гладкия ЕР, докато други протеинови комплекси осигуряват плоската геометрия на цистерните в гранулирания сектор. Протеинови комплекси като Sec61 транслоконният комплекс, рибозомни рецептори (p180, RBP1) и TRAP-комплексът, формират плътни мембранни зони, които фиксират рибозомите, ограничават мембранната деформация и насърчават ламеларната организация.

Ендоплазменият ретикулум не е статична структура, а динамичен органел, който непрекъснато променя своята организация в зависимост от физиологичното състояние и функционалните нужди на клетката. Например, тубулите могат да се трансформират в цистерни и обратно. Съотношението между грапавия и гладкия ендоплазмен ретикулум варира значително в различните типове клетки. Клетките, които синтезират и секретират големи количества протеини (например клетките на панкреаса или слюнчените жлези), притежават силно развит грапав ендоплазмен ретикулум. Ендоплазменият ретикулум изпълнява основна роля в синтеза, модификацията, транспорта и регулацията на широк спектър от биомолекули. Неговите функции са тясно свързани с разделянето му на функционални домейни, които осигуряват специфични условия за осъществяването на различни клетъчни процеси.

Една от основните функции на ендоплазмения ретикулум е участието му в синтеза на протеини. Протеините, предназначени за секреция, както и тези, които ще бъдат интегрирани в мембраните или лумена на ендоплазмения ретикулум, апарата на Голджи, лизозомите или плазмемната мембрана, първоначално се насочват към ЕР. Към тази група спадат и протеините на ядре-

ната обвивка и мембранните протеини на пероксизомите. Насочването на рибозомата към ЕР става чрез сигнална секвенция, разположена в N-края на нарастващата полипептидна верига. Тези сигнални последователности обикновено са с дължина между 15 и 40 аминокиселини и съдържат хидрофобен участък от около 7 – 12 аминокиселинни остатъка. Сигналната секвенция се отстранява протеолитично по време на въвеждането на протеина в лумена на ЕР. Интегралните мембранни протеини се задържат в липидния бислой чрез хидрофобни последователности. Тези мембранно-пресичащи участъци обикновено са α -спирали, съставени от около 20 – 25 хидрофобни аминокиселини.

При бозайниците, по-голямата част от протеини се внасят в ендоплазмения ретикулум ко-транслационно. За разлика от тях, протеините, които остават в цитозола или се насочват към митохондриите, хлоропластите, вътрешността на ядрото или матрикса на пероксизомите, се синтезират върху свободни рибозоми и се освобождават в цитозола след завършване на транслацията. След навлизането си в лумена на ендоплазмения ретикулум, протеините претърпяват пост-транслационни модификации, които са от съществено значение за тяхното правилно функциониране. Сред тези процеси са отстраняването на сигналната секвенция, образуването на дисулфидни връзки, началната гликозилизация и правилното пространствено нагъване на полипептидните вериги. Ендоплазменият ретикулум разполага със система за контрол на качеството, която разпознава неправилно нагънатите или дефектни протеини и ги насочва към деградация. Неправилно нагънатите протеини се прехвърлят към трансмембранен комплекс с убиквитин-лигазна активност, пренасят се обратно в цитозола, където се полиубиквитинират и впоследствие се разграждат в протеазомата.

Ендоплазменият ретикулум играе основна роля и в синтеза на липиди. Поради силно хидрофобния си характер, мембранните липиди не могат да се синтезират свободно във водната среда на цитозола, а се образуват в тясна асоциация с вече съществуващи клетъчни мембрани. Мембраните на гладкия ендоплазмен ретикулум са основното място за биосинтез на фосфолипиди, холестерол и други липидни компоненти, които са необходими за изграждането на плазмалемата и мембраните на вътреклетъчните органели. Синтезираните липиди се вграждат директно в мембраната на ретикулума и впоследствие се транспортират към други мембранни системи чрез транспортни мехурчета или чрез директен трансфер в контактни зони между органелите.

Важна функция на гладкия ендоплазмен ретикулум е участието му в детоксикацията на вредни вещества. Ензимите, разположени в неговите мембрани, катализират детоксикацията на мастноразтворими лекарства и токсични метаболити, превръщайки ги във водоразтворими съединения, които могат лесно да бъдат изведени от организма. По този начин ендоплазменият ретикулум играе защитна роля и допринася за поддържането на вътрешната среда на клетката. Агрануларният ендоплазмен ретикулум има съществено значение и за регулацията на вътреклетъчната хомеостаза на калциевите йони. Той служи като основно място за съхранение на калциеви йони и участва в бързото им освобождаване и обратно натрупване в отговор на клетъчни сигнали. В лумена на гладкия ЕР се поддържа концентрация на калций, която е хиляди пъти по-висока от тази в цитозола. Това се постига чрез множество калциеви помпи разположени в мембраната.

Апаратът на Голджи е съставен от близко разположени една до друга плоски мембранни цистерни и асоциираните с тях везикули. Броят на цистерните обикновено варира между пет и десет, като техният размер, форма и брой зависят от типа клетка и от интензивността на секреторната ѝ активност. Цистерните са леко извити, с разширени краища, от които често се отделят транспортни везикули. Мембраните им са гладки и лишени от рибозоми, което улеснява разграничаването на апарата на Голджи от ендоплазмения ретикулум.

Отличителна характеристика на комплекса на Голджи е неговата ясно изразена полярност, както в структурно, така и във функционално отношение. Той е организиран в четири морфологично и функционално различни области: *cis*-край (полюс), медиална част, *trans*-край (полюс) и *trans*-Голджи мрежа.

От страната, обърната към ендоплазмения ретикулум, се намира т.нар. *cis*-полюс, който представлява входната зона на органела. *Cis*-областта е изградена от мрежа от мембрани и везикули, които приемат транспортните мехурчета, идващи от ендоплазмения ретикулум. Тази зона често се означава като *cis*-Голджи мрежа и изпълнява ролята на първоначален приемник и сортиращ център. Мембраните в тази област са тясно свързани с мембранната система на ендоплазмения ретикулум и представляват преходна зона между двата органела. Медиалната част на апарата на Голджи е изградена от средните цистерни. Мембраният състав на средните цистерни се раз-

личава както от този на *cis*-, така и от този на *trans*-края, което отразява последователния характер на процесите, протичащи в апарата на Голджи. От противоположната страна се намира *trans*-полюсът на апарата на Голджи, който е ориентиран към плазмената мембрана и другите клетъчни органели. *Trans*-края преминава в *trans*-Голджи мрежа – сложна система от мембранни тубули и везикули, която осъществява крайното сортиране и експортиране на протеините. Тук мембраните са по-динамични в сравнение с тези на средните цистерни. Транс-Голджи мрежата е структурно приспособена за интензивно образуване на везикули, които транспортират молекули към различни клетъчни дестинации.

В непосредствена близост до апарата на Голджи обикновено се наблюдава голямо количество транспортни везикули с различен размер и електронна плътност. Тези везикули са неразделна част от структурата на органела и участват в обмена на мембранен и луменен материал както между отделните цистерни, така и между апарата на Голджи и други клетъчни компартменти.

Структурната организация на апарата на Голджи е тясно свързана с цитоскелета на клетката. Микротубулите играят съществена роля за позиционирането на органела, който при повечето животински клетки е разположен в близост до клетъчното ядро и центрозома. Това централно разположение улеснява ефективния транспорт на везикули между ендоплазмения ретикулум, апарата на Голджи и плазмената мембрана. В растителните клетки апаратът на Голджи има някои структурни особености. Вместо един голям комплекс, както често се наблюдава при животинските клетки, той е представен от множество отделни диктиозоми, разпръснати из цитоплазмата.

Една от основните функции на апарата на Голджи е модификацията на протеините (посттранслационен процесинг), които идват от ендоплазмения ретикулум. Новосинтезираните протеини често съдържат въглехидратни вериги, добавени в ретикулума, които в апарата на Голджи претърпяват допълнителни промени. Тези промени включват отстраняване на определени захарни остатъци и добавяне на нови, което води до образуването на зрели гликопротеини. Процесът на гликозилиране е строго регулиран и специфичен за отделните цистерни на апарата на Голджи. Тук се осъществява крайната модификация на N-свързаните олигозахариди, които се добавят към протеините в ендоплазмения ретикулум. Процесингът на N-свързаните олигозахариди на лизозомните протеини се различава съществено от този на секретиранияте протеини или тези на плазмената мембрана. Вместо отстраняване на манозни остатъци, протеините, предназначени за лизозомите, претърпяват фосфорилиране на манозни остатъци. В апарата на Голджи се осъществява и O-свързано гликозилиране – добавяне на въглехидрати към страничните вериги на серинови и треонинови остатъци. За разлика от N-свързаното гликозилиране, тук захарните остатъци се добавят последователно един по един. При бозайниците апаратът на Голджи съдържа над 250 различни ензима, които катализират добавянето и модифицирането на захарни остатъци в гликопротеините.

Освен участието си в посттранслационния процесинг на протеини, апаратът на Голджи играе ключова роля и в липидния метаболизъм, по-специално в синтеза на гликолипиди и сфингомиелин. Глицерофосфолипидите, холестеролът и церамидът се синтезират в ендоплазмения ретикулум. Впоследствие в апарата на Голджи от церамид се образуват сфингомиелин и различни гликолипиди.

Сортирането на протеини и липиди е една от най-важните функции на апарата на Голджи. След като бъдат модифицирани, протеините и липидите трябва да бъдат насочени към тяхното крайно местоположение. Това се осъществява главно в *trans*-Голджи мрежата, където се разпознават въз основа на специфични сигнални последователности или химични модификации. Най-добре охарактеризираният механизъм за сортиране на протеини в апарата на Голджи е селективният транспорт на протеини към лизозомите. Лизозомните протеини се маркират чрез маноза-6-фосфат, които се образуват в резултат на модификация на техните N-свързани олигозахариди скоро след навлизането им в апарата на Голджи. Тези маноза-6-фосфатни остатъци се разпознават от специфични трансмембранни рецептори в *trans*-Голджи мрежата. Цитозолните домени на тези рецептори насочват комплекса към везикули, предназначени за късните ендозоми, които по-късно съзряват в лизозоми.

Апаратът на Голджи играе съществена роля в секрецията на клетъчни продукти. Той участва както в непрекъснатата секреция, при която молекулите непрекъснато се доставят до плазмената мембрана, така и в регулираната секреция, характерна за специализирани клетки като ен-

докринни и нервни. В тези клетки апаратът на Голджи участва в образуването на секреторни гранули, в които хормони, ензими или невротрансмитери се концентрират и съхраняват до получаване на подходящ сигнал за освобождаване.

В растителните клетки, апаратът на Голджи изпълнява допълнителни функции, свързани със синтеза и транспорта на сложните полизахариди на клетъчната стена. Клетъчната стена на растенията е изградена от три основни типа полизахариди. Целулозата, която е преобладаващият компонент, представлява линеен полимер от глюкозни остатъци и се синтезира директно на клетъчната повърхност от ензими, локализирани в плазмената мембрана. Останалите полизахариди на клетъчната стена, като хемицелулози и пектини, са сложни, разклонени молекули, които се синтезират в апарата на Голджи и след това се транспортират във везикули до клетъчната повърхност. Синтезът на полизахаридите на клетъчната стена е толкова интензивен, че до 80% от метаболитната активност на апарата на Голджи в растителните клетки може да бъде насочена към производството на полизахариди. Апаратът на Голджи има значение и за поддържането на полярността на клетките, особено при епителните клетки. Чрез прецизното насочване на мембранни и секреторни компоненти към определени области на плазмената мембрана той допринася за функционалната асиметрия на клетките и за правилната организация на тъканите.

Лизозомите представляват специализирани едномембранни органели, които функционират като основен храносмилателен апарат на еукариотната клетка. Формата и размерът им варират значително в зависимост от вида на материалите, които подлежат на разграждане. Обикновено те се наблюдават като сферични или овални везикули с диаметър между 0.1 и 1.2 μm . Те съдържат приблизително 60 различни ензими (нуклеази, протеази, глюкозидази, липази, фосфатази, сулфатази, фосфолипази), разграждащи практически всички основни типове биологични макромолекули – протеини, нуклеинови киселини, въглехидрати и липиди. Концентрацията и съставът на ензимите могат да варират в зависимост от типа клетка и от функционалното състояние на лизозомата. Мембраната на лизозомите има специфичен липиден и протеинов състав, различен от този на други вътреклетъчни мембрани. Тя е богата на гликопротеини, известни като LAMP (lysosome-associated membrane proteins). Олигозахаридните вериги на тези протеини са разположени от страната на лумена, образувайки защитен гликокаликс, който предпазва мембранните липиди и протеини от действието на лизозомните ензими.

Повечето лизозомни ензими представляват кисели хидролази. Те проявяват оптимална активност при кисело рН (приблизително 4.6), което е характерно за вътрешната среда на лизозомите, но са неактивни при неутралното рН (около 7.2), характерно за цитозола. Поддържането на киселото рН в лизозомите се осъществява чрез активно натрупване на протони (H^+) във вътрешността им. Това се постига посредством протонна помпа (V-тип АТРазе), локализирана в лизозомната мембрана, която използва енергия от хидролизата на АТФ, за да транспортира протони от цитозола в лизозомата. В резултат на този активен транспорт концентрацията на протони в лизозомите е приблизително сто пъти по-висока в сравнение с тази в цитозола, което е от решаващо значение за нормалната им функция. Освен протонни помпи, мембраната съдържа и специфични транспортни протеини, които позволяват на крайните продукти от храносмилането, като аминокиселини, монозахариди и нуклеотиди, да преминават обратно в цитозола, където могат да бъдат използвани от клетката.

Една от основните функции на лизозомите е разграждането на вещества, постъпили в клетката от извънклетъчната среда чрез ендоцитоза. Тази функция на лизозомите е тясно свързана не само с тяхната роля в клетката, но и с механизма на тяхното образуване. Лизозомите се формират в резултат на сливане на транспортни везикули, получени от *trans*-Голджи мрежата, с късни ендозони, които съдържат молекули, поети чрез ендоцитоза от плазмената мембрана. Особено значение лизозомите имат в процесите на клетъчна защита и имунен отговор. В специализирани клетки на имунната система, като макрофаги и неутрофили, лизозомите участват в разграждането на погълнати микроорганизми и чужди частици. След фагоцитоза патогените се подлагат на лизозомно разграждане, което води до тяхното унищожаване.

Освен разграждането на молекули, постъпили в клетката чрез ендоцитоза, лизозомите са отговорни и за автофагията – процес, чрез който клетката разгражда собствените си компоненти. Автофагията позволява отстраняването на увредени органели, неправилно нагънати протеини и остарели структури, като по този начин се поддържа функционалната цялост на клетката. Първият етап на автофагията включва обграждане на малка част от цитоплазмата или на цитоплазмен органел (например митохондрий) от мембрана, произхождаща от ендоплазмения ретикулум.

Така се формира двумембранна везикула, наречена автофагозома. Впоследствие автофагозомата се слива с лизозома, при което съдържанието ѝ се подлага на ензимно разграждане. Автофагията е строго регулиран процес, който се активира по време на ембрионалното развитие и в отговор на клетъчен стрес. Процесът играе ключова роля в онтогенезата (например при метаморфозата на насекомите), където е необходимо значително преструктуриране на тъканите. Освен това автофагията се активира при дефицит на хранителни вещества, като позволява на клетките да разграждат несъществени макромолекули и да рециклират техните градивни елементи за поддържане на жизненоважни метаболитни процеси.

Друга важна функция на лизозомите е участието им в програмираната клетъчна смърт. При определени условия лизозомната мембрана може да стане частично пропусклива, което да доведе до освобождаване на хидролитични ензими в цитозола. Това може да инициира каскади от събития, които допринасят за апоптозата или за други форми на клетъчна смърт. Чрез своята дейност лизозомите гарантират както енергийна и метаболитна ефективност, така и защита на клетката от натрупване на увредени или потенциално опасни структури.

Вакуолите представляват специализирани, ограничени с мембрана органели, които са част от ендомембранната система на еукариотната клетка. Въпреки че могат да се срещат и в животински клетки, те са най-добре развити и функционално най-значими в растителните клетки, където често заемат по-голямата част от клетъчния обем. Структурно вакуолата в растителните клетки е отделена от цитозола чрез единична мембрана, наречена тонопласт. Тонопластът е селективно пропусклив и притежава уникален набор от транспортни протеини и йонни помпи, които позволяват на вакуолата да поддържа вътрешна среда, коренно различна от тази на обкръжаващата я цитоплазма. Вътрешността на органела е изпълнена с клетъчен сок – воден разтвор, съдържащ неорганични йони, захари, аминокиселини, органични киселини и различни вторични метаболити.

Една от основните функции на вакуолите е поддържането на тургорното налягане в растителната клетка. Чрез натрупване на разтворими вещества вакуолата осигурява приток на вода, което води до повишаване на вътрешното налягане и придава механична здравина на клетката. Тургорното налягане е от съществено значение за поддържането на формата на растителните клетки и за растежа на тъканите. Вакуолите изпълняват важни функции и в съхранението на вещества. Те служат като депа за резервни хранителни вещества, като захари, органични киселини и аминокиселини, които могат да бъдат използвани при нужда. Друга съществена функция на вакуолите е участието им в детоксикацията и изолирането на потенциално вредни вещества. Те могат да натрупват тежки метали, токсични йони и метаболитни отпадни продукти, като по този начин ги изолират от чувствителните клетъчни структури. Вакуолите имат и функция, сходна с тази на лизозомите, особено в растителните клетки. Те съдържат хидролитични ензими и участват във вътреклетъчното разграждане на макромолекули, стари органели и увредени клетъчни компоненти. Те често съдържат пигменти като антоциани, които придават характерни цветове на цветове, плодове и листа.

Всички клетки получават сигнали и отговарят на сигнали от околната среда. Дори най-просто устроените бактерии разпознават и плуват към високи концентрации на хранителни вещества като глюкоза или аминокиселини. Но докато клетките на прокариотите и едноклетъчните еукариоти са до голяма степен автономни, в многоклетъчните организми, комуникацията между клетките достига своето най-високо ниво на сложност. Поведението на всяка отделна клетка трябва да бъде внимателно регулирано, за да отговаря на нуждите на организма като цяло. Това се постига чрез различни сигнални молекули, които се секретират или експресират на повърхността на една клетка и най-често се свързват с рецептори, експресирани от други клетки. По този начин се интегрират и координират функциите на много индивидуални клетки, които съставляват организми толкова сложни като човешкият.

Клетъчната комуникация включва отделяне на сигнална молекула-лиганд от сигнализиращата клетка и придвижването ѝ до прицелната клетка. В единия случай се стимулират клетки, намиращи се в непосредствена близост до източника – паракринно сигнализиране, а в другия, сигналната молекула се придвижва из цялото тяло, като потенциално стимулира клетки, които са далеч от източника – ендокринно сигнализиране. В случая на автокринното сигнализиране, клетката, която произвежда сигнала, експресира рецептори на повърхността си, които могат да взаимодействат с този лиганд, в резултат на което те стимулират или инхибират самите себе си.

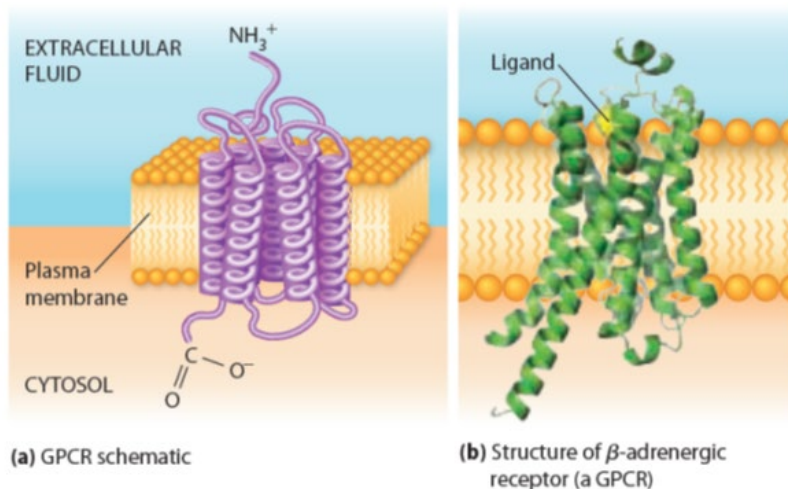
Извънклетъчната среда съдържа стотици различни информационни молекули, вариращи от малки съединения (напр. стероиди и невротрансмитери), малки разтворими протеини (напр. глюкагон и инсулин), до големи гликопротеини, свързани с повърхността на други клетки. Клетките могат да отговорят на конкретен извънклетъчен сигнал само ако експресират рецептори, които специфично разпознават и се свързват с тази молекула. В повечето случаи, сигналната молекула се свързва с рецептор на външната повърхност на прицелната клетка. Това взаимодействие предизвиква конформационна промяна у рецептора, която води до предаване на сигнала през мембраната към цитоплазмата.

Една клетка може да има един или повече вида рецептори, или различни клетки могат да имат различни групи рецептори за един и същ лиганд. Един рецептор може да се открие при различни клетъчни типове и свързването на един и същ лиганд да определя различни реакции за всеки клетъчен тип, т.е. различните клетки реагират по различен начин на един и същ лиганд. Някои невротрансмитерни рецептори са лиганд-зависими йонни канали, които директно контролират йонния поток през плазмената мембрана. Други рецептори на клетъчната повърхност, включително рецепторите за пептидни хормони и растежни фактори, действат чрез регулиране на активността на вътреклетъчните ензими. Тези ензими след това предават сигнали от рецептора към поредица от допълнителни вътреклетъчни цели – процес, наречен сигнална трансдукция.

Сигналите, предавани по такива сигнални пътища, в крайна сметка достигат целевите протеини, участващи в основни клетъчни процеси. В зависимост от типа на клетката и вида на лиганда, клетъчният отговор може да включва промяна в генната експресия, промяна в активността на метаболитните ензими, преконфигуриране на цитоскелета, увеличаване или намаляване на клетъчната подвижност, промяна в йонната пропускливост, активиране на ДНК синтеза или дори клетъчна смърт. Практически всяка дейност, в която участва клетката, се регулира от сигнали, произхождащи от клетъчната повърхност, като основните рецептори, еволюирали, за да посредничат при преноса на сигнали са G-протеин-свързани рецептори, протеин-тирозин киназни рецептори и цитокинови рецептори.

G-протеин-свързаните рецептори (GPCR) са наречени така, тъй като свързването на лиганда предизвиква промяна в конформацията на рецептора, която активира определен G-протеин (съкращение от гуанин-нуклеотид-свързващ протеин). Всички G-протеин-свързани рецептори имат сходна структура, въпреки че се различават значително по аминокиселинната си последователност. Рецепторът образува седем трансмембранны α-спирали, свързани чрез редуващи се цитозолни или екстрацелуларни вериги. N-краят на протеина е изложен на екстрацелуларната повърхност, докато C-краят се намира в цитозола (Фигура 1). Извънклетъчната част на всеки

GPCR има уникално място за свързване на лиганд, а цитозолните вериги позволяват на рецептора да взаимодейства само с определени видове G протеини. Примери за GPCR са обонятелните рецептори, β -адренергичните рецептори и хормоналните рецептори, като тези за тиреоидния стимулиращ хормон и фоликулостимулиращия хормон.



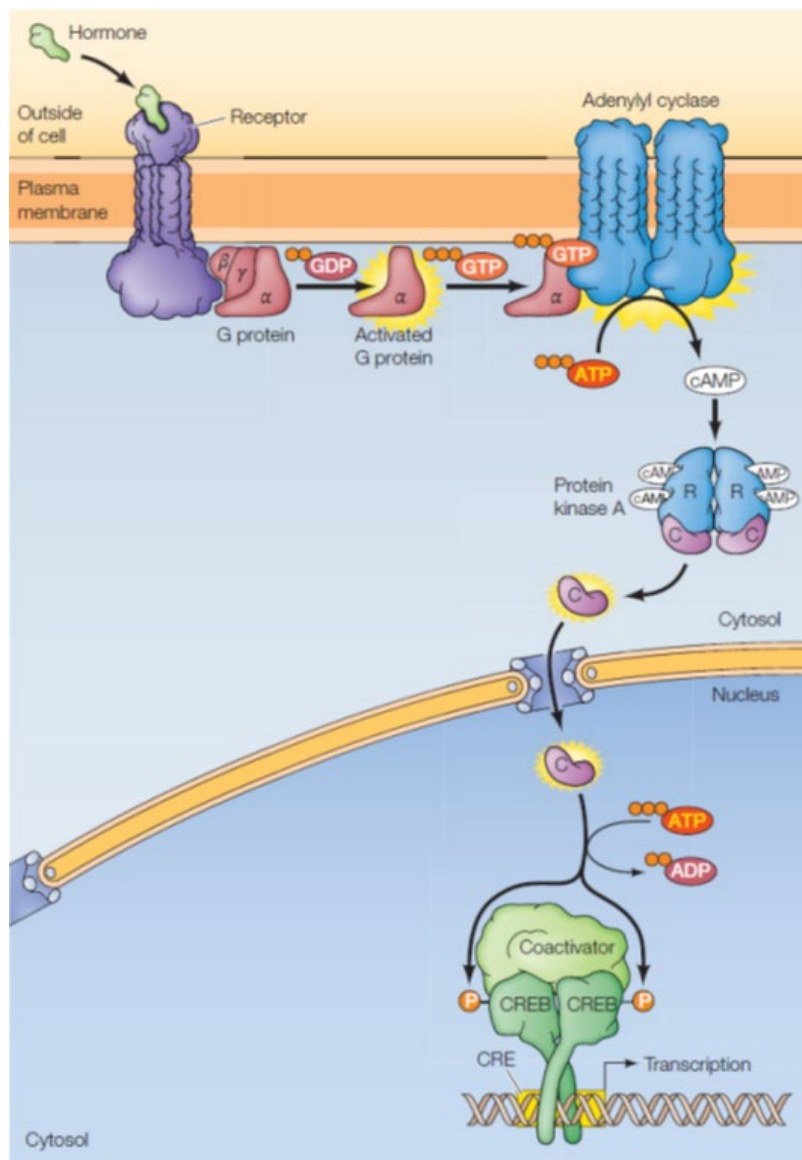
Фигура 1. Структура на G-протеин-свързаните рецептори (GPCR) (a); Молекулен модел на β -адренергичния рецептор (b). (по Cooper, 2019)

G-протеините са хетеротримерни протеини, защото са съставени от три различни полипептидни вериги α , β и γ . G-протеините се задържат към мембраната посредством липидни вериги, ковалентно свързани с α - и γ -субединиците. Взаимодействието между лиганд и G-протеин свързания рецептор, води до промяна в конформацията на α -субединицата на G-протеина, което предизвиква обмяна на гуанозин дифосфат (GDP) с гуанозин трифосфат (GTP). Това намалява афинитета на G- α -субединицата към G- $\beta\gamma$ -субединиците. Всяка отделена от тримера G- α -субединица е в състояние да активира ефекторен протеин, например аденилатциклаза, при което в случая се образува вторичен посредник – цикличен аденозин монофосфат (сAMP) (Фигура 2). Други ефектори могат да са фосфолипаза C- β или цикличен гуанозин монофосфат (сGMP) фосфодиестераза. Вторичните посредници от своя страна активират един или повече клетъчни сигнални протеини. След взаимодействието си с ефектора, G- α хидролизира GTP до GDP, което води до отделянето му от ефектора и отново свързване с G- $\beta\gamma$, при което се формира неактивен G-протеин. Полученият сAMP активира ензима цикличен AMP-зависима протеинкиназа, позната също като протеинкиназа A (РКА) или А-киназа. РКА е тетрамер, съставен от две регулаторни и две каталитични субединици. Известно е, че тя фосфорилира голям брой вътреклетъчни протеини, в това число други кинази, рецептори или транскрипционни фактори, които действат като ефектори. Когато сAMP се свърже към регулаторните субединици на РКА, това води до дисоциацията на каталитичните субединици, които могат да навлязат в ядрото и да фосфорилират ДНК-свързващи протеини (Фигура 2).

След като рецепторът е активиран, настъпва мултиплициран ефект по сигналния път. За да се избегне свръхстимулация, рецепторите трябва да бъдат блокирани. Необходимо е да се възстанови чувствителността на клетката за други сигнали. Това означава, че рецепторът, G-протеина и ефектора трябва да се върнат в първоначалното си неактивно състояние. Десенсibiliзацията е процес, който блокира активния рецептор за включване към допълнителни G-протеини. В този процес вземат участие специфични кинази, които фосфорилират цитоплазмения домейн на рецептора. Тези фосфорилирани участъци стават конформационно подходящи за свързване на арестини – протеини, които свързани към рецептора предотвратяват по-нататъшно активиране на други G-протеини. По този начин клетката престава да отговаря на сигнала, въпреки че той все още продължава да действа на външната ѝ повърхност.

За разлика от G-протеин-свързаните рецептори, другите рецептори на клетъчната повърхност са пряко свързани с вътреклетъчни ензими. Най-голямото семейство от такива ензимно-свързани рецептори са тирозинкиназите, които фосфорилират своите субстратни протеини върху тирозинови остатъци – рецепторни тирозинкинази. Много други рецептори сами по себе си не са тирозинкинази, но действат чрез стимулиране на вътреклетъчните тирозинкинази, с които са нековалентно свързани – нерепторни тирозинкинази. Тирозинкиназите са особено добре проу-

чени като ключови елементи на сигналните пътища, участващи в контрола на растежа и диференциацията на животинските клетки.



Фигура 2. Експресия на гени, индуцирани от цикличен АМР. Стимулирането на рецепторите води до активиране на аденилат-циклазата, посредством G-протеина, синтеза на сАМР и активиране на протеинкиназа А. Свободната каталитична субединица на протеинкиназа А се премества в ядрото и фосфорилира транскрипционния фактор CREB (CRE-свързващ протеин), което води до експресия на гени, индуцирани от сАМР. (по Cooper, 2019)

Рецепторните тирозинкинази включват рецептори за полипептидни растежни фактори. Човешкият геном кодира 58 рецепторни тирозинкинази, включително рецепторите за EGF, NGF, PDGF, инсулин и много други растежни фактори. Всички тези рецептори имат обща структурна организация: N-терминален екстрацелуларен домейн за свързване на лиганди, еди-

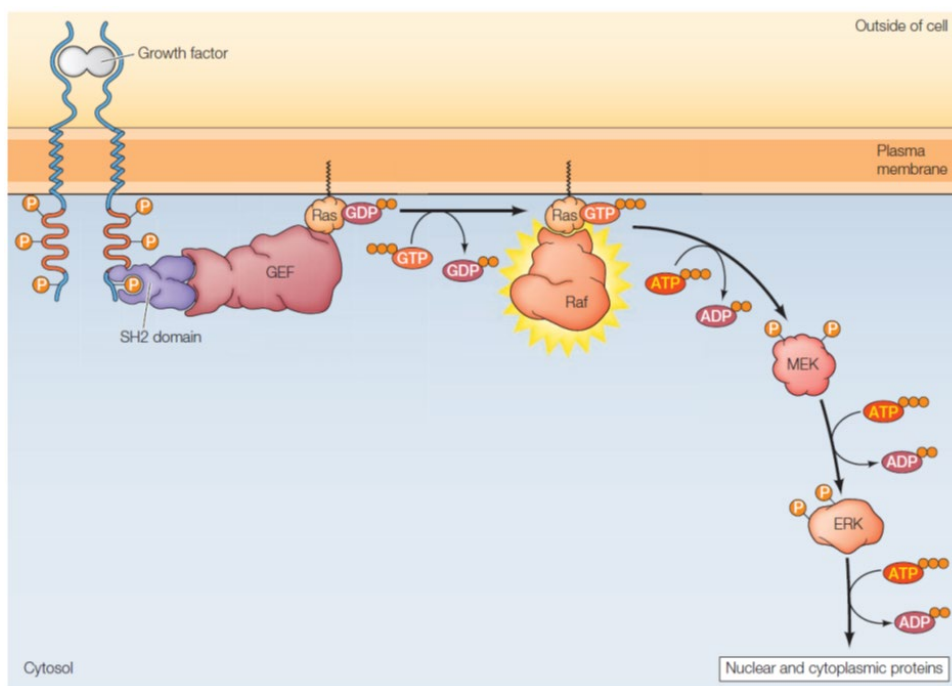
нична трансмембранна α -спирала и цитозолен C-терминален домейн с тирозинкиназна активност. Свързването на лиганди (например растежни фактори) с екстрацелуларните домейни на тези рецептори активира техните цитозолни киназни домейни, което води до фосфорилиране както на самите рецептори, така и на вътреклетъчните целеви протеини, които разпространяват сигнала, иницииран от свързването на растежния фактор.

Първата стъпка в сигнализирането от повечето рецепторни тирозинкинази е индуцирана от лигандна рецепторна димеризация. Димеризацията води до автофосфорилиране на рецептора, тъй като димеризираните полипептидни вериги се фосфорилират взаимно. Такова автофосфорилиране играе две ключови роли в сигнализирането от тези рецептори. Първо, фосфорилирането на тирозинови остатъци в каталитичния домейн увеличава активността на протеинкиназата. Второ, фосфорилирането на тирозинови остатъци извън каталитичния домейн създава специфични места за свързване за допълнителни протеини, които предават вътреклетъчни сигнали надолу по веригата от активираните рецептори.

Връзката на сигнални молекули надолу по веригата с рецепторните тирозинкинази се осъществява чрез протеинови домейни, които се свързват със специфични фосфотирозин-съдържащи пептиди. Първите от тези домейни, които са характеризирани са SH2 домейни (от Src homology 2), наричани така, защото първоначално са били разпознати в тирозинкинази, свързани със Src, онко-

генния протеин на вируса на саркома на Rous. Получената асоциация на SH2-съдържащи протеини с активирани рецепторни тирозинкинази може да има няколко ефекта: тя локализира тези протеини в плазмената мембрана, води до тяхната асоциация с други протеини, насърчава тяхното фосфорилиране и стимулира техните ензимни активности. Асоциацията на тези протеини с автофосфорилирани рецептори представлява първата стъпка в интрацелуларното предаване на сигнали, инициирано от свързването на растежни фактори с клетъчната повърхност.

Сигнализирането чрез митоген активирана протеинкиназа (MAP) киназна каскада е един от основните пътища за пренос на сигнали, активирани надолу по веригата от рецепторни тирозинкинази (Фигура 3). По този път на сигнализация, пренасянето на сигнала става през серия от последователно активиращи се протеинкинази. Името на киназата се получава от първите букви на цялото име на ензима, митоген активирана протеинкиназа – MAP киназа. Добре проучен е Ras-MAPK път на сигнализиране.

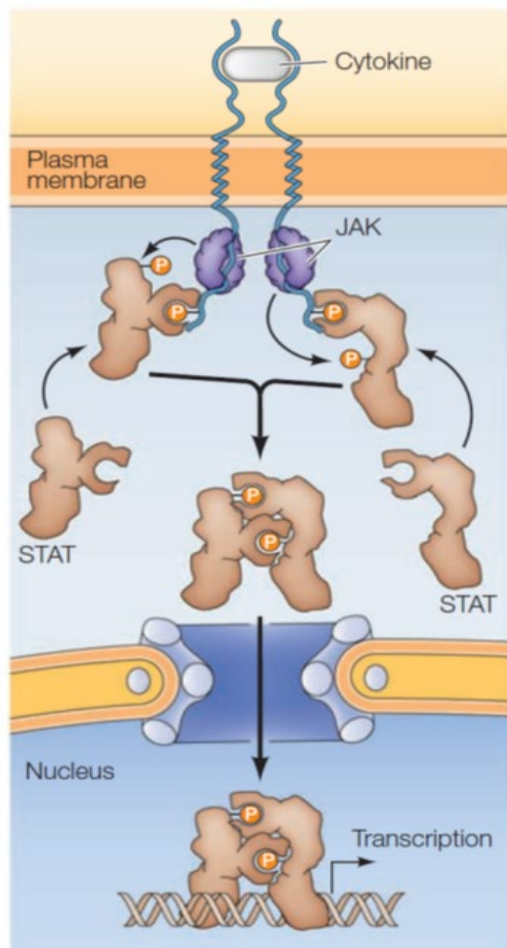


Фигура 3. Активиране на Ras, Raf и ERK надолу по веригата от рецепторни тирозинкинази. (по Cooper, 2019)

Процесът започва, когато растежен фактор (напр. EGF) се свърже с тирозинкиназния рецептор, който се автофосфорилира и това създава условия за асоцииране с него на адапторни протеини, което заменя GDP с GTP в Ras – малка протеинова молекула с GTP активност, която се намира на вътрешната повърхност на плазмалемата и е прикрепена към нея посредством липид, интегриран в цитоплазмения монослой на мембраната. Ras привлича Raf – протеин към мембраната, където той се фосфорилира от киназа. Фосфорилираният Raf на свой ред фосфорилира друга киназа, наречена MEK (известна като MAPKK-MAP киназа киназа). Тя пък фосфорилира киназа, наречена ERK (известна като MAPK). MAPKK-и могат да фосфорилират едновременно треонинови и тирозинови остатъци в полипептидната верига на MAPK, с което активират ензима. След като се активира, MAPK се пренася в ядрото, където фосфорилира транскрипционни фактори. Така те увеличават своя афинитет за свързване към регулаторни места на ДНК, с което се повишава нивото на транскрипция на специфични гени.

Много рецептори не притежават собствена ензимна активност, а действат чрез стимулиране на вътреклетъчни тирозинкинази, с които са нековалентно свързани. Тези нерецепторни тирозин кинази включват членове на суперсемейството на цитокиновите рецептори, което обхваща рецепторите за повечето цитокини (например еритропоетин и интерлевкин-2) и за някои полипептидни хормони (например растежен хормон). Подобно на рецепторните тирозинкинази, цитокиновите рецептори съдържат N-терминални екстрацелуларни лиганд-свързващи домейни, единични трансмембранны α-спирали и C-терминални цитозолни домейни. Цитозолните домейни на цитокиновите рецептори обаче не притежават никаква известна каталитична активност. Вместо това цитокиновите рецептори функционират в асоциация с нерецепторни тирозинкинази, които се активират в резултат на свързване на лиганда. Първата стъпка в сигнализирането от

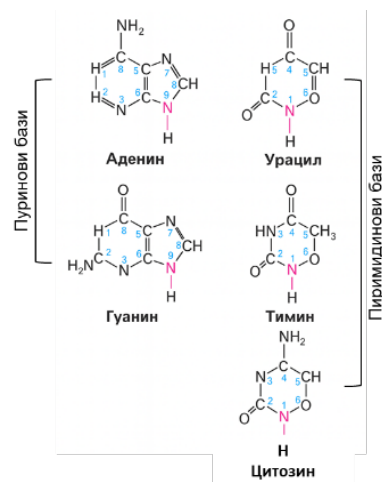
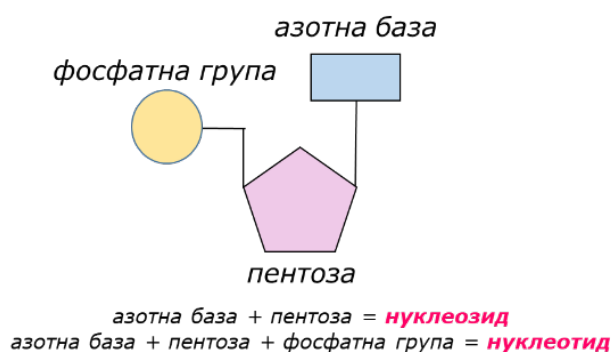
цитоклиновите рецептори е индуцираната от лиганда димеризация на рецептора и кръстосано фосфорилиране на свързаните нерецепторни тирозинкинази. Тези активирани кинази след това фосфорилират рецептора, осигурявайки фосфотирозин-свързващи места за набирането на сигнални молекули надолу по веригата, които съдържат SH2 домейни. Комбинациите от цитоклинови рецептори и свързани нерецепторни тирозинкинази функционират по аналогичен начин на рецепторните тирозинкинази.



Пътят JAK/STAT е класически пример за сигнализация с участието на цитоклинови рецептори (Фигура 4). Киназите, свързани с цитоклиновите рецептори, включват членове на семейството Janus kinase (или JAK), което се състои от четири свързани нерецепторни тирозинкинази. Ключовите мишени на JAK киназите са STAT протеините (сигнални трансдуктори и активатори на транскрипцията), които първоначално са идентифицирани в проучвания на сигнализирането на цитоклиновите рецептори. STAT протеините са неактивни в нестимулирани клетки, където са локализирани в цитоплазмата. Стимулирането на цитоклиновите рецептори води до набиране на STAT протеини, които се свързват чрез своите SH2 домейни с фосфотирозин-съдържащи последователности в цитоплазмените домейни на рецепторите. След свързването им с активираните рецептори, STAT протеините се фосфорилират от киназите от семейството JAK. Фосфорилирането на тирозина стимулира димеризацията на STAT протеините, които след това се преместват в ядрото, където стимулират транскрипцията на техните целеви гени. По този начин STAT транскрипционните фактори служат като директна връзка между цитоклиновите рецептори на клетъчната повърхност и регулацията на генната експресия в ядрото.

Фигура 4. Сигналният път JAK/STAT.
(по Cooper, 2019)

Нуклеиновите киселини представляват последователности от химически свързани субединици, чиято основна роля е съхранението, предаването и експресията на генетичната информация. Съществуват два основни типа нуклеинови киселини – дезоксирибонуклеинова киселина (ДНК) и рибонуклеинова киселина (РНК), всяка от които притежава специфични структурни характеристики и биологични функции. Нуклеиновите киселини са изградени от нуклеотидни единици, като всеки нуклеотид се състои от три компонента: азотна база, монозахарид (пентоза) и фосфатна група. Азотните бази се класифицират в две категории – пурины и пиримидини. Пурините включват аденин (А) и гуанин (Г) и са изградени от слети пет- и шестчленен пръстен. Пиримидините – цитозин (С), тимин (Т) и урацил (У) – съдържат един шестчленен пръстен. В ДНК се срещат аденин, гуанин, цитозин и тимин, докато РНК съдържа аденин, гуанин, цитозин и урацил, който замества тимина. Монозахаридът е петвъглеродна захар с циклична структура. При ДНК това е 2-дезоксирибоза, която притежава хидроксилни групи (–ОН) на първата, третата и петата позиция на пръстена, но има водороден атом (–Н) на втората позиция, вместо хидроксилна група. При РНК, монозахаридът е рибоза, който съдържа хидроксилна група на втора позиция. Тази разлика изглежда минимална, но тя има съществени последици за стабилността и функциите на молекулите. Липсата на хидроксилна група на втората позиция при ДНК я прави по-устойчива на хидролиза, което обуславя ролята ѝ като молекула за дълготрайно съхранение на генетичната информация. Фосфатната група е третият компонент на нуклеотида и съдържа фосфорен атом, свързан с кислородни атоми. При нуклеотидите фосфатната група е свързана към петата позиция на захарта чрез фосфоестерна връзка. Азотната база и монозахаридът са свързани посредством N-глюкозидна връзка, като аденинът и гуанинът се свързват чрез азотния атом в позиция 9 на пуриновия пръстен, а цитозинът, тиминът и урацилът – чрез азотния атом в позиция 1 на пиримидиновия пръстен. В резултат на това свързване се образува нуклеозид. При добавяне на фосфатна група към петата позиция на захарта се формира нуклеотид.



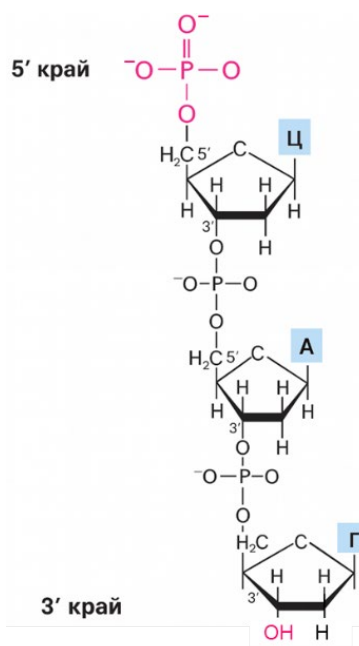
Нуклеотидите се свързват в полимерни вериги чрез образуване на фосфодиестерни връзки. Тези връзки се установяват между 3'-хидроксилната група на един нуклеотид и 5'-фосфатната група на следващия нуклеотид. Получената полинуклеотидна верига притежава ясно изразена насоченост: единият ѝ край съдържа свободна 5'-фосфатна група (5'-край), а другият – свободна 3'-хидроксилна група (3'-край). По правило нуклеотидната последователност винаги се записва и анализира в посока от 5' към 3' край. Тази насоченост е от съществено значение за всички основни биологични процеси, включително репликация, транскрипция и транслация.

Скелетът на полинуклеотидната верига се състои от редуващи се захарни и фосфатни остатъци, образуващи регулярна и повтаряща се структура. Азотните бази излизат навън от този захарно-фосфатен скелет и участват в специфични взаимодействия.

Около N-глюкозидната връзка между азотната база и захарта съществува възможност за ротация, която се характеризира с торзионния ъгъл на тази връзка. В зависимост от стойността на ъгъла нуклеотидът може да заема син- или анти-конформация. При син-конформацията пуриновият пръстен или кислородният атом на пиримидиновата база са разположени над пентозния пръстен, докато при анти-конформацията те са насочени в противоположна посока спрямо захарта. Анти-конформацията е преобладаваща в природните ДНК и РНК молекули, докато син-конформацията има значение при специфични структури, като например Z-ДНК.

Разбирането на вторичната структура на ДНК е резултат от поредица експериментални открития. През 50-те години на XX век, Ервин Чаргаф анализира нуклеотидния състав на различни ДНК молекули чрез хроматографски методи. Той установява, че количеството на адениновите остатъци е равно на това на тиминовите ($A = T$), а количеството на гуаниновите – на цитозиновите ($G \equiv C$), като съотношението между пурины и пиримидини винаги е 1:1. Това наблюдение, известно като правилото на Чаргаф, предполага специфична организация на азотните бази в ДНК молекулата.

По същото време Розалинд Франклин и Морис Уилкинс провеждат рентгеноструктурни анализи на ДНК молекули. Получените дифракционни модели разкриват спираловидния характер на молекулата. Данните показват диаметър на ДНК от приблизително 2 nm, разстояние между последователни обороти на спиралата от около 3,4 nm и наличие на приблизително 10 нуклеотидни двойки на оборот. Тези параметри свидетелстват за регулярна и добре организирана спирална структура.

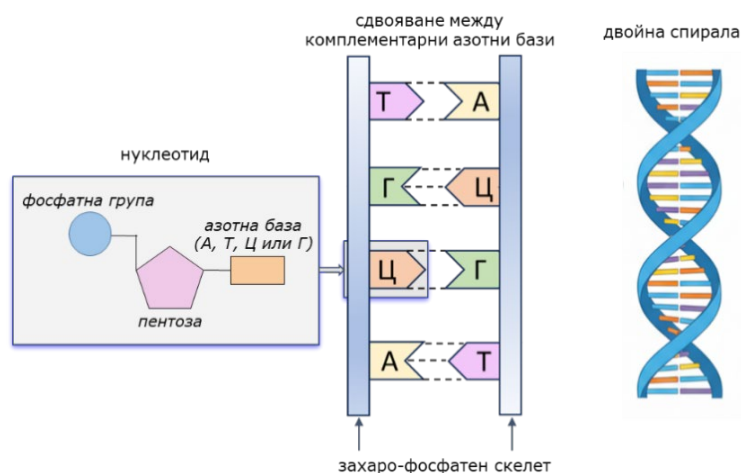


През 1953 г. Джеймс Уотсън и Франсис Крик предлагат модел на ДНК, който интегрира всички налични експериментални данни. Според този модел, ДНК е изградена от две полинуклеотидни вериги, усукани около една обща ос и образуващи дясновъртяща двойна спирала. Захаро-фосфатните им скелети са разположени по периферията на молекулата и формират външната ѝ повърхност, докато азотните бази са ориентирани към центъра и изграждат вътрешната сърцевина. Това подреждане позволява хидрофилният скелет да бъде максимално изложен на водната среда, а хидрофобните бази да бъдат защитени във вътрешността на структурата. Дясновъртящият характер на спиралата означава, че при наблюдение по оста на молекулата захаро-фосфатните вериги се завъртат по посока на часовниковата стрелка. По протежение на спиралата се оформят две надлъжни бразди – голяма и малка, които служат като места за специфично взаимодействие с регулаторни белтъци, разпознаващи определени ДНК последователности.

Двете полинуклеотидни вериги се свързват помежду си чрез специфично базово сдвояване. Аденинът от едната верига се свързва с тимин от другата, образувайки $A=T$ двойка, а гуанинът –

с цитозин, образувайки $G \equiv C$ двойка. Това специфично сдвояване е в основата на комплементарността между веригите и обяснява правилото на Чаргаф. Свързването между комплементарните бази се осъществява чрез водородни връзки. $A=T$ двойката се стабилизира от две водородни връзки, докато $G \equiv C$ двойката се стабилизира от три, което допринася за по-високата стабилност на $G \equiv C$ богатите участъци.

Азотните бази в базовите двойки не лежат в една и съща равнина, а са леко отместени една спрямо друга, образувайки конфи-



гурация, наподобяваща витло. Ъгълът на отместване е приблизително 12° при А=Т двойките и около 7° при G≡C двойките.

Двете вериги в молекулата на ДНК са антипаралелни: едната е ориентирана от 5' към 3' край, а другата – от 3' към 5' край. Тази антипаралелност е критична за стабилността на молекулата и представлява ключов елемент от модела на Уотсън–Крик.

Вертикалните взаимодействия между съседни азотни бази, известни като стекинг-взаимодействия, възникват благодарение на малкото разстояние между базите, което попада в границите на Ван дер Ваалсовия радиус. Те включват диполни взаимодействия, Лондонови дисперсионни сили и хидрофобни ефекти. Стекинг-взаимодействията допринасят значително за стабилността на ДНК молекулата, често в същата степен, както и водородните връзки.

ДНК молекулата не съществува в един-единствен конформационен вид, а може да приема различни структурни форми в зависимост от условията на средата. В-конформацията е преобладаващата форма на ДНК молекулите при физиологични условия в живите клетки и във водни разтвори със съдържание на вода около 90%. В-ДНК съдържа приблизително 10 нуклеотидни двойки на оборот на спиралата, разстоянието между два последователни оборота е около 3,4 nm и се оформят две ясно изразени бразди – голяма и малка.

А-конформацията се наблюдава в разтвори с по-ниско водно съдържание (около 70%). А-ДНК е преобладаващата конформация при двойноверижни РНК молекули и при хибридни ДНК–РНК дуплекси. При тази форма азотните бази са наклонени спрямо централната ос на спиралата, което води до структура с около 11 нуклеотидни двойки на оборот и разстояние между оборотите от приблизително 2,55 nm.

Z-конформацията представлява лявовъртяща спирала, което е сравнително необичайно явление в живата клетка. Z-ДНК се среща в ограничени участъци при алтернативни пурин–пиримидинови последователности, при които пурините заемат син-конформация, а пиримидините – анти-конформация. Тази форма съдържа 12 нуклеотидни двойки на оборот и се характеризира с наличие на една централна бразда вместо две.

За разлика от ДНК, която обикновено е двойноверижна, РНК молекулите са предимно еднoверижни. Въпреки това РНК може да образува локални вторични структури чрез базово сдвояване между различни участъци на една и съща верига. Това се осъществява благодарение на наличието на палиндромни последователности, при които дадена нуклеотидна последователност е последвана от своята обратна комплементарна последователност. Когато такива палиндромни области са разположени близо една до друга, РНК молекулата може да се огъне и да образува базови двойки между комплементарните участъци. В резултат се формира структура, известна като фуркета (стъбло-бримка). Стъблото представлява двойноверижен участък, стабилизирани от водородни връзки и стекинг-взаимодействия между азотните бази, докато бримката се състои от сегмента между двата комплементарни региона. Способността на РНК да формира специфична вторична структура е от критично значение за нейните биологични функции. Много видове РНК, особено транспортните РНК, образуват характерни бримки и структурни елементи за правилното си функциониране.

Денатурацията е процес, при който водородните връзки между комплементарните вериги на ДНК се разкъсват и двете полинуклеотидни вериги се разделят. Този процес може да бъде индуциран от различни фактори, като висока температура, екстремни рН стойности, както и определени химични реагенти, които нарушават електростатичните взаимодействия. Денатурацията е съпроводена от значителни промени във физикохимичните свойства на молекулата. Един от най-характерните показатели е промяната в оптичната абсорбция. Азотните бази поглъщат ултравиолетова светлина с максимум при 260 nm. При нативната двойноверижна ДНК абсорбцията е приблизително с 40% по-ниска в сравнение със свободни нуклеотиди. Това явление, известно като хипохромен ефект, се дължи на подреденото разположение на азотните бази като монетни стълбчета в двойната спирала. След денатурация базите губят тази подредба и абсорбцията нараства – явление, известно като хиперхромен ефект. Денатурацията на ДНК не настъпва при една строго определена температура, а протича в определен температурен интервал. Температурата на топене (T_m) се дефинира като температурата, при която 50% от молекулите са денатурирани. Когато оптичната абсорбция се изобрази като функция от температурата се получава характерна S-образна крива, известна като крива на топене на ДНК. Температурата на топене зависи от няколко фактора, като най-значимият е нуклеотидният състав. Йонната сила на разтвора също оказва значително влияние, а присъствието на органични разтворители, като форма-

мид може да понижи T_m и да позволи денатурация при по-ниски температури. При подходящи условия денатурацията може да бъде обратим процес. Ренатурацията (реасоциацията) представлява повторното свързване на две комплементарни едноверижни полинуклеотидни вериги и възстановяване на двойната спирала. Хибридацията е сходен процес, при който се свързват две комплементарни едноверижни молекули нуклеинови киселини – ДНК–ДНК, РНК–РНК или ДНК–РНК хибриди.

ДНК репликация

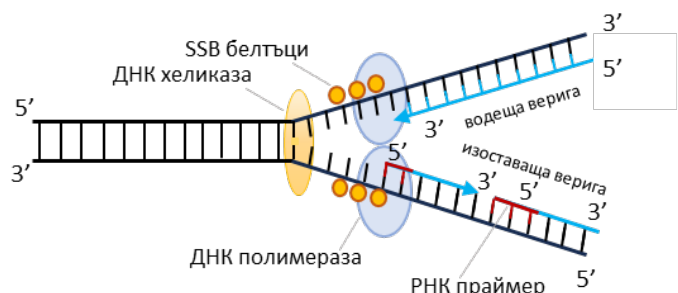
Процес, при който оригиналните (родителски) вериги на ДНК в двойната спирала се разделят и всяка от тях се копира, за да се получат две нови (дъщерни) двойно-верижни ДНК молекули. ДНК репликацията се извършва през S фазата на клетъчния цикъл. При клетъчното делене двете дъщерни клетки получават идентични копия на ДНК. Репликацията на ДНК може да се извърши изкуствено чрез лабораторна техника, наречена полимеразна верижна реакция (PCR – Polymerase Chain Reaction), която може да амплифицира прицелен ДНК фрагмент от генома. ДНК репликацията е процеса осигуряващ точното копиране на генетичния материал при всяко клетъчно делене. Основна характеристика на репликацията е нейния полуконсервативен характер. При този процес, двойната спирала на ДНК се разплита, разделяйки двете комплементарни вериги. Всяка от двете вериги служи, като шаблон или матрица за синтез на нова комплементарна верига. Резултатът е образуването на две нови ДНК молекули, всяка съставена от една майчина верига и една новосинтезирана верига. След приключване на репликацията, всяка дъщерна клетка получава един оригинален генетичен материал от родителската клетка и един новосинтезиран. Процесът осигурява непрекъснатост на генетичната информация от поколение на поколение. Репликон е геномна единица, в която се извършва единичен акт на репликация. Бактериалната хромозома представлява единичен репликон, докато еукариотната хромозома се състои от множество репликони. Репликацията на ДНК се иницира в място наречено начало на репликацията – секвенция богата на A=T двойки (*OriC* сайт при *E.coli*). Там се иницират репликационни вилки, които се движат двупосочно по молекулата на ДНК. Репликацията спира в участък наречен край на репликацията. Процеса репликация се състои от три етапа: Инициация – включва разпознаване на репликационно начало от белтъчен комплекс, разделяне на двете вериги и временно стабилизиране на едноверижното им състояние, инициране в репликационната вилка на синтеза на дъщерните вериги; Елонгация – осъществява се от друг белтъчен комплекс – реплизома, който съществува само свързан със специфичната структура, която ДНК придобива в репликационната вилка. Реплизомата включва ДНК полимераза III и други ензими; Край на репликация – реакции на свързване или терминация, след които удвоените хромозоми се разделят.

В бактериалните и еукариотните клетки има няколко ДНК полимерази. Едни от тях участват в каталитичната реакция на репликацията, други имат помощна роля в репликацията, а трети извършват поправка на повредена ДНК. Всички бактериални и еукариотни ДНК полимерази споделят една и съща фундаментална 5'-3'-синтетична активност (катализират създаването на 5'-3' фосфодиестерна връзка между два нуклеотида). Синтезата на новата ДНК верига се извършва винаги в посока 5'-3'. Субстрати са 4^{-те} нуклеотид трифосфати (НТФ). ДНК полимеразите притежават също и 3'-5'-екзонуклеазна активност, която се използва за да се изрежат неправилно сдвоени бази (proofreading активност). При прокариотните организми основната репликаза е ДНК полимераза III. ДНК полимераза III на *E. coli* е комплекс с димерна структура, притежаващ висока процесивност. Всеки мономер се състои от: комплекс, натоварващ скобата – 5 субединици, които използват енергията на АТФ хидролиза, за да свържат β скобата към дуплекса матрица:праймер; хомодимер на β субединицата (β скоба) – обхваща матричната верига, като скоба и след това присъединява каталитичната сърцевина; каталитична сърцевина – α субединица с ДНК полимеразна активност, ϵ субединица с ДНК екзонуклеазна активност, θ субединица, стимулираща ϵ субединицата; и димеризираща субединица, τ (таф) – свързва каталитичните субединици и поддържа димерната структура.

Тъй като двете комплементарни вериги са антипаралелни, този еднопосочен синтез създава специфичен проблем при репликация. Една от двете новосинтезиращи се вериги, известна като водеща, е ориентирана в посока, позволяваща непрекъснатата ѝ синтеза. Другата верига – изоставаща верига, е ориентирана в противоположна посока, което изисква специален механизъм за нейното синтезиране. Водещата верига на ДНК се синтезира непрекъснато в посока 5'-3'. Изоставащата верига на ДНК трябва да нараства в посока 3'-5' и се синтезира прекъснато под формата

на 5'-3' фрагменти с дължина 1000 – 2000 нд (в еукариотни клетки са с дължина 100 – 200 нд) – фрагменти на Оказаки, които след това се свързват ковалентно.

При прокариоти, преди да стартира синтезата на ДНК, двете вериги в молекулата на ДНК трябва да се разделят в къс участък, разположен в непосредствена близост на *OriC*. Процеса изисква свързване на инициаторни белтъци към *OriC*. Следва присъединяване на хеликазите и на белтъци SSB (Single-Strand Binding), които пречат на разделените вериги да образуват дуплекс. Хеликазата разкъсва водородните връзки между базите на двете полинуклеотидни вериги и разплита двойната спирала. Тя не може да инициира разплитането – инициаторните белтъци първи разделят двете вериги в близост до *OriC* и тогава хеликазата се свързва към изоставащата верига. Жиразата е топоизомераза, която контролира суперспирализирането на ДНК. Редуцира торзионното напрежение, което възниква пред репликационната вилка в резултат на разплитането (изисква хидролиза на АТФ, като донор на енергия). ДНК полимеразата не може да започне сама синтез на нова верига, а се нуждае от свободен 3'-ОН край, към който да прибавя нуклеотиди. За целта се синтезира къса праймерна секвенция (най-често РНК) с дължина 10-12 нд, която предоставя свободен 3'-край на ДНК полимеразата. Праймазата е специална РНК полимеразата, която синтезира тези праймери. Хеликазата, създаваща репликативната вилка е свързана с двете каталитични сърцевини на ДНК полимеразата III, всяка от които се държи върху матрицата чрез β -скоба. Каталитичната сърцевина, която синтезира водещата верига, се движи непрекъснато. Другата каталитична сърцевина, която синтезира изоставащата верига, се дисоциира в края на новосинтезирания фрагмент на Оказаки и след това се реасоциира към праймер в едноверижната бримка, за да синтезира следващия фрагмент. ДНК полимеразата III удължава праймера във фрагмент на Оказаки. Следващият фрагмент на Оказаки вече е синтезиран. ДНК полимеразата I заменя РНК праймера с ДНК. Лигаза свързва два съседни фрагмента на Оказаки.



При еукариотните организми Репликоните имат дължина 40 – 100 кб и се активират в определено време и в определен ред през S фазата на еукариотния клетъчен цикъл, когато ДНК се реплицира. Всеки репликон се активира само веднъж през клетъчния цикъл. Репликативната вилка (ДНК полимеразата) се движи от началото на нейния репликон, докато срещне друга вилка (друга ДНК полимеразата), движеща се срещу нея от съседния репликон (хиляди начала на репликацията).

Преди репликация, ядрото съдържа активни лицензиращи фактори. След репликация лицензиращите фактори в ядрото се инактивират, а лицензиращите фактори в цитоплазмата не могат да влязат в ядрото. По време на митозата, когато се разрушава ядрената мембрана и се образуват дъщерните ядра, лицензиращите фактори се свързват с техния ядрен материал. Лицензиращите фактори гарантират, че репликация ще се извърши само веднъж по време на клетъчния цикъл.

Реализация на генетичната информация

През 1958 г. Франсис Крик формулира централната догма, която описва потока на генетичната информация от ДНК към РНК и след това към протеините. ДНК съдържа наследствената информация, РНК служи като неин преносител, а рибозомите са мястото, където тази информация се превръща във функционален продукт. Процесът се нарича генна експресия и включва два основни етапа: транскрипция (синтез на РНК) и транслация (синтез на протеини). Централната догма описва потока на генетичната информация $\text{ДНК} \rightarrow \text{РНК} \rightarrow \text{протеин}$, но съвременната биология показва, че този процес е по-сложен и динамично регулиран. РНК има множество функции извън ролята си на посредник, като некодиращите РНК участват в регулацията на генната експресия. Откриването на обратната транскрипция доказва, че информацията може да се предава и от РНК към ДНК. Генната експресия се контролира и от епигенетични механизми и от самите протеини чрез обратни регулаторни връзки, което превръща централната догма от линеен модел в сложна регулаторна мрежа.

Транскрипция – транскрипционна единица

Транскрипцията е процесът, при който генетичната информация се преписва от ДНК в РНК и представлява първия етап от реализацията на генетичната информация в клетката. Тя се катализира от ензима ДНК-зависима РНК полимераза, който използва едната ДНК верига (матрична) като шаблон. Получената РНК молекула е комплементарна на матричната верига и почти идентична със смислената ДНК верига, като вместо тимин съдържа урацил. Информационната РНК пренася генетичните инструкции от ядрото до рибозомите, където се осъществява синтезът на белтъци. Процесът е строго регулиран и се активират само гените, необходими в дадения момент. Транскрипцията протича в три основни етапа. По време на инициацията РНК-полимеразата разпознава специфична ДНК последователност, наречена промотор, свързва се с нея и предизвиква локално разплитане на двойната спирала, като се образува транскрипционно мехурче. Този етап е решаващ, защото определя кои гени ще бъдат транскрибирани. Следва етапът на елонгация, при който РНК-полимеразата се придвижва по матричната ДНК в посока $3' \rightarrow 5'$ и синтезира комплементарна РНК в посока $5' \rightarrow 3'$, като последователно добавя рибонуклеотиди според принципа на комплементарност. Терминацията настъпва, когато ензимът достигне специална терминаторна последователност, в резултат на което РНК-полимеразата се отделя от ДНК, а новосинтезираната РНК молекула се освобождава.

Транскрипционната единица представлява участък от ДНК, който съдържа цялата информация, необходима за синтеза на една РНК молекула. Тя включва промоторна област, РНК-кодираща последователност и терминатор. Мястото, от което започва транскрипцията, се нарича транскрипционно начало (TSS) и се означава с +1. Промоторът се разполага нагоре от това място, не се транскрибира, но има ключова регулаторна функция, тъй като служи за свързване на РНК-полимеразата и инициране на транскрипцията. Посоката на движение на РНК-полимеразата определя ориентацията на транскрипционната единица на „нагоре“ и „надолу“ спрямо TSS. Обикновено една транскрипционна единица кодира един ген и води до синтез на моноцистронна РНК, но в някои случаи може да обхваща няколко гена и да продуцира полицистронна РНК.

РНК полимерази

РНК полимеразите са ензими, които катализират синтеза на РНК по матрица от ДНК. При прокариотите и археите съществува един тип РНК полимераза, докато еукариотните клетки използват три основни РНК полимерази, а в растенията се срещат още две допълнителни. Митохондриите и пластидите разполагат със собствени, органел-специфични РНК полимерази. Основната активност на ензима е $5' \rightarrow 3'$ полимеразна активност, при която към нарастващата РНК верига се добавят рибонуклеотиди, използвайки ДНК като матрица. Субстратите на реакцията са нуклеозид трифосфатите АТР, ГТР, СТР и УТР, а последователността на РНК се определя от

комплементарното вдвояване на базите. Каталитичният механизъм е сходен с този на ДНК полимеразата и включва образуване на фосфодиестерна връзка с освобождаване на пирофосфат. Всяка новосинтезирана РНК започва с нуклеозид трифосфат, при който се запазва 5'-трифосфатната група.

РНК полимераза при прокариоти

Бактериалната РНК полимераза се състои от каталитично ядро, изградено от четири основни субединици – две α -субединици и по една β -, β' - и ω -субединица ($\alpha_2\beta\beta'\omega$). Тази основна форма на ензима се нарича сърцевинен или кор-ензим. За точното разпознаване и позициониране върху правилния промотор към кор-ензима се присъединява допълнителна субединица, наречена σ -фактор. Комплексът от кор-ензима и σ -фактора ($\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$) се означава като холоензим. Кор-ензимът е напълно способен да катализира синтеза на РНК, което показва, че σ -факторът не е необходим за самата каталитична активност. Въпреки това кор-ензимът притежава само неспецифичен афинитет към ДНК и може да се свързва хлабаво със случайни участъци, без да различава промоторни последователности. При такова свързване ДНК остава двойноверижна. За разлика от кор-ензима, σ -факторът разпознава специфични ДНК последователности – промоторите. Благодарение на него холоензимът се свързва стабилно с промотора и предизвиква локално разплетане на ДНК, което е необходимо за започване на транскрипцията. Правилният избор на промотор е критичен за процеса, тъй като синтезът на функционална РНК трябва да започне точно в началото на гена.

Еукариотни РНК полимерази

В ядрото на еукариотната клетка функционират три консервативни РНК полимерази – РНК полимераза I, РНК полимераза II и РНК полимераза III, като всяка от тях транскрибира различен набор от гени. РНК полимераза I е отговорна за транскрипцията на гените за рибозомна РНК – 18S, 5.8S и 28S рРНК, с изключение на гена за 5S рРНК. Гените за 18S, 5.8S и 28S рРНК обикновено са организирани в една транскрипционна единица, известна при растенията като 35S рибозомна ДНК (рДНК), а при животните – като 45S рДНК. Тази транскрипционна единица се транскрибира от РНК полимераза I и дава начало на един общ прекурсор на рРНК, който впоследствие се процесира до трите зрели рРНК молекули. Генът за 5S рРНК е разположен извън 35S/45S рДНК единицата и се транскрибира от РНК полимераза III. Синтезът на рибозомна РНК протича в ядрцето – специализирана структура в ядрото на еукариотните клетки, която служи като място за транскрипция, процесинг на рРНК и начални етапи на сглобяване на рибозомните субединици. РНК полимераза II транскрибира всички протеин-кодиращи гени, както и множество гени за некодиращи РНК, включително микроРНК и малки ядрени РНК, участващи в процеса на сплайсинг. Тази полимераза е изключително чувствителна към алфа-аманитин. РНК полимераза III транскрибира повечето от малките клетъчни РНК, включително тРНК и 5S рРНК. Ядрените РНК полимерази са големи мултисубединични комплекси. Всяка от еукариотните РНК полимерази съдържа както уникални, така и споделени субединици. Уникалните субединици са от съществено значение за специфичните функции на всяка полимераза, като определят типа РНК, който се транскрибира, и взаимодействието със съответните транскрипционни фактори. Те включват двете най-големи субединици, които са силно консервативни през еволюцията и формират каталитичното ядро на ензима. Споделените между трите РНК полимерази субединици изпълняват както структурна роля, осигуряваща правилното сглобяване и стабилност на комплекса, така и функционална роля, тъй като участват във взаимодействия с регулаторни белтъци и транскрипционни фактори, което позволява гъвкава регулация на транскрипцията в отговор на различни клетъчни условия.

Особености при прокариоти и еукариоти

Регулацията на генната експресия при еукариотите се осъществява основно на нивото на транскрипцията и включва взаимодействие между транскрипционни фактори, регулаторни ДНК елементи и мултипротеинови комплекси. Транскрипционните фактори са белтъци, които се свързват със специфични ДНК последователности и инициират или модулират транскрипцията, като главните транскрипционни фактори при еукариоти (TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIF и TFIIH) са необходими за започване на транскрипцията, а други действат като активатори или репресори. Регулаторните ДНК елементи включват промотори, към които се свързва транскрипционната

машина, както и енхансери и сайлънсери, които могат да усилят или потискат транскрипцията от разстояние и играят ключова роля в тъканно-специфичната експресия. Генната експресия се контролира от сложни регулаторни мрежи, в които множество фактори взаимодействат помежду си и с различни гени, за да осигурят координиран отговор на вътрешни и външни сигнали. При прокариотите транскрипцията и транслацията протичат едновременно в цитоплазмата, като иРНК не претърпява посттранскрипционна обработка. Пре-рРНК и пре-тРНК обаче се обработват до функционални молекули. При еукариотите транскрипцията се извършва в ядрото, а транслацията – в цитоплазмата. Протеин-кодиращите гени се транскрибират до пре-иРНК, която претърпява посттранскрипционна обработка и се превръща в зряла иРНК, транспортирана в цитоплазмата за синтез на белтъци.

Синтез на протеини – транслация

Протеиновият синтез, наричан още **транслация**, е процесът, при който информацията, записана в информационната РНК (иРНК), се използва за синтез на белтъчни молекули. По време на транслацията нуклеотидната последователност на иРНК се „превежда“ в аминокиселинна последователност с помощта на генетичния код. Процесът изисква съгласуваното действие на иРНК, транспортна РНК (тРНК) и рибозомна РНК (рРНК), както и участието на множество цитоплазмени белтъци и фактори. Транслацията може да се разглежда като **кулминационния етап на експресията на генетичната информация**, тъй като нейният краен резултат са белтъците – основните структурни и функционални компоненти на живите клетки.

Въведение в транслацията

Генетичният код представлява набор от правила, чрез които живите клетки превеждат информацията, кодирана в нуклеиновите киселини, в аминокиселинна последователност на белтъците. Той се състои от последователности от нуклеотиди, групирани в триплети, наречени кодони, като всеки кодон определя включването на определена аминокиселина по време на белтъчния синтез или сигнализира за начало или край на транслацията. Важна характеристика на генетичния код е колинеарността между нуклеотидната последователност на кодиращия участък на гена (респ. иРНК) и аминокиселинната последователност на съответния белтък. Това означава, че подредбата на кодоните в иРНК съответства линейно на подредбата на аминокиселините в полипептидната верига. В резултат дължината на кодиращата нуклеотидна последователност е пропорционална на дължината на синтезирания полипептид. По време на транслацията иРНК, синтезирана в процеса на транскрипция, служи като матрица, върху която рибозомите изграждат специфична аминокиселинна последователност чрез разчитане на генетичния код. Докато колинеарността е ясно изразена при прокариоти и много вируси, при еукариотите тя е по-сложно проявена. Еукариотните гени често съдържат интрони, които се отстраняват по време на процеса на първичната транскриптна РНК, което нарушава директното съответствие между дължината на гена и дължината на крайния белтък. Въпреки това основният принцип на колинеарността остава фундаментален за разбирането на транслацията.

Основни етапи на транслацията

Инициация – етапът, при който малката и голямата рибозомна субединица се сглобяват върху иРНК във функционална рибозома. Разпознава се стартовият кодон (обикновено AUG) и се свързва инициаторната тРНК, натоварена с метионин. Инициацията е сравнително бавен и силно регулиран етап, който често определя скоростта на транслация на дадена иРНК. **Удължаване** – включва последователното присъединяване на аминокиселини към нарастващата полипептидна верига чрез образуване на пептидни връзки. Това е най-бързият етап на белтъчния синтез и протича с висока точност. **Прекратяване** – настъпва при достигане на стоп кодон в иРНК. На този етап синтезираната полипептидна верига се освобождава от рибозомата, а рибозомните субединици се дисоциират от иРНК.

Инициация на транслацията

По време на инициацията на транслацията малката субединица на рибозомата се свързва с информационната РНК. Инициаторната транспортна РНК, носеща метионин, се позиционира директно в Р-мястото на малката субединица и разпознава стартовия кодон AUG. След стабилизирание на този инициационен комплекс към него се присъединява голямата рибозомна субединица,

в резултат на което се формира функционално активна рибозома, готова за фазата на удължаване. Ключов въпрос при инициацията е как рибозомата разпознава правилния стартов кодон, от който да започне белтъчният синтез. Този избор не е случаен и се определя от регулаторни елементи, локализирани в 5'-нетранслирания регион (5'-НТР) на иРНК, които участват както в позиционирането на рибозомата, така и в контрола на ефективността и скоростта на транслацията. При прокариотите инициацията на транслацията се осъществява с участието на малката рибозомна субединица (30S), трите прокариотни фактори на инициация (IF-1, IF-2 и IF-3) и специализираната инициаторна тРНК, обозначаваща като тРНК^{fMet}. В повечето прокариотни иРНК се открива специфична нуклеотидна последователност, която насочва рибозомата към началото на протеин-кодиращия регион. При *E. coli* тази последователност, обикновено с консенсус AGGAGG, е известна като област на Шайн–Далгарно. Тя е комплементарна на участък от 16S рРНК в състава на малката рибозомна субединица, което позволява образуването на водородни връзки и точно позициониране на стартовия кодон в Р-мястото на рибозомата. Инициаторната тРНК носи метионин, който след прикрепването към тРНК се формира, образувайки N-формилметионин (fMet). Поради това всяка полипептидна верига, синтезирана в *E. coli* и в повечето други прокариоти, започва с fMet. В следствие тази формирана аминокиселина често се отстранява или посттранслационно. За разлика от инициаторната тРНК, вътрешните кодони AUG в хода на удължаването се разпознават от различна тРНК, носеща неформиран метионин. Инициацията протича поетапно. Първоначално факторът IF-3 се свързва с 30S субединицата и предотвратява преждевременното ѝ асоцииране с 50S субединицата, като същевременно подпомага свързването на малката субединица с иРНК в областта на Шайн–Далгарно. IF-1 се асоциира с А-мястото на 30S субединицата и предотвратява преждевременното навлизане на аминоацил-тРНК. Паралелно с това IF-2, свързан с GTP, образува комплекс с инициаторната тРНК^{fMet} и я доставя до Р-мястото на малката субединица. След правилното разпознаване на стартовия кодон и стабилизиране на инициационния комплекс IF-3 контролира точността на сдвояването между антикодона на тРНК и кодона на иРНК. Последва присъединяване на голямата (50S) субединица, при което IF-2 катализира хидролизата на GTP до GDP. Освободената енергия води до дисоциация на инициращите фактори и до конформационни промени, които стабилизират напълно функционалната 70S рибозома, готова да навлезе във фазата на елонгация.

Удължаване на полипептидната верига

Удължаването на полипептидната верига представлява централния етап на протеиновия синтез, по време на който нарастващият полипептид се удължава с по една аминокиселина във всеки цикъл, в съответствие с последователността на кодоните в иРНК. Транслацията протича в посока от 5'- към 3'-края на иРНК, докато синтезиращият протеин нараства от N-края (със свободна аминогрупа) към С-края (със свободна карбоксилна група). Във всеки цикъл на удължаване към С-края на полипептидната верига се добавя една аминокиселина. Елонгацията се осъществява с участието на фактори на удължаване (elongation factors, EF) и включва повтарящи се цикли, чийто брой се определя от дължината на кодиращата последователност на иРНК. Всеки цикъл се състои от три основни стъпки: навлизане на аминоацил-тРНК в А-мястото, образуване на пептидната връзка и транслокация на рибозомата по иРНК. В първия цикъл на удължаване Р-мястото на рибозомата е заето от инициаторната тРНК, натоварена с метионин, докато при всички следващи цикли там се намира пептидил-тРНК, носеща растящата полипептидна верига. Свободното А-място приема следващата аминоацил-тРНК, чийто антикодон образува комплементарни базови двойки с кодона в иРНК. При прокариотите аминоацил-тРНК се доставя до рибозомата от термолабилния фактор на удължаване EF-Tu. Той образува троен комплекс с аминоацил-тРНК и GTP, който навлиза в А-мястото на рибозомата. Ако между кодона и антикодона се осъществи правилно сдвояване, рибозомата претърпява конформационна промяна, която активира GTP-азната активност на EF-Tu. Това води до хидролиза на GTP до GDP и неорганичен фосфат, последвана от отделяне на EF-Tu(GDP) от рибозомата и освобождаване на аминоацил-тРНК в А-мястото. EF-Tu играе ключова роля за поддържането на високата точност на транслацията. Ако кодон-антикодонното разпознаване е неправилно, рибозомата не активира GTP-азната активност на EF-Tu, което увеличава вероятността некоректната аминоацил-тРНК да напусне рибозомата. Освен това, след отделянето на EF-Tu, настъпва процесът на акомодация – кратко забавяне в пълното навлизане на аминоацил-тРНК в каталитично активната позиция. Това представлява втора контролна точка, при която неправилно свързаните аминоацил-тРНК могат

да бъдат отстранени, преди включването на неправилна аминокиселина в полипептидната верига. При еукариотите аналогичната функция се изпълнява от eEF1A, който образува троен комплекс аминоксил-тРНК/eEF1A(GTP). След правилно кодон-антикодонно разпознаване GTP се хидролизира и eEF1A се освобождава от рибозомата. След стабилизиране на аминоксил-тРНК в А-мястото свободната α -аминогрупа на новопостъпилата аминокиселина атакува естерната връзка, която свързва пептидил-тРНК в Р-мястото с растящия полипептид. В резултат С-краят на полипептидната верига се прехвърля върху аминокиселината в А-мястото и между тях се образува нова пептидна връзка. Така пептидът се удължава с една аминокиселина, в Р-мястото остава деацилирана тРНК, а в А-мястото вече се намира пептидил-тРНК. Катализата на пептидната връзка се осъществява от пептидил-трансферазната активност на рибозомата. Рибозомните белтъци не притежават каталитичен капацитет за тази реакция; вместо това тя се осъществява от рибозомната РНК на голямата субединица – 23S рРНК при прокариоти и 28S рРНК при еукариоти. По този начин рибозомата представлява най-големия известен естествен РНК катализатор (рибозим). Цикълът на удължаване завършва с транслокация – координираното придвижване на тРНК и иРНК през рибозомата. След пептидилния трансфер двете тРНК преминават през т.нар. хибридни състояния. Акцепторният край на деацилираната тРНК се измества към Е-мястото на голямата субединица, докато антикодонът ѝ остава в Р-мястото на малката субединица, формирайки Р/Е хибридно състояние. Едновременно с това пептидил-тРНК заема А-мястото в малката субединица и Р-мястото в голямата субединица (А/Р хибридно състояние). Смята се, че формирането на тези хибридни състояния предхожда придвижването на иРНК през малката субединица. По време на транслокацията контактите между кодоните на иРНК и антикодоните на тРНК се запазват, което гарантира съхраняване на рамката на четене. Комплексът иРНК–тРНК се измества с един кодон напред. Транслокацията се катализира от фактори на удължаване и изисква енергия от хидролиза на GTP. При прокариоти този процес се осъществява от EF-G(GTP), а при еукариоти – от неговия функционален хомолог eEF-2(GTP). След придвижването хибридните състояния се превръщат в класическите Е/Е и Р/Р състояния: деацилираната тРНК се намира в Е-мястото и напуска рибозомата, пептидил-тРНК заема Р-мястото, а А-мястото остава свободно за навлизане на следващата аминоксил-тРНК.

Прекратяване (терминиране) на транслацията

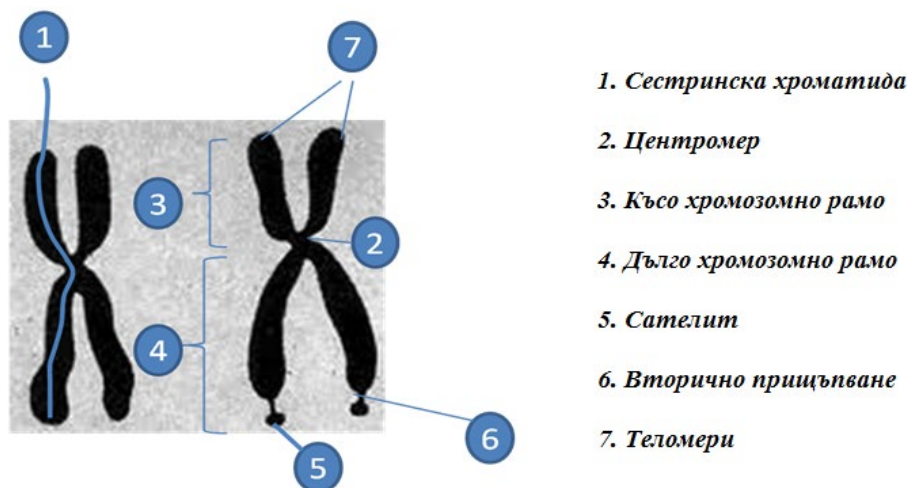
Прекратяването на протеиновия синтез както в прокариотните, така и в еукариотните клетки настъпва, когато в А-мястото на рибозомата попадне един от трите стоп кодона на иРНК – UAA, UAG или UGA. За разлика от смислените кодони, стоп кодоните не се разпознават от тРНК, а от специализирани белтъци, наречени освобождаващи фактори (release factors, RF). Освобождаващите фактори се свързват с А-мястото на рибозомата и разпознават стоп кодона чрез структурна мимикрия на тРНК. Това взаимодействие активира пептидил-трансферазния център на рибозомата, който катализира хидролизата на естерната връзка между полипептидната верига и тРНК, разположена в Р-мястото. В резултат новосинтезираният полипептид се освобождава от рибозомата. Процесът на терминиране е енергийно зависим и включва хидролиза на GTP, която не е необходима за самото разкъсване на пептидил-тРНК връзката, а за ефективното действие и освобождаване на освобождаващите фактори, както и за последващата дисоциация на рибозомния комплекс. При прокариотите са идентифицирани три освобождаващи фактора. RF1 разпознава стоп кодоните UAA и UAG, RF2 разпознава стоп кодоните UAA и UGA, а RF3 е GTP-свързващ фактор, който не разпознава директно стоп кодони, а ускорява освобождаването на RF1 или RF2 от рибозомата след терминирането. RF1 и RF2 осъществяват директното разпознаване на стоп кодоните и катализират освобождаването на полипептида, докато RF3 повишава ефективността и скоростта на процеса чрез GTP-зависим механизъм. При еукариотите терминирането на транслацията се осъществява от два освобождаващи фактора. eRF1 разпознава и трите стоп кодона (UAA, UAG и UGA), а eRF3 е GTP-свързващ белтък, който действа кооперативно с eRF1. eRF1 осъществява разпознаването на стоп кодона и активира хидролизата на пептидил-тРНК връзката, докато eRF3, чрез хидролиза на GTP, стабилизира комплекса и осигурява бързо и ефективно освобождаване на полипептидната верига. След освобождаването на полипептида следва разглобяване на транслационния комплекс- рибозомните субединици се дисоциират, а иРНК и тРНК се освобождават и могат да бъдат използвани повторно в следващи цикли на транслация.

Хромозомите представляват основните клетъчни структури, които съхраняват и предават генетичната информация. Като носители на наследствеността, те притежават свойства, които обуславят тази им роля – участват в ключови метаболитни процеси, имат способност за точно самовъзпроизвеждане и осигуряват прецизно и равномерно разпределение между двете дъщерни клетки по време на митоза и мейоза. Тези фундаментални характеристики определят значението им за предаването на наследствената информация както между клетките в организма, така и между поколенията. В хромозомите са локализирани гените като функционални единици на наследствеността. Те заемат специфични места в хромозомите, наречени локуси, които са разположени в линейен ред. В структурно отношение всяка еукариотна хромозома е изградена от една линейна молекула ДНК, асоциирана с хистонови и нехистонови белтъци, формиращи нуклеопротеинов комплекс, наречен хроматин. При многоклетъчните полово размножаващи се организми соматичните клетки притежават в ядрата си по две копия от всяка хромозома. Хромозомният набор на такива клетки се означава като диплоиден. Не всички еукариотни клетки са диплоидни. Половите клетки (гамети) и спорите са хаплоидни. В тях всяка хромозома е представена само от едно копие, така че тези клетки притежават само един набор хромозоми – хаплоиден хромозомен набор. Броят на хромозомите в диплоидния набор може да варира силно при различните организми, но не може да бъде по-малък от две, както е той при конската глиста (*Parascaris equorum*) и мравката „булдог“ (*Myrmecia croslandi*). Важно е да се отбележи, че няма връзка между броя на хромозомите и сложността на организма. Така например човек има 46 хромозоми, а златната рибка (*Carassius auratus*) – 104. В индийската папрат *Ophioglossum reticulatum* е отчетен най-голям брой хромозоми – 1260. Рекордьор по брой хромозоми при животните е пеперудата *Polyommatus atlas*, в клетките на която има 450 хромозоми. Броят на хромозомите в диплоидния набор е специфичен и характерен за всеки еукариотен вид. Формата и размерите на всяка една хромозома в клетките на индивидите от даден вид са еднакви. При зрееенето на гаметите се извършва редукционно делене, в резултат на което хромозомите в зрелите гамети намаляват наполовина. При сливането на две хаплоидни гамети – женска и мъжка, всяка от които носи само един хромозомен набор, се образува диплоидна зигота, в която се събират два хромозомни набора – един майчин и един бащин. Всяка хромозома от единия набор има съответстваща хромозома от другия набор. Двете заедно образуват двойка хомоложни хромозоми. Например човешките соматични клетки имат 46 хромозоми, които съставят 23 хомоложни хромозомни двойки. По една хромозома от всяка двойка се унаследява от майката и по една от бащата. Така че, ако един ген заема определен локус в дадена хромозома, то и в хомоложната хромозома този ген присъства в същия локус, макар че може да бъде представен от различен алел. Хаплоидните клетки притежават само по едно копие от всеки ген. Хромозомите от различни хромозомни двойки имат различна форма и размери, носят различни гени и се наричат нехомоложни хромозоми. Соматичните клетки на женските и мъжките индивиди се различават по една двойка хромозоми, наречени полови. Хромозомите, които са еднакви за двата пола, се наричат автозоми. През по-голяма част от жизнения цикъл на клетките хромозомите са много трудни за наблюдение, защото са в деспирализирано състояние. През митоза и мейоза те стават компактни и достъпни за изучаване със светлинен микроскоп. Най-силно спирализираны са хромозомите през метафаза.

Морфологични особености на метафазната хромозома

Всяка метафазна хромозома се състои от две надлъжни субединици, наречени **сестрински хроматиди**. Те са напълно идентични помежду си и са резултат от удвояването на ДНК чрез процеса репликация. Всяка хроматида съдържа една отделна молекула ДНК. Мястото на свързване между двете сестрински хроматиди се нарича **центромер**. При наблюдение със светлинен микроскоп центромерът се визуализира като стеснен участък по дължината на хромозомата, известен като първично прищъпване. Всяка еукариотна хромозома притежава един центромер, чиято позиция е специфична и характерна за съответната хромозома. Той разделя хромозомата на **хромозомни рамена**, които се различават по дължина и морфологични особености. Центромерът играе важна роля за правилното разделяне на сестринските хроматиди в дъщерните клетки

през митоза и мейоза. Той има по-различна хроматинова структура и много високо ниво на компактизация в сравнение с останалите райони на хромозомата. Центромерът е мястото, където се оформят кинетохорите, които са изградени от белтъци, осигуряващи свързването на хромозомите с делителното вретено и точното им разделяне към неговите полюси. Центромерите са изградени основно от хетерохроматин, съдържащ тандемно повтарящи се сателитни ДНК последователности, чийто състав и организация варират между различните еукариотни организми. При човек основната повтаряща се единица е съставена от 171 нуклеотидни двойки, която формира обширен район от α -сателитна центромерна ДНК. Съвременните данни показват, че центромерната функция се определя не от конкретните последователности на нейната ДНК, а от специфичната хроматинова организация. Нуклеозомите на центромерите имат модифицирани H3 хистони, които играят ключова роля за привличането и събирането на кинетохорните белтъци и за прикрепването на нишките на делителното вретено към хромозомите. Освен центромер всяка еукариотна хромозома притежава в краищата си високо специализирани участъци – **теломери**, чието основно предназначение е да запазват индивидуалността и цялостта на хромозомата. Теломерът представлява комплекс от специфични ДНК последователности, асоциирани с множество белтъци, които осигуряват структурната стабилност и завършеност на еукариотната хромозома. Теломерната ДНК е съставена от къси, тандемно повторени последователности, които са консервативни в рамките на вида, но се различават между отделните видове. При човека теломерната последователност е TTAGGG, повторена от 250 до 1500 пъти. В областта на теломерите няма белтък-кодиращи гени. Двете ДНК вериги в краищата на теломерите не са подравнени, като 3' краят е по-дълъг от 5' края. Теломерът се извива назад формирайки бримка, а едноверижната „висулка“ се вмъква в двойната спирала, вдвоявайки се с комплементарен вътрешен участък. Това не представлява проблем, тъй като теломерната ДНК се състои от тандемни повторения на една и съща последователност. По този начин краят на ДНК молекулата се защитава от разграждане и нежелани химически взаимодействия. Освен това специфичен белтъчен комплекс се свързва с теломерната ДНК от бримката, образувайки „шапка“ в края на хромозомата, която предпазва теломерите от нуклеарно разграждане и пречатства слепването на хромозомните краища един с друг. Следва да се отбележи, че повторите на центромера са различни от повторите на теломерите, поради което центромерът никога не се разполага в самия край на хромозомата. Един и същ участък от ДНК не може да изпълнява едновременно функции на центромер и теломер – двете функции изискват различна първична структура. По дължината на някои хромозоми се наблюдава допълнително прищъпване, наречено **вторично прищъпване**. В този участък са локализирани гените за рибозомна РНК. Поради това вторичното прищъпване се означава като **ядърцев организатор**, тъй като именно в тези области по време на интерфазата се формират ядръцата. Вторичното прищъпване не е задължителен елемент от структурата и морфологията на всяка хромозома в хромозомния набор. В клетките на различните видове от една до няколко двойки хромозоми могат да притежават ядърцев организатор. Техния брой е специфичен за всеки вид. Например при човека има пет двойки хромозоми с вторично прищъпване тип ядърцев организатор, което означава, че максималният брой ядръца в една човешка клетка е десет. В рамките на една хромозома вторичните прищъпвания могат да бъдат повече от едно, да се различават по дължина и да имат различна локализация – по-близо до центромера или до теломера. Не всички вторични прищъпвания обаче представляват ядърцеви организатори. Когато вторичното прищъпване е разположено близо до теломера, то формира тясна зона в края на хромозомното рамо, като крайната част изглежда прикрепена към основната част на хромозомата под формата на „сателит“. Такива хромозоми се наричат сателитни, сателитоносители или SAT-хромозоми. Центромерът разделя напречно всяка хромозома (съответно всяка хроматида) на две части, наречени рамена. По-късото рамо се означава с буквите *s* или *p*, а по-дългото с *l* или *q*. Размерът на рамената, броят и местоположението на вторичните прищъпвания, както и формата и големината на сателита представляват специфични морфологични характеристики на всяка хромозома. На Фигура 1 са илюстрирани основните елементи от морфологията на метафазната хромозома.



Фигура 1. Морфологични елементи на метафазната хромозома
(адаптирано изображение от: <https://invitrobg.com/sindrom-na-chuplivata-h-hromozoma/>)

За изучаване на хромозомите се използват различни количествени параметри. Основните морфометрични показатели, прилагани за определянето на хромозомната морфология, са абсолютната (L_a) и относителната (L_r) дължина на хромозомата, раменната разлика (d), раменното отношение (r) и центромерният индекс (i). Абсолютната дължина на хромозомата (L_a) представлява сумата от дължините на двете ѝ рамена ($l+s$), изразена в микрометри (μm). Раменната разлика, раменното отношение и центромерният индекс се изчисляват по следните формули:

- $d = l - s$ – раменна разлика
- $r = l / s$ – раменно отношение
- $i = \frac{s}{(l + s)} * 100\%$ – центромерен индекс, където:
 l – дължина на дългото хромозомно рамо,
 s – дължина на късото хромозомно рамо.

Относителната дължина на хромозомата (L_r) се изчислява по формулата:

$$L_r = \frac{(l + s) \cdot 1000}{\text{дължина на хаплоидния хромозомен набор} + X \text{ хромозомата}} \text{ в промили}$$

Всяка хромозома от хаплоидния набор на даден вид притежава ясно изразена индивидуалност, определена от нейния размер и морфологични особености. Хромозомната морфология зависи основно от характеристиките на центромера и неговата позиция спрямо теломерите, както и от наличието или отсъствието на вторично прищъпване.

В зависимост от броя на центромерите хромозомите се класифицират като:

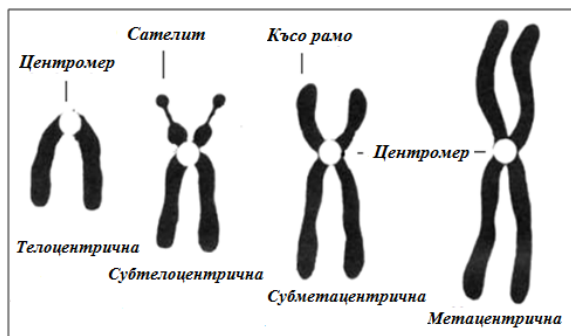
- моноцентрични – с един центромер;
- дицентрични – с два центромера;
- полицентрични – с повече от два центромера.

Според особеностите на центромера хромозомите могат да бъдат:

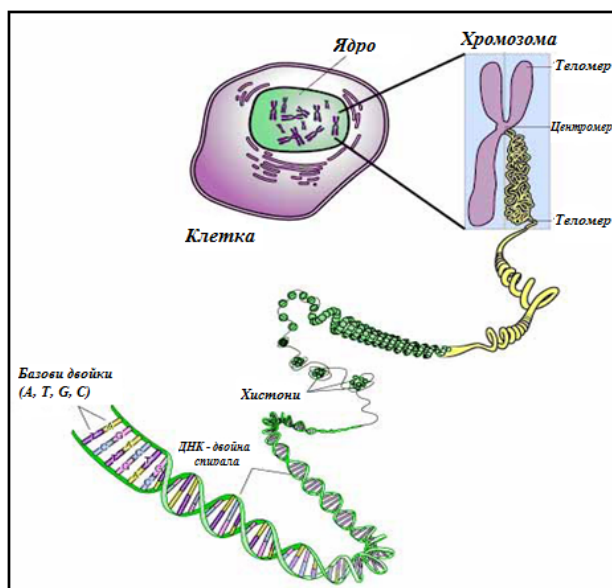
- с локализиран центромер;
- с дифузно разположен центромер (холоцентрични или холокинетични);
- с центромер с променлива позиция (неоцентрични).

В зависимост от позицията на центромера спрямо теломерите се разграничават четири основни морфологични типа хромозоми (Фиг. 2):

- метацентрични – равнораменни (m);
- субметацентрични – разнораменни (sm);
- субтелоцентрични – силно разнораменни (st);
- телоцентрични – еднораменни (t).



Фигура 2. Типове хромозоми според центромерната позиция (адаптирано от Bhattacharjee, 2023).



Фигура 3. Молекулна структура на хромозома (адаптирано от *Biology Exams 4 U*, 2013).

Молекулен строеж и организация на еукариотната хромозома

Еукариотната хромозома представлява сложна нуклеопротеинова структура, в която генетичният материал е организиран по начин, съчетаващ висока степен на компактизация с прецизна регулация на генната активност. Основните ѝ компоненти са линейна двуверижна ДНК и белтъци – хистонов и нехистонов, които заедно формират хроматина – структурната и функционална основа на хромозомата.

ДНК – молекулна основа. ДНК е двуверижна полинуклеотидна макромолекула, носеща генетична информация, кодирана в последователността на нуклеотидите. Двете вериги са свързани помежду си чрез водородни връзки между комплементарни азотни бази, а вътреверижната стабилност се осигурява от 3',5'- фосфодиестерни връзки. Дължината на ДНК в една хромозома може да достигне няколко сантиметра, което налага нейното ефективно опаковане в ограниченото пространство на клетъчното ядро.

Нуклеозома – базово ниво на организация. Първото и фундаментално ниво на организация на хроматина е нуклеозомата. ДНК се навива около хистонен октамер, съставен от по две молекули на хистоните H2A, H2B, H3 и H4, като образува структура, включваща приблизително 146 базови двойки ДНК. Отделните нуклеозоми са свързани чрез линкерна ДНК, с която асоциира хистонът H1, стабилизиращ по-високите нива на компактизация. Нуклеозомите формират 10 nm фибрила, известна като структура тип „мъниста на конец“, която представлява динамична платформа за взаимодействие с регулаторни белтъци.

Хроматинова фибрила и висши нива на компактизация. 10 nm фибрилата се подлага на допълнителна компактизация, формирайки 30 nm хроматинова фибрила, стабилизирана чрез електростатични взаимодействия между хистоните и участието на хистон H1. На следващо ниво хроматинът се организира в бримкови домени с диаметър около 300 nm, които са прикрепени към ядрения матрикс. Последващото нагъване и кондензация водят до образуване на метафазна хромозома с диаметър между 700 nm и 1.4 μ m, осигуряваща правилната сегрегация на сестринските хроматиди по време на клетъчното делене (Фиг. 3).

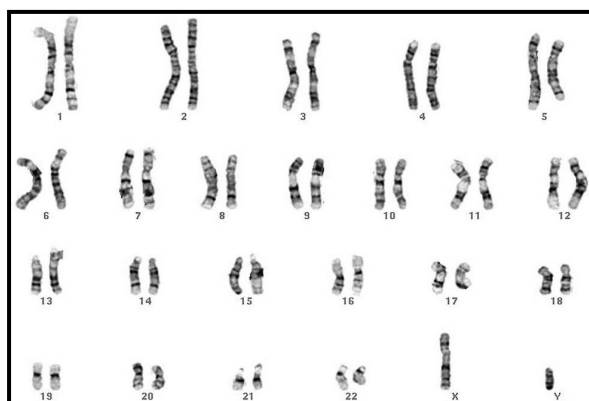
Белтъчни компоненти на хромозомата. Белтъчният състав на хромозомата включва няколко основни функционални групи. Първата група са **хистоните**, които осигуряват структурно опаковане и компактиране на ДНК. Втората група обхваща **нехистоновите структурни и регулаторни белтъци**, изпълняващи разнообразни и ключови функции в организацията и динамиката на хромозомите. Кохезините поддържат кохезията между сестринските хроматиди до момента на тяхното разделяне; кондезините участват в митотичното компактиране и оформянето на хромозомната архитектура; топоизомеразата II контролира топологичното състояние на ДНК, предотвратява прекомерното усукване и подпомага разделянето на хроматидите; АТФ-зависи-

мите хроматин-ремоделиращи комплекси регулират достъпа до ДНК и осигуряват динамичните структурни промени в хроматина.

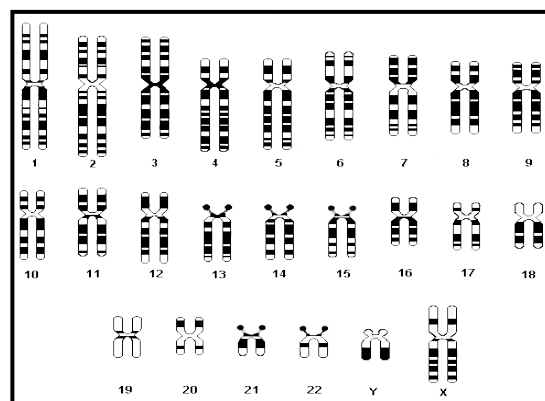
При цитогенетичните изследвания на хромозомите се наблюдават ясно диференцирани участъци от два основни типа – **хетерохроматинови** и **еухроматинови**. Те се различават по интензивността на оцветяване, която отразява степента на компактизация на наследствения материал. Хетерохроматинът се подразделя на два основни типа: **конститутивен** и **факултативен**. Конститутивният хетерохроматин присъства постоянно в определени участъци по дължината на хромозомите, като прицентромерни и теломерни региони, както и в други стабилни области, и не съдържа функционално активни гени. Факултативният хетерохроматин се формира и се наблюдава само в определени етапи от жизнения цикъл на клетката или в хромозомите на специфични тъкани. Той е информативен, тъй като съдържа гени, които в хетерохроматиново състояние са транскрипционно неактивни, но могат да бъдат активирани при преминаване към еухроматиново състояние.

Кариотип

Кариотипът представлява пълния хромозомен набор на даден организъм, характеризиращ се с определен брой, размер, форма и структура на хромозомите. За неговото изучаване се използват кариограми и идиограми. **Кариограмата** е визуално подредено изображение на метафазни хромозоми, организирани в хомоложни двойки и подредени по низходящ размер. Тя се получава чрез микроскопско заснемане на хромозомите в метафаза, последвано от дигитална обработка и систематично подреждане (Фиг. 4). Кариограмата позволява откриване на числени и структурни хромозомни аномалии, включително тризомии, монозомии, делеции, дупликации, инверсии и транслокации. **Идиограмата** представлява схематичен, стандартизиран графичен модел на хромозомите в кариотипа, който отразява техните морфологични особености, включително позицията на центромера, дължината на рамената и характерния бандинг модел (Фиг. 5). Тя е идеализирано и мащабирано представяне на кариотипа, изградено въз основа на статистически усреднени измервания. Идиограмата служи като референтна карта за цитогенетичен анализ, сравнение между различни кариотипи и картографиране на генни локуси.



Фигура 4. Кариограма на човешките хромозоми (Wikipedia, n.d.)



Фигура 5. Човешка идиограма (Kassem et al., 2012)

Изменчивостта на живите организми създава огромното многообразие в природата. Причините за нея са различни. Когато се променят фенотипни белези без да е променен генотипа, тези изменения не се предават в потомството и съществуват само през живота на организма, в който са възникнали или докато са валидни условията, които са ги предизвикали (**фенотипна, модификационна изменчивост**). Когато измененията се дължат на промяна в генетичния апарат на клетката (гени, хромозоми), те се предават по наследство (**генотипна изменчивост**). Те могат да са в резултат от: независимо и случайно прекомбиниране на гени според законите на Мендел и кросинговърови рекомбинации, не се появяват нови алелни състояния на гените, а се прекомбинират съществуващите алели (**рекомбинативна изменчивост**); или поява на нови алелни състояния на даден ген или други промени в генотипа (**мутационна изменчивост**).

Терминът **мутация** е въведен през 1903 г. от Хуго де Фриз за обозначаване на скокообразно изменение на даден признак („Мутационна теория за еволюцията на организмите“). Мутациите могат да засягат наследствения материал в ядрото на клетката (**кариогенни мутации**) или в цитоплазмени органели (**плазмогенни мутации** – **пластидни** или **митохондриални**, унаследяват се по майчина линия с цитоплазмата на яйцеклетката). Според засегнатия генетичен материал мутациите биват: **генни** (промяна в химичната структура на ДНК в рамките на ген), **хромозомни** (промяна в нормалната структура или брой на хромозомите) или **геномни** (промяна в генома като цяло).

Факторите, които провокират мутационни изменения (**мутагенни фактори**), според своята природа може да бъдат **химични** (иприт, формалдехид, етилметансулфонат, нитрозамини, ароматни въглеводородни съединения, пестициди, флавоноиди, фурани и др.), **физични** (йонизираща радиация, ултравиолетови лъчи, електромагнитно поле и др.) или **биологични мутагени** (вируси, бактериални токсини, стероидни хормони, автоимунни процеси и др.).

Хаплоидният набор хромозоми се нарича **основен набор**, а съвкупността от съдържащите се в него гени се нарича **геном**. Диплоидните клетки съдържат два основни набора хромозоми (два генома), а хаплоидните клетки съдържат един основен набор хромозоми (един геном).

Геномните мутации са промени в броя на хромозомите в генома или промени в броя на геномите в ядрото на клетката. При увеличаване на броя на геномите мутацията се нарича **полиплоидия (еуплоидия)**, при намаляване на броя на геномите на диплоидни организми наполовина – **хаплоидия**, а при промяна в броя на хромозомите с една или няколко хромозоми – **анеуплоидия (хетероплоидия)**.

Анеуплоидия (хетероплоидия) е геномна мутация, при която нормалният хромозомен набор ($2n$) се променя с отделни хромозоми. Измененията се състоят в добавка или в отпадане на една или няколко хромозоми. Причини за анеуплоидия:

- 1) В резултат от грешки в репликацията на ДНК една и съща хромозома може да се реплицира двукратно, и тогава в ядрото освен нормалния брой хромозоми ще има една допълнителна хромозома;
- 2) През анафаза на митоза или на мейоза отделни хромозоми може да се загубят. Например поради нарушения в структурата или функцията на кинетохора дадена хромозома не се свързва за нишки на делителното вретено и през анафаза изостава в екваториалната област на делящата се клетка. В резултат от това в едно от дъщерните ядра ще липсва една хромозома. Това може да се случи и с ацентрична хромозома, възникнала след хромозомна аберация;
- 3) Под влияние на различни фактори може да настъпят многополюсни митози, което ще доведе до неправилно разпределяне на хромозомите в дъщерните ядра и клетки. Ще се получат ядра (и респективно клетки) с липсващи хромозоми и такива с допълнителни хромозоми;
- 4) Неправилно разпределяне на хромозомите през анафаза на първо мейотично делене. Например поради непреодоляване на хиазмените връзки е възможно цял бивалент да се предвижи към единия полюс на делителното вретено. Тогава след второ мейотично делене ще се получат гамети, в които има една допълнителна хромозома ($n+1$), и гамети, в които липсва една хромозома ($n-1$). При оплождане на такива гамети в зиготата ще има различни анеуплоидни изменения (Фиг.1).

Женски гамети →	n	n+1	n-1
Мъжки гамети ↓			
n	2n нормална диплоидна зигота	2n+1 тризомия	2n-1 монозомия
n+1	2n+1 тризомия	2n+1+1 двойна тризомия 2n+2 тетразомия	2n диплоидна зигота 2n+1-1 тризомия+монозомия
n-1	2n-1 монозомия	2n диплоидна зигота 2n+1-1 тризомия+монозомия	2n-2 нулизомия 2n-1-1 двойна монозомия

Фигура 1. Анеуплоидия, в резултат от оплождане между аномални гамети (n-1), (n+1) и хаплоидни гамети (n).

При оплождане между (n+1) гамета и нормална (n) гамета, в зиготата има (2n+1) хромозоми, т.е. в една от хомоложните двойки са 3 хромозоми (хомоложна хромозомна тройка). Този тип анеуплоидия се нарича **тризомия**, а носещите го индивиди – тризомици.

При оплождане между гамети от типа (n+1), ако допълнителните хромозоми са от една и съща хомоложна двойка, в зиготата има (2n+2) хромозоми и съответно една хомоложна хромозомна четворка. Този тип анеуплоидия се нарича **тетразомия**, а индивида – тетразомик. Ако обаче допълнителните хромозоми са от различни хомоложни двойки, в зиготата има множествен тип анеуплоидия – тризомия по две различни хромозомни двойки (2n+1+1) (**двойна тризомия**).

При оплождане между (n-1) гамета и (n) гамета, в зиготата има (2n-1) хромозоми, т.е. една от хомоложните двойки е представена само от една хромозома. Този тип анеуплоидия се нарича **монозомия**, а индивида – монозомик.

При оплождане между гамети от типа (n-1), ако липсващите хромозоми са от една и съща хомоложна двойка, в зиготата има (2n-2) хромозоми и съответно една цяла хомоложна хромозомна двойка липсва. Този тип анеуплоидия се нарича **нулизомия**, а индивида – нулизомик. Ако липсващите хромозоми са от различни хомоложни двойки, в зиготата има множествен тип анеуплоидия – монозомия по две различни хромозомни двойки (2n-1-1) (**двойна монозомия**).

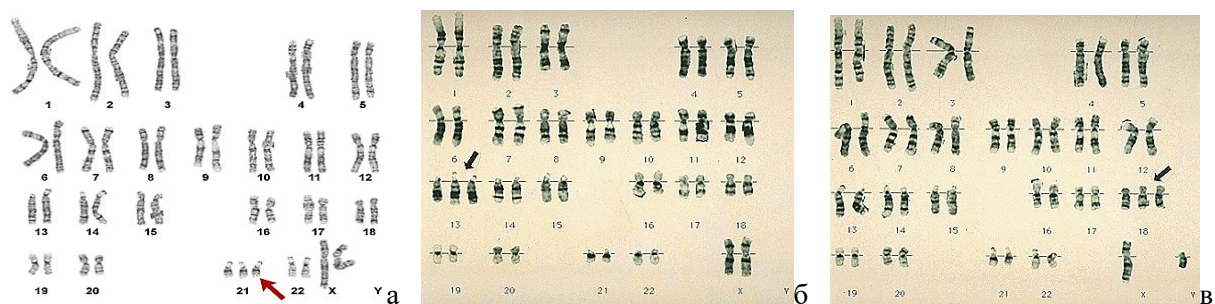
При оплождане между гамети от типа (n+1) и (n-1), ако допълнителната и липсващата хромозоми са от една и съща хомоложна двойка, дефектите на гаметите взаимно се компенсират и се получава нормална диплоидна зигота. Ако обаче тези хромозоми са от различни хомоложни двойки, в зиготата има множествен тип анеуплоидия – комбинация от тризомия по една хромозомна двойка и монозомия по друга хромозомна двойка (2n+1-1).

Множествените типове анеуплоидия са особено тежки нарушения в кариотипа. Значително намаляване на броя на хромозомите под диплоидния набор (**хиподиплоидия**), както и значително увеличаване на броя на хромозомите над диплоидния набор (**хипердиплоидия**) се констатира при злокачествено изродени тъкани. Множествените анеуплоидии в зиготата и плода имат летален ефект. При всички организми с анеуплоидия, които доживяват до полова зрялост, по време на мейоза се наблюдава неправилна конюгация на променените по брой хромозоми. В резултат от това хромозомите не се разпределят правилно и се формират гамети, които са стерилни или дават началото на нежизнеспособни индивиди.

При човека анеуплоидия може да засегне както половите хромозоми (гонозоми), така и автозомите. Описани са много наследствени хромозомни болести, наречени синдроми. При анеуплоидия на гонозомите може да възникнат синдром на Шерешевски-Търнър (монозомия по X-хромозомата; XO), синдром „свърхжена“ (тризомия по X-хромозомата; XXX), синдром на Клайн-фелтър (XXY) и др. По правило монозомиите протичат по-тежко от тризомиите, но последиците винаги са тежки нарушения на генния баланс. Особено тежко протичат промените в броя на автозомите и най-често имат летален изход.

Синдромът на Даун (тризомия по 21 хромозома, Фиг. 2а) се среща по-често с увеличаване възрастта на майката. Всички засегнати имат специфични черти на лицето – широко плоско лице,

малък нос, тесни очни цепки (монголоидни очи). Коефициентът на интелигентност варира от 20 до 85 (т.е. от сериозни умствени увреждания до долната граница на нормалното). Особено податливи са към сърдечни болести, стомашно-чревни аномалии, левкемия, катаракти, Алцхаймер и др. Днес 50% от хората със синдром на Даун навършват 50 г.



Фигура 2. Кариотип на: Синдром на Даун (а), Синдром на Патау (б) и Синдром на Едварс (в).

Тризомия при други хромозоми води до много тежки аномалиите и често до спонтанно абортване на плода. Бебета с тризомия по 13 хромозома (синдром на Патау, Фиг.2б) рядко живеят повече от няколко седмици след раждането, а деца с тризомия по 18 хромозома (синдром на Едварс (Фиг. 2в) обикновено умират преди да навършат 1 годинка.

Полипloidия (Еупloidия) е геномна мутация, при която количеството основни хромозомни набори (и респективно на геномите) в ядрото на клетката е увеличено. В зависимост от това колко основни набора хромозоми има в телесните клетки на полиплоида, той се нарича **триплоид** (три основни набора, $3n$), **тетраплоид** (4 основни набора, $4n$), **пентаплоид** (5 основни набора, $5n$), **хексаплоид** (6 основни набора, $6n$) и т.н.

Полипloidията е открита през 1916 г. от Винклер. Тя е широко разпространена след растенията, но при животните и човека е рядко явление. При човека нормално се срещат полиплоидни клетки в някои високо диференцирани тъкани – черен дроб, костен мозък и др. Развитието на полиплоидия в зиготата при човека води до смърт на плода през първите месеци на бременността. По правило геномните мутации при човека причиняват развитие на тежка хромозомна патология, спонтанни аборти, раждане на мъртъв плод и др.

Полипloidията може да бъде в резултат от повтаряне на един и същи геном (нарича се **автополиплоидия**, а индивидите – **автополиплоиди**) или от обединяване на различни геноми в ядрото, например в следствие от близкородствена или далечна хибридизация (нарича се **алоплоидия**, а индивидите – **алоплоиди**).

По време на гаметогенезата в резултат от нарушения в мейозата е възможно да не се редуцира броя на хромозомите и да се получат $2n$ -гамети (диплоидни, нередуцирани гамети). При оплождане на такава гамета с нормална хаплоидна гамета, в зиготата ще има 3 основни числа хромозоми и тя ще бъде триплоидна, респективно организъмът, който ще се развие от тази зигота ще бъде триплоид. Ако стане оплождане между две нередуцирани гамети, ще се получи тетраплоидна зигота и съответно тетраплоид, в чиито клетки ще има 4 основни набора хромозоми.

При **автополиплоидията** основният хромозомен набор може да е повторен четен брой пъти ($4n$, $6n$, $8n$ и т.н.) (**балансирана автополиплоидия**) или нечетен брой пъти ($3n$, $5n$, $7n$ и т.н.) (**небалансирана автополиплоидия**). Автополиплоидите се обозначават със символ за доминантен алел, повторен толкова пъти, колкото е степента на пloidност, например XX (диплоид), XXX (триплоид), XXXX (тетраплоид) и т.н.

При гаметогенезата на балансираните автополиплоиди (например $4n$), по време на редукционното делене хомоложните хромозоми конюгират. Те образуват хомоложна хромозомна четворка – тетравалент, за всяка от хомоложните хромозомни двойки, или по два идентични бивалента. И в двата случая през анафазата в срещуположните полюси на делителното вретено ще попадат по две хромозоми от всяка хомоложна четворка. В последствие се образуват диплоидни зрели гамети. Макар че в тях гените са в двойна доза, тези гамети са с балансиран генен състав и са фертилни.

При небалансираните автополиплоиди (например $3n$) по време на конюгацията на хомоложните хромозоми се образуват триваленти и през анафазата става неправилно разпределяне на хомоложните хромозоми към полюсите на делителното вретено. В резултат се образуват гамети с различен брой хромозоми и небалансиран генен състав. Тези гамети са стерилни.

Броят на хромозомите при някои видове пшеница може да се посочи като пример за балансиран автополиплоиди. При *Triticum monococcum* в соматичните клетки има 14 хромозоми, а в зрелите полови клетки 7 хромозоми, *Triticum durum* има 28 хромозоми в телесните си клетки, а в гаметите 14 хромозоми, *Triticum vulgare* има 42 хромозоми в телесните си клетки и 21 хромозоми в гаметите. И при трите вида пшеница броят на хромозомите е кратен на 7, т.е. основният набор хромозоми при пшеницата е 7.

Групи от родствени индивиди, в чиито клетки броят на хромозомите нараства с число, кратно на основното число хромозоми, се обединяват в **полиплоиден ред**. *Triticum monococcum* е диплоид ($2n = 14$, $n = 7$), *Tr. durum* е тетраплоид ($4n = 28$, $2n = 14$, $n = 7$), а *Tr. vulgare* е хексаплоид ($6n = 42$, $4n = 28$, $2n = 14$, $n = 7$). Те образуват полиплоиден ред. Полиплоидният ред може да бъде двучленен (изходен и производен вид) или многочленен, къс или дълъг, прекъснат или непрекъснат.

Автополиплоидите са интересни в генетично отношение, понеже характерът на взаимодействие между доминантните и рецесивните алели на гените се запазва, но се променят самите белези.

Клетките на автополиплоидите са с увеличен размер и променени биохимични и физиологични особености (увеличено водно съдържание, намалено осмотично налягане, променено съдържание на белтъци, хлорофил, целулоза, ауксини, витамини и др.). Такива организми имат висока адаптивност и са устойчиви на неблагоприятни условия. Понякога автополиплоидите имат понижена плодовитост и жизненост. Плодовитостта им е снижена поради смущения в поведението на хромозомите при мейоза, силно изразено при небалансираните полиплоиди. При тях по време на профаза I, когато хомоложните хромозоми конюгират, освен биваленти се формират и униваленти от единични хромозоми. През анафаза хромозомите не се разпределят правилно към полюсите на делителното вретено и гаметите варират по броя на хромозомите. При балансираните автополиплоиди има възможност за правилно разпределяне на хомоложните хромозоми, но и при тях често настъпват нарушения в мейоза, водещи до небалансирани гамети.

Автополиплоидите не винаги могат да се кръстосват с изходната диплоидна форма. Затова при някои организми (предимно растения) автополиплоидията е изиграла роля в процесите на видообразуването. Например обикновеният ечемик и полученият от него автополиплоид не се кръстосват помежду си.

При **алополиплоидията (амфидиплоидия)** промяната в броя на хромозомите е за сметка на различни основни числа хромозоми (различни геноми). Това обикновено става при близкородствена или далечнородствена междувидова хибридизация, когато при кръстосването два различни генома се съберат в една зигота. В получените хибриди по време на зрееенето на половите продукти се наблюдават редица аномалии. Понеже в зиготата се събират два хаплоидни набора от два различни вида, между хромозомите липсва хомоложност и не се формират хомоложни хромозомни двойки. По време на профазата на редукционното делене на мейоза хромозомите не конюгират и не образуват биваленти. В резултат става неправилно разпределяне на хромозомите през първата анафаза към полюсите на делителното вретено и гаметите, които се формират са с небалансиран брой хромозоми и генен състав. Те са стерилни или нежизнеспособни и полученият междувидов хибрид е стерил.

В много редки случаи всички хромозоми се придвижват към единия полюс на делителното вретено и попадат в една гамета. Такива гамети са фертилни и при оплождане между тях ще се образува зигота, в която има два пълни нередуцирани хромозомни набора на алополиплоида. В телесните клетки на индивида, който ще се развие от такава зигота, всяка хромозома има свой хомолог, с който образува хомоложна хромозомна двойка и конюгира по време на мейоза. Такива алополиплоиди се наричат **амфидиплоиди**. Те са фертилни, защото по време на мейоза хромозомите образуват биваленти и правилно се разпределят в дъщерните ядра, при което се получават жизнеспособни фертилни гамети. Плодовитостта при тях е много по-висока в сравнение с другите алополиплоиди, но не достига до нормалната плодовитост на изходните видове. Амфидиплоидите съчетават белезите на родителските индивиди и в поколенията тези белези не се разпадат (за разлика от хибридите). Амфидиплоидите не могат да се кръстосват с изходните родителски видове и в генетично отношение са добре обособени нови видове.

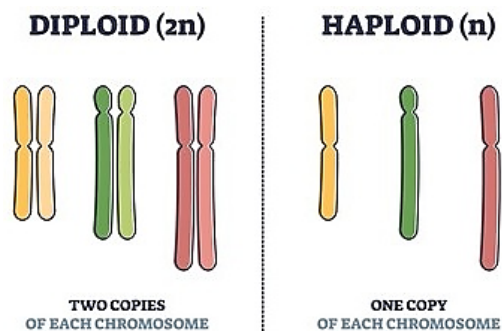
Амфидиплоиди са получени и по експериментален път, като след далечно родствено кръстосване с помощта на някои химични агенти (например колхицин) се блокира цитокинезата, без това да засяга удвояването на хромозомите и отделянето на сестринските хроматиди. По такъв начин са получени някои ръжено-пшенични амфидиплоиди.

Сред растенията може да се посочат редица примери за амфидиплоиди, например сливата е амфидиплоид от трънка и джанка, тютюнът *Nicotiana tabacum* е амфидиплоид от *Nicotiana silvestris* и *Nicotiana tomentosiformes*, и др..

Хаплоидия е геномна мутация, при която броят на геномите в телесните клетки на диплоидни организми намалява наполовина и в ядрата на клетките има само един основен набор хромозоми (n) (Фиг. 3). При такива организми целият геном се проявява фенотипно, няма скрити поради хетерозиготност рецесивни алели (и не проявени във фенотипа признаци), всяка нововъзникнала мутация може да се отчете директно по промяна във фенотипа. В сравнение с диплоидните форми хаплоидите се отличават с намален размер на клетките и органите.

Хаплоидия се наблюдава в жизнения цикъл на спорообразуващите низши и висши гъби, някои едноклетъчни водорасли, при много растения, някои ципокрили (мъжките индивиди при пчели, термити, оси и др.). При човека и многоклетъчните животни хаплоидни са само зрелите полови клетки.

Хаплоидия може да се предизвика чрез различни въздействия (индуцирана хаплоидия). Например хаплоиден организъм може да се развие от неоплодена полова клетка (хаплоидна), която се стимулира към развитие без оплождане (**партеногенетично развитие**). Към партеногенетично развитие може да се стимулира ядрото на женската полова клетка (явлението се нарича **гиногенеза**, хаплоидният индивид е с признаците на майчиния организъм) или на мъжката полова клетка след дегенериране на майчиното ядро (**андрогенеза**, хаплоидът е с признаците на бащиния индивид). Партеногенеза може да се индуцира при отдалечена хибридизация, опрашване с облъчен прашец, третиране на половите клетки с критично високи или критично ниски температури и др.



Фигура 3. Хаплоидия

При животните образуването на половите клетки започва в ранните етапи на зародишното им развитие като претърпяват последователни промени на диференциране и специализация. Процесът на образуване на женските и мъжки полови клетки се означава като *гаметогенеза*. В развитието и образуването им има сходства, но и характерни и специфични особености. Затова процесът на образуването на мъжките полови клетки (сперматозоиди) се означава като сперматогенеза (spermatogenesis), а на женските полови клетки (яйцеклетки) – овогенеза (oogenesis). При животните, с малки изключения, развитието на сперматозоидите се извършва в мъжките полови жлези – семенници (тестиси), а на яйцеклетките, в женските полови жлези – яйчници.

Етапите на *сперматогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза); зреене (мейоза); окончателно оформяне. Етапите на *овогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза) и зреене (мейоза).

Етап на размножаване. Сперматогенезата и овогенезата започват през ембриогенезата, след детерминиране на пола на първичните полови клетки (гоноцити). В резултат на това те се превръщат в първични мъжки полови клетки – сперматогонии ($2n$, $2c$) или първични женски полови клетки – овогонии ($2n$, $2c$). В половите жлези, и при двата процеса, започват активни митотични деления, които продължават и в след ембрионалния период. Броят на сперматогониите и овогонии се увеличава многократно. Само при висшите гръбначни животни вкл. и човека, размножаването на овогонии се спира през определен етап от зародишното им развитие.

Етап на растеж и зреене. Започва процесът мейоза, който включва две последователни деления. Първото мейотично деление е редукционно, броят на хромозомите от диплоиден ($2n$) намалява на половина – хаплоиден (n). Временно количеството на молекулите ДНК в ядрото на клетките остава диплоидно ($2c$). През второто мейотично деление двете молекули ДНК, във всяка хромозома, се редуцират до хаплоидно количество (c). Двете мейотични деления преминават в следните последователни етапи – профаза, метафаза, анафаза и телофаза. В края на мейозата се получават хаплоидни дъщерни клетки (n , c).

Преди да встъпят в мейоза някои от сперматогониите или овогонии претърпяват процес на подготовка с генетични процеси в ядрото – удвояване броя на молекулите ДНК, синтез на различни видове РНК и в цитоплазмата – синтез на някои структурни белтъци. Сперматогониите се превръщат в сперматоцити от I ред ($2n$, $4c$), а овогонии – в овоцити от I ред ($2n$, $4c$). *Започва етап на растеж*, който включва дългата и сложна профаза на мейоза I, която е сходна и при двата процеса. Хроматиновият материал в ядрото се спирализира и дехидратира. Промени са разделени на пет последователни фази: лептотен I, зиготен I, пахитен I, диплотен I и диакenez I. С напредване на процеса се оформят хромозомните двойки – биваленти (хомологните хромозоми в бивалента са от бащина и майчина линия). Извършва се конюгация. Изгражда се синаптонемален комплекс от биомембрани. През пахитен I всеки бивалент (хромозомна двойка) е представен от две хромозоми ($2n$), всяка с по две сестрински хроматиди (две мол. ДНК, $2c$). Всеки бивалент съдържа $2n$, $4c$ и се означава като „тетрада“. През пахитен I се извършва и процеса *crossing-over*. В определени участъци от хромозомите се разменя генетичен материал между несестринските хроматиди в бивалентите. Получават се нови генетични рекомбинации. До края на профаза I хромозомите са окончателно спирализирани, скъсени и морфологично оформени. Хомологните хроматиди, като „тетради“, се преместват към периферията на ядрото. Ядърцето, ядрената мембрана изчезват, изгражда се делителното вретено. Сперматоцитите от I ред нарастват 1-2 пъти спрямо размерите на сперматогониите, докато овоцитите I ред нарастват от няколко десетки до стотици пъти, спрямо размерите на овогонии. Това се дължи на формирането и натрупването на хранителни вещества (жълтък) в цитоплазмата на овоцитите от I ред, което започва в края на пахитен I и завършва до края на диплотен I. Процесът е известен като *вителогенеза*. Съставът и количеството на хранителните вещества (жълтък) варира в определени граници, характерни за вида животно. Това определя вида на яйцеклетката и особеностите на ембрионалното развитие.

Етап на зреене. Включва времето от края на диакenez I до края на второто мейотично деление. При сперматогенезата и овогенезата, процесите са много сходни. Мейоза I продължава последователно през метафаза I, анафаза I и телофаза I. Генетичния материал се разделя равномерно,

като от всяка тетрада, в дъщерните клетки, се разпределя по една от двете хромозоми, всяка представена с по две хроматиди, две молекули ДНК ($n, 2c$). В края на мейоза I от един сперматоцит от I ред се образуват два сперматоцита II ред ($n, 2c$), а от един овоцит I ред се образува една голяма клетка – овоцит II ($n, 2c$), и една малка – първо полярно телце ($n, 2c$). За разлика от генетичния материал, който се разпределя равномерно в дъщерните клетки, цитоплазмата и жълтъка в овоцитите I ред се разпределят неравномерно. Почти цялото количество на цитоплазмата и жълтъка се разпределя към овоцит II ред, а към полярното телце – много малко цитоплазма, използван за структуриране на клетката.

Етапът на зреење продължава с мейоза II, която е сходна при двата процеса, без подготовка и нови синтетични процеси. Профаза II е кратка и атипична, с дехидратиране и спирализация на генетичния материал, като преминава през, подобни на мейоза I, пет последователни фази: лептотен II, зиготен II, пахитен II, диплотен II и диакенез II. През пахитен II вместо „тетради“ се образуват „диади“ . Всяка хромозома е представена от две хроматиди ($n, 2c$). Следват метафаза II, анафаза II и телофаза II, като към двата полюса на делителното вретено се насочва всяка от двете хроматиди на хромозомите. В края на мейоза II, при сперматогенезата, от един сперматоцит II ред се образуват два равностойни хаплоидни сперматиди (n, c). В края на мейоза II, при овогенезата, от един овоцит II ред се образува една голяма клетка – яйцеклетка и една малка – второ полярно телце с равномерно разпределение на генетичния материал (n, c). Заедно с това яйцеклетката поема всичко от жълтъка и почти цялата цитоплазма, а полярното телце само малко цитоплазма. Първото полярно телце може да претърпи също мейоза II и в края от него да се образуват две хаплоидни полярни телца. Поради ограничената жизненост на яйцеклетките в яйчните овогенезата спира през различни етапи за отделните видове животни. Овогенезата завършва само след навлизането на сперматозоид в яйцеклетката при оплождането.

Обобщено, в края на мейозата, при сперматогенезата от сперматоцит от I ред се образуват четири равностойни хаплоидни сперматиди (n, c), докато при овогенезата, от един овоцит I ред се образува една голяма хаплоидна яйцеклетка (n, c) и едно (три) малки полярни телца (n, c).

Окончателно формиране. Този етап е характерен само при сперматогенезата, по време на който се структурират морфологичните части на сперматозоидите (спермиогенеза). От всеки сперматид се оформя по един сперматозоид. В сперматидите на животните се описват сходни промени, които се разделят на четири последователни фази: фаза на комплекс на Голджи; фаза на „шапчица“; фаза на акрозома (акрозомен апарат); фаза на зреење.

Видове сперматозоиди. При животните има два типа сперматозоиди: афлагелатен тип, без флагелум и флагелатен тип, с флагелум или опашка. Сперматозоидите с флагелум са по-често срещани, и се откриват у представители от Porifera до Vertebrata, включително и човека. Флагелатният тип сперматозоиди имат общ принцип на устройство – глава, шийка и опашка. Характеризират се с редица особености на ултраструктурната организация на всяка морфологична част, което определя сперматозоидите като високоспециализирани и видовоспецифични клетки.

В главата на сперматозоида се намират акрозомен апарат (акрозома) и ядро (хаплоидно, малки размери, силно обезводнено, плътно пакетирани хроматин) и малко цитоплазма. В акрозомен апарат се съдържат хидролитични ензими (при оплождане разрушават вторичните яйчни обвивки на яйцеклетките). При бозайниците основните ензими са: *хиалуронидаза* – разгражда хиалуроновата киселина, която слепва фоликулните клетки в *corona radiata*; *акрозин* – разрушава *zona pellucida* по време на оплождането.

В шийката има две центриоли – проксимална центриола (при оплождане навлиза в яйцеклетката, структурира първото делително вретено на зиготата) и дистална центриола (като базално телце участва в структурирането на аксонемата на опашката).

Опашката на сперматозоида се разделя на междинна, средна и крайна част, като по дължината и се намира осев комплекс (аксонема), който е двигателен център на опашката, митохондрии – в междинната част около аксонемата, с енергийна функция. По цялата дължина сперматозоида е покрит с малко цитоплазма и клетъчна мембрана.

Видове яйцеклетки. Разпределят се въз основа на две класификации: 1. В зависимост от количеството на жълтъка в цитоплазмата: безжълтъчни (алецитални, напр. чернодробен метил, човек); малкожълтъчни (олиголецитални, напр. мещести); умереножълтъчни (мезолецитални, напр. безопашати земноводни) и многожълтъчни (полилецитални, напр. риби, влечуги, птици, насекоми). 2. В зависимост от количеството и разпределението на жълтъка в обема на яйцеклетката: хомолецитални – с малко жълтък, равномерно разпределен (напр. мещести); хетероле-

цитални – мезолецитални, неравномерно разпределен жълтък, анимален полюс без жълтък и вегитативен полюс с жълтък (напр. жаби); телолецитални – полилецитални, жълтък изпълващ цялата клетка, ядрото се намира на самия анимален полюс, под оолемата (напр. риби, влечуги, птици); центролецитални – полилецитални, жълтък в центъра на клетката, който прекъсва от цитоплазма без жълтък, т. нар. цитоплазмени мостчета (напр. насекоми). По правило ядрото в яйцеклетките се намира в място, където жълтък липсва или е в малко количество.

Оплождане. Процесът на сливане на хаплоидните сперматозоид и яйцеклетка, при което се получава диплоидна зигота, с обогатен генетичен материал се нарича оплождане. Осемняването е процес на изхвърляне, придвижване и депониране на сперматозоидите в женския копулативен орган или разположението им в непосредствена близост до яйцеклетката, извън женските полови пътища, във външна, водна среда. Осемняването бива два вида: *моноспермия* – допуска се един сперматозоид, който извършва оплождането; *полиспермия* – допускат се повече сперматозоиди, но само първия извършва оплождане, като внася хаплоидния си набор хромозоми. Другите сперматозоиди се разрушават и материалите им се използват през ембрионалното развитие. Условията за оплождане се определят от начина на осемняване. При външно оплождане, във външна водна среда, е необходимо да има: подходящи условия на средата; синхрон в поведението на индивидите от двата пола на един вид; половите клетки да се изхвърлят по едно и също време и в близост. При вътрешно оплождане е необходимо да има: синхрон в поведението на индивидите от двата пола на един и същи вид; специални механизми за внасяне на сперматозоидите в женските полови пътища. Към условията за оплождане се включват и действието на специални високо специфични химични вещества (гамони), отделяни от половите клетки, както и спермална течност с определен състав и качество, характерни за вида животно.

Най-общо механизма на оплождането се разделя на три последователни етапа: 1. *Акрозомна реакция* – сперматозоида преодолява яйчните обвивки, с помощта на хидролитичните ензими в акрозомата. 2. *Кортикална реакция* – образуват се допълнителни прегради над оолемата, които възпрепятстват полиспермия. В тяхното структуриране участва изнесеното, чрез екзоцитоза, съдържание на кортикалните гранули от яйцеклетката, което е провокирано от навлезлият сперматозоид. *Нуклеарна фаза* – сливането на сперматозидното ядро и ядрото на яйцеклетката. Най-често в яйцеклетката навлиза главичката на сперматозоида и проксималната центриола. Образува се мъжки пронуклеус. Яйцеклетката, активирана от навлезлия сперматозоид, бързо завършва мейозата, отделя второто полярно телце и останалия в нея хаплоиден набор се превръща в женски пронуклеус. Следва сливане на мъжкия и женски пронуклеус (майчини и бащини хромозоми) в едно общо диплоидно ядро – синкарион. Образува се диплоидна зигота.

Зародишно развитие. Етапи на зародишното развитие. Индивидуалното развитие (онтогенеза) при животните започва с активирането на яйцеклетката към развитие, чрез навлязъл сперматозоид или по друг начин (чрез партеногенеза, т. нар. „девствено“ начало). С първото делене активираната яйцеклетка започва етапът на зародишното развитие (ембриогенеза), който завършва с излюпването или раждането на новия индивид. *Най-общо ембрионалното развитие се извършва чрез следните последователни етапи: набраздяване (бластулация), гаструлация и органогенеза.*

Набраздяване (бластулация, дробене). В рамките на 9 – 10 деления, активираната към развитие яйцеклетка, извършва последователни митотични деления, през интерфазите на които няма етап на растеж. Зародишът не нараства. С всяко следващо делене клетките се увеличават по брой и намаляват по размери. Означават се като бластомери. В края на етапа, зародишът придобива специфична структура наречена бластула, в която често се отваря празнина – брastoцел, изпълнена с течност, отделена от бластомерите. Делителните плоскости от всяко следващо делене се разполагат във взаимно перпендикулярни равнини. Особеностите на набраздяването се определят от типа на яйцеклетката, както и от условията на средата, в която се развива зародиша. По правило жълтъкът забавя скоростта на делене или напълно спира деленето, в мястото, където се намира. Това се отразява върху структурата и типа на бластулата, определя особеностите на ембриогенезата. Дробене може да се извърши по *детерминативен и регулативен тип*, в зависимост от това дали бластомерите са диференцирани твърде рано за развитие на определена част от тялото на зародиша (още при 1-во, 2-ро делене) или твърде късно (след 16 клетъчен стадий), съответно. При липса на бластомер при детерминативния тип се развива дефектен зародиш, а при регулативния тип се развива нормален зародиш.

Видове набраздяване. Набраздяването се разделя на два вида: пълно (тотално, холобластично) и непълно (повърхностно, меробластично). *Пълно (тотално) набраздяване* има при алецитални, олиголецитални, хомолецитални, мезолецитални и хетеролецитални яйцеклетки. Жълтъкът при тях липсва или е в малко или умерено количество. Делителните плоскости преминават през обема на яйцеклетката, като разположението им зависи от разпределението на жълтъка в обема на яйцеклетката. Пълното дробене бива: *равномерно* (еквално) при хомолецитални яйцеклетки – бластомерите са с много сходни, еднакви размери; *неравномерно* (инеквално) при хетеролецитални яйцеклетки – бластомерите са с различни размери и биват: микромери (малки клетки, без жълтък), мезомери (средни клетки, с умерено количество жълтък) и макромери (големи, с много жълтък). Бластулите съответно са: еквална и инеквална целобластула. Пълното дробене бива още: радиално, спирално, двустранно, двусемитрично, анархистично, асинхронно. Всеки вид се характеризира с особености, в резултат на което се формират и разнообразни бластули. *Непълно (повърхностно, меробластично) набраздяване* е характерно за полилециталните яйцеклетки. Разделя се на два вида – дискоидално и повърхностно (суперфициално). *Дискоидално набраздяване* се наблюдава при телолециталните яйцеклетки (главоноги, риби, влечуги, птици и др.). Делителните плоскости преминават само в анималния полюс на яйцеклетката, където се намира ядрото. През първите четири деления се образуват *клетъчни сегменти* – без клетъчни мембрани между съседни клетки. По-късно се развиват в бластомери. Бластулата се нарича дискобластула – част от бластомерите отделят ензими за разграждане на жълтъка в усвоима форма, и се наричат вителофаги. *Повърхностно (суперфициално) набраздяване* има при центролециталните яйцеклетки на насекомите. Делителните плоскости касаят само централно разположеното ядро и цитоплазмата около него. Формира се симпластна структура – *синцитиум*. Ядрата преминават през цитоплазмените мостчета, достигат до периферията, под оолемата, делят се още няколко пъти и се превръщат се в бластомери. Формира се бластула наречена перибластула с периферна бластодерма от слоеве бластомери, жълтък в центъра, с малко останали ядра и с функция на вителофаги – разграждат жълтъка в усвоима форма за зародиша.

Гаструлация. Между деленията, през интерфазите има етап на растеж. Зародишът нараства по размери. Бластомерите увеличават масата си и вече се означават като клетки, между които настъпват качествени различия по отношение на физиологията, темпа на развитие и тяхната активност. Клетките се пренареждат и диференцират. Обособяват се зародишните листове (слоеве). Първоначално се развиват външен зародишен лист наречен *ектодерма* (ektos – външен) и вътрешен – *ентодерма* (entos – вътрешен). По-късно между тях се образува и трети зародишен лист – *мезодерма* (mesos – среден) (при трипластните животни). Структурата, която се формира се нарича гаструла, а празнината в нея – гастроцел. *Ектодермата и ендодермата*, най-общо, могат да се структурират по четири начина, чрез: *инвагинация* (потъване); *имиграция*; *епибolia* (обрастване); *деламинация* (разцепване).

Мезодермата може да се развие от клетки на: ектодермата – ектомезодерма; ендодермата – ендомезодерма; от двата слоя едновременно – ектоендомезодерма. Структурира се като *мезенхим* – амебовидни клетки с неправилна форма, разположени в голямо количество аморфно междуклетъчното вещество. В повечето случаи се образува и по-сложно устроена мезодерма – *мезотел* (послойно подреждане на клетки заграждащи празнина). Образуват се торбовидни издувания (целомни, мезодермални торбички), водещи началото си от ендодермални клетки. От тях се залагат разновидности на съединителна и мускулна тъкани. Образува се най-общо по три начина: *телобластичен*, *ентероцелен* и *солидно клетъчно обрастване* (врастване) (при Vertebrata, с залагане на мезодермални торбички, сомити, сегменти).

Органогенеза. През този етап се залагат и обособяват тъканите и органите на отделните системи при животните, които започват да функционират. Основните осевидни структури, които определят плана на развитие на тялото при гръбначните животни са: първично черво (архентерон); гръбна струна (chorda dorsalis или notochorda) и нервна тръба (tubus neuralis). *Първичното черво* се структурира най-рано от ендодермата и се разполага откъм коремната страна на зародиша. По-късно се развива в епителните структурни части на храносмилателна система и жлезите ѝ (слюнни жлези, черен дроб, панкреас) и залага зачатъци на органи от дихателната система – трахеята и белите дробове (или хрилете). *Хордата* се разполага над и по дължината на първичното черво, има енто-мезодермален произход. По-късно се заменя от костна и хрущялна тъкан, при бозайниците, остатъци от нея се запазват като nucleus pulposus (меката част на междупрешленните дискове). *Нервна тръба* се образува от ектодермата по т. нар. епителен път. Процесът на

образуване на нервната тръба се нарича *неврулация*. Последователните етапи на затварянето ѝ са: *нервна пластинка* (нервна плоча); *нервна бразда*; *нервна тръба*. От нервната тръба се образува цялата нервна система – от предната разширена част – главен мозък, а от удължената назад част – гръбначен мозък. Предния край изпреварва развитието на задния край на ембриона/плода.

Зародишни обвивки и плацентация. *Жълтъчна торбичка*. Структура през ембриогенезата, която обгръща жълтъка при риби, влечуги и птици. Това е първият хемопоестичен орган за зародиша, който с напредване на развитието губи функциите си и изчезва. При плацентни бозайници и човека е рудиментарен орган. *Зародишните обвивки при гръбначните животни са: амнион, хорион и алантоис*. Те се структурират от извънзародишни слоеве. *Амнионът* загражда амниотична празнина с течност (околоплодни води), която осигурява влажна среда за развитието, защита от механични и други вредни агенти за зародиша. Поддържа необходимата концентрация от соли, протеини (ензими, хормони и др.) въглехидрати, липиди. С началото на раждането околоплодният мехур се пука (най-често спонтанно). *Хорионът* се развива като обща обвивка на зародиша и всички извънзародишни части, със защитна и газообменна функция. При птици, ензими в клетките от външния му слой, спомагат за пренасяне на калциев карбонат от варовитата черупка на яйцето към зародиша, необходим за изграждането на скелета. *Алантоисът*, при влечуги и птици, се образува като сляпо завършващ колбасовиден израстък, който разраства и достига максимални размери по средата на ембриогенезата. Функцията е на пикочен мехур, участва и в газообмена. При плацентните бозайници – образува съдовете в пъпната връв и с това участва в обмяната на вещества между плода и плацентата. В края на ембриогенезата зародишните обвивки се разрушават и загубват функцията си.

Плацента. Временен орган през зародишното развитие на плацентни бозайници и човека, който осигурява връзката между майчиния организъм и ембриона (плода). Функциите са: газообменна, трофична (хранителна), защитна (бариерна), секреторна, хормонална (човешки хорионгонадотропен хормон, прогестерон, за поддържане на бременността). Структурира се от две части – майчина (лигавицата на матката) и детска (хорион с хориални власинки). *Видове плаценти*: 1. Според разположението на хориалните власинки по повърхността на плацентата – дифузна (по цялата повърхност, напр. свине, лама), котилидонна (в отделни места под формата на кичури, напр. крави, коне, овце и др.), поясовидна (като пояс по средата, напр. хищници), дисковидна (под формата на диск, напр. гризачи, човекоподобни маймуни, човек). 2. Според физиологичните особености и ниво на връзка между майката и плода: епителиохориална, дезмохориална, ендотелиохориална и хемохориална. Според класическата морфологична класификация се разделят на: полуплаценти (дифузна и котилидонна) и истински плаценти (поясовидна и дисковидна). При акта на раждане, съответно, няма разкъсване на кръвоносни съдове и кръвотечение или има такива процеси.

Най-често под понятието тъкан се има предвид съвкупност от клетки и междуклетъчно вещество, представляващи една филогенетично възникнала система с общ произход и посока на диференциация на клетките за усъвършенстване изпълнението на отделни основни жизнени функции. Еволюцията на тъканите се осъществява в пряка връзка с усложняване на основните функции на организмите – метаболизъм, движение, дразнимост и защита. В резултат на това се обособяват разновидности от тъкани, които се класифицират въз основа на разнообразие от критерии. Най-често използвана и до днес е морфо-функционалната класификация, според която тъканите се разделят на четири основни типа – епителна, съединителна, мускулна и нервна.

Най-общо всяка тъкан се изгражда от клетки и междуклетъчно вещество. Въпреки специфичността на своята диференциация във всяка тъкан могат да се разграничат най-общо три типа клетки: основни, преобладаващи с характерната функция за тъканта; допълнителни, специализирани клетки, със спомагателни функции; слабо диференцирани клетки със запазени способности за делене. Междуклетъчното вещество включва основно, аморфна субстанция и влакнести материали. Варира по състав и строеж, като при някои видове тъкани, до голяма степен, определя функциите и свойствата им. В хода на еволюцията при животните, в отговор на променящите се условия на средата, се развиват голям брой разновидности към основните типове тъкани. Такива са например разновидности на съединителната тъкан – кръв, рехавата съединителна тъкан, мастна съединителна тъкан, влакнеста съединителна тъкан и т. н.

Основните типове тъкани и техните разновидности имат и някои общи свойства. Това са: *регенерация (regeneration)* – свързана с възстановяване на изхабените или мъртви клетки с нови; *хиперплазия (hyperplasia, hyper – върх и plasso – образувам)* и *хипертрофия (hypertrophia, tropho – храня)* – прекомерно разрастване на тъканта; *атрофия (atrophia, a – не)* – намаляване на обема на тъканта; *метаплазия (metaplasia, meta – след)* – в границите на основен тип тъкан един подвид преминава в друг; *неоплазия (neoplasia)* – туморно израждане.

Епителна тъкан (Textus epithelialis). Филогенетично се появява и стабилизира най-рано в сравнение с другите типове тъкани. През ембрионалното развитие на животните може да се развие и от трите зародишни листа – ектодерма, ендодерма и мезодерма. Покрива отвън тялото на многоклетъчните животни като постила вътрешната повърхност на кухите и тръбестите органи (храносмилателен тракт, дихателните и пикочопроводни пътища) и на телесните кухини (коремна и гръдна); изгражда почти всички жлези, с изключение на някои отдели на жлезите с вътрешна секреция.

Основните функции на епителната тъкан са ограничителна и защитна. *Допълнителни функции са транспортна* – свързана с пренасянето на вещества с помощта на транспортни системи. *Секреторна функция*, свързана с отделянето на различни по химичен състав вещества, йони и макромолекули. Роля в *сетивни зони*, като епителните клетки подпомагат възприемането на дразнения от околната среда.

Епителната тъкан представлява единна система изградена от голям брой клетки, подредени в редове или слоеве, малко слепващо, аморфно междуклетъчно вещество (подпомагащо клетъчните комуникации) и базална мембрана (*lamina basalis*) върху, която се разполагат всички клетки при еднослойните епителии или само първият ред клетки при многослойните. Базалната мембрана има опорна и защитна функция. Изпълнява полу-пропускливи свойства, които подпомагат транспортирането на вещества, чрез дифузия, от подлежащата съединителна тъкан към епителните клетки, както и обратно. Изгражда се основно от три типа клетки: преобладаващи; специализирани (жлезисти) клетки; слабо диференцирани (стволови клетки), които се делят постоянно и са отговорни за регенеративните способности на тъканта. Чрез секретите на специализираните жлезисти клетки често на повърхността на тъканта се образуват допълнителни образувания като косми, пера, люспи, нокти, рогови образувания, кутикула и др.). Епителните клетки притежават полярност. В епителната тъкан не навлизат кръвоносни съдове, но е добре инервирана. Притежава висока способност към регенерация (физиологична – перманентна и циклична и посттравматична).

Най-често се използва морфо-функционалната класификация, според която епителната тъкан се разделя на покривен епител (*Epithelium superficiale*) и жлезист епител (*Epithelium glandulare*). *Покривният епител бива три основни вида – еднослоен, преходен и многослоен.*

Еднослойният покривен епител. Изграден е от един ред епителни клетки, като всички лежат и комуникират с подлежащата базална мембрана. Разделя се на два вида: еднореден и многореден (псевдомногослоен). При едноредния, ядрата на клетките са на една и съща височина от базалната мембрана и в зависимост от формата на клетките се разделя на плосък, кубичен и призматичен (цилиндричен). При многоредния (напр. покрива вътрешната повърхност на много въздухоносни пътища – носна кухина, трахея, бронхи) ядрата на епителните клетки се намират на различна височина от базалната мембрана.

Преходен покривен епител. Постила вътрешната повърхност на някои отделителни органи – пикочно легенче, някои пикочопроводи, пикочен мехур. Изгражда се от три клетъчни зони. Има признаци на еднослоен многореден (тънки цитоплазмени връзки, свързват клетките от горните слоеве с базалната мембрана) и многослоен епител (с перманентна физиологична регенерация).

Многослоен покривен епител. Състои от голям брой клетки подредени в редове, влизащи в състава на слоеве с характерни морфологични, функционални и метаболитни особености. Най-често се разполага на повърхности подложени на натиск, опъване и триене. Разделя се на два подвида: невроговяващ и вроговяващ. Многослойният невроговяващ покривен епител покрива повърхности граничещи с влажна среда (напр. устна кухина, хранопровод, анус, влагалище при бозайници); епидермисен (риби, ларви на земноводни и др.). Изграден е от три слоя, като в зависимост от формата на клетките от повърхностния слой се разделя на плосък, кубичен и призматичен. Многослойният вроговяващ покривен епител покрива телесни повърхности, граничещи с външна суха среда. Изгражда епидермиса на кожата при влечуги, птици и бозайници. Състои се от голям брой редове от клетки (няколко, десетки и стотици) обединени в пет слоя. Характерен е с процес на вроговяване (кератинизация), със специализация и диференциация на епителните клетки. Най-външният, повърхностен вроговен слой, се състои от приплеснати, мъртви клетки, изпълнени с белтъка кератин, като последните един два реда непрекъснато отпадът и се заместват от по-долните редове. Регенерацията е перманентна физиологична и посттравматична.

Жлезист епител. Клетките на тъканта имат способност да синтезират и отделят сложни специфични продукти наречени секрети. Разделя се на два вида – екзокринен и ендокринен. Екзокринните жлези отделят секрета си директно върху външни или вътрешни повърхности на организма, с помощта на изводни канали. Ендокринните жлези отделят секрети (инкрети, хормони) директно в телесната течност, кръвта или лимфата, без изводни канали.

Съединителна тъкан (*Textus connectivus*). Тази тъкан не контактува пряко с външна среда или вътрешни празнини. Връзката се извършва посредством епителната тъкан. През ембрионалното развитие на животните се залага от мезодермата и най-често се развива от мезенхимни клетки. *Основна функция* на съединителната тъкан е структурно-опорна като участва при изграждане и моделиране тялото на многоклетъчните животни. *Изпълнява още трофична и защитна функция, както и редица допълнителни функции.* Съединителната тъкан се изгражда от два основни компонента: клетки (*cellulae textus connective*) и междуклетъчно вещество (*substantia intercellularis*) или матрикс (т. нар. базова, аморфна субстанция). Клетките са разположени в междуклетъчното вещество по единично или на групички, като са разнообразни по функция и морфология. Не образуват редове (с малки изключения) или слоеве. Могат да бъдат фиксирани или подвижни. Междуклетъчното вещество включва съединителнотъканни извънклетъчни влакна (*fibrae textus connectivi*) (влакнести материали) и основна (базова) субстанция (*substantia fundamentalis*) известна още като аморфно вещество, както и тъканна течност. Основната субстанция на междуклетъчното вещество се изгражда от глюкозоамиоглики (мукополизахариди) и адхезивни (структурни) гликопротеини. Влакнестите материали се структурират в три вида влакна – колагенови и ретикуларни от белтъка колаген и еластинови от белтъка еластин. Материалите за междуклетъчното вещество се синтезират и отделят от основните клетки на различните разновидности на съединителната тъкан. Съединителната тъкан притежава регенеративни възможности в различни граници, в зависимост от особеностите на разновидностите ѝ.

Според хистофизиологичната класификация съединителната тъкан се разделя на три групи: с недиференцирано междуклетъчно вещество (мезенхим, слизеста, хордална, пихтиеста);

с влакнесто междуклетъчно вещество (хлабава, мастна, ретикуларна, пигментна, фиброзно-компактна и еластична, кръв); с твърдо междуклетъчно вещество (хрущялна и костна).

Кръв. Кръвта се състои от кръвни клетки (клетъчни елементи, формени елементи) и кръвна плазма. Клетъчните елементи са: червени кръвни клетки (еритроцити); бели кръвни клетки (левкоцити – гранулоцити и агранулоцити) и тромбоцити. Процесът на образуване на кръвните клетки се означава като *хемопоеза*. При възрастните се осъществява се от червения костен мозък в костния канал на дългите тръбести кости. Кръвната плазма е течна междуклетъчно вещество на тъканта със сламеножълт цвят. Представлява колоид, в който има разтворени ниско и високомолекулни съединения. Съдържа основно вода (до 90%), белтъци (7 – 8%) и около 1% неорганични соли, други органични вещества – въглехидрати и мазнини. *Кръвта изпълнява следните функции:* хранителна – доставя до клетките хранителни вещества идващи от храносмилателната система; регулативна – транспортира и разпределя вода, неорганични и органични материали; дихателна – газообмен на кислород и въглероден двуокис в организма, извършва се от еритроцитите с помощта на белтъка хемоглобин; отделителна (чрез отделителната система изнася непотребни материали от метаболизма); защитна (чрез фагоцитоза, коагулационен механизъм, изработване на антитела и бактерицидни вещества, извършва се от левкоцитите и тромбоцитите); хомеостатична – участва в регулиране постоянното рН на средата и телесната температура.

Еритроцитите са най-многобройните кръвни клетки (милиони в 1 μ l) като варират при различните видове животни. Червеният им цвят се дължи на хромобелтъка *хемоглобин* – дихателен пигмент, който се свързва лесно с кислорода и лесно го отдава на тъканите. От тях също лесно приема CO_2 . Във връзка с осигуряване на по-голяма газообменна повърхност при гръбначните животни са установени следните еволюционни промени: изменение на формата (от елипсовидна – при рибите до двойноудълбнат диск – при човека); намаляване на размера и увеличаване на броя им (от риби към земноводни, влечуги, птици и бозайници и човек); редукция на ядро и клетъчни органели при бозайници и човек. Основната функция на еритроцитите е газообменна. *Левкоцитите* са високо специализирани кълбовидни ядрени клетки, разнородни по морфология и биологична роля. Броят им в 1 μ l кръв варира, но е значително по-малък от броя на еритроцитите и тромбоцитите. Левкоцитите са два подвида: гранулоцити (зърнести левкоцити) и агранулоцити (незърнести левкоцити). В зависимост от морфофункционалните особености гранулоцитите са три вида: неутрофили, еозинофили и базофили. Агранулоцитите се разделят на две групи: моноцити и лимфоцити. Левкоцитите изпълняват *защитна функция*. По-голяма част от тях имат свойството да фагоцитират, а други да изпълняват имунозащитна функция. Всички притежават ядро, клетъчен център, митохондрии, рибозоми и богати на хидролитични ензими лизозоми, което е показател за активна обмяна на веществата. Могат да преминават през ендотелните клетки на капилярите изграждащи стената им и да се установят в околните тъкани, най-често рехави съединителна тъкан, където осъществяват своите разнообразни функции. Левкоцитите участват в клетъчния и хуморален имунен отговор на организма. *Тромбоцитите* при бозайниците и човека представляват безядрени цитоплазмени сегменти. Броят им у човека нормално е 150 – 400 000 в mm^3 и варира. Основната им функция е свързана с механизмите на кръвосъсирването. Кръвните клетки имат кратък живот и се възстановяват чрез перманентна физиологична регенерация.

Рехави (хлабава) съединителна тъкан. Това е най-широко разпространената тъкан от новидности на съединителната тъкан. Няма пряк контакт с външната среда като контактува с нея посредством епителната тъкан. Участва в изграждането на всички органи в многоклетъчните организми. Рехавата (хлабава) съединителна тъкан участва в изграждането „скелета“ на органите в организма и моделиране на тялото. Задължително придружава кръвоносните, лимфните съдове и нерви. Заедно с тях навлиза и участва в изграждането на мускулите, сухожилията, фасциите, костите и др. Осъществява връзката на кожата с подлежащите органи затова най-голямо количество рехави съединителна тъкан има в подкожието. Участва в изграждането на лигавицата от стената на кухите тръбести органи. *Основната ѝ функция е свързваща.* Участва и в защитата на организма, транспортирането на хранителни вещества (трофична функция), благодарение на разнообразния ѝ клетъчен състав. Изгражда се от два основни компонента – клетки и междуклетъчно вещество. Клетките са основни (стволови и диференцирани) и допълнителни. Основните клетки са: фибробласти и фиброцити – синтезират и отделят материали за междуклетъчното вещество; хистеокити, мастоцити и плазмоцити – изпълняват обща защитна функция, стволови клетки – отговорни за регенерация и обновяване. Допълнителни клетки са: мастни, пигментни,

някои видове левкоцити, мускулни клетки и др. Междуклетъчното вещество е в голямо количество (над 70% от теглото на тъканта) и включва аморфно, влакнесто вещество и тъканна течност. Трите вида влакна са застъпени в умерено количество, разпределени по единично в рехава мрежа, което придава общия рехав строеж на тъканта.

Хрущялна тъкан (*Textus cartilagineus*). Покрива ставните повърхности, подпомага растежа на дългите тръбести кости с оформянето на хрущялните пластинки в двата края на диафизата. Кръвоносни съдове в тъканта не навлизат. Транспортирането на необходимите вещества се извършва чрез дефузионни процеси. Изградена е от основни клетки – хондробласти (млади клетки) и хондроцити (специализирани клетки), които синтезират материали за междуклетъчното вещество. В състава ѝ влиза и голямо количество междуклетъчно вещество с аморфна и влакнеста съставка. Хондроцитите се разполагат в кухини наречени лакуни. Обикновено са по няколко в една лакуна и произлизат от митотичните деления на един изходен хондробласт. Образуван т. нар. изогенни групички. Една изогенна групичка заедно с териториалния матрикс около нея оформят основната *функционалната единица на хрущяла – хондрон*. При гръбначните животни тъканта бива: хиалинна, еластична и влакнеста. Хрущялната тъкан има слаби регенеративни способности.

Костна тъкан (*Bone tissue*). Заедно с хрущялната тъкан участва в изграждането на осевия скелет, крайниците и в моделиране формата на тялото. Участва в минералния обмен на организма. Дейността на костната тъкан е под контрола на нервната и ендокринната система. Изгражда се от основни клетки: остеобласти и остецити (синтезират материали за междуклетъчното вещество) и остеокласти (т. нар. косторазрушители), които участват в ремоделирането на костната тъкан. Междуклетъчното вещество (каменно, твърдо) се състои от аморфно вещество и влакнести материали, основно колагенови влакна, които често са слепени успоредно от белтъка осеомукоид в пластинки или ламели. Минералните соли стигат до 55% от теглото на тъканта. В костната тъкан навлизат кръвоносни съдове. При гръбначните животни има два вида: грубовлакнеста и ламеларна (пластинчеста). Последната бива гъбеста и плътна с основна структурна и функционална единица – остеон (Хаверсова система). Остеонът се състои от: 4 – 20 бр. цилиндрично вмъкнати един в друг ламели от успоредно слепени колагенни влакна чрез белтъка осеомукоид; остецити; Хаверсов канал централно затворен, в който навлизат отвън кръвоносни съдове, малко рехава съединителна тъкан и разклонение на нервни влакна. Костната тъкан има добра регенерация.

Мускулна тъкан (*Textus muscularis*). Представлява клетъчна общност от високо диференцирани и удължени мускулни клетки (миоцити) или мускулни влакна. Характеризират се със свойствата възбудимост, проводимост и съкратимост. Първите две се обуславят от свойствата на клетъчната мембрана (сарколема), а съкратимостта е пряко свързана с функционирането на специфични клетъчни органели наречени *миофибрили* и на съкратителните белтъци (филаменти) в тях – актин, миозин, тропомиозин и тропонин. През ембрионалното развитие при животните произлиза от мезодермата и се развива от мезенхимните клетки (мезенхима). Само миоепителните клетки имат ектодермлен произход. Според структурната организация на съкратителния апарат тъканта се разделя на три основни вида – гладка, набраздена (косо и напречно набраздена) и миоепителни клетки. Напречно набраздената бива скелетна и сърдечна (съкратителна, типична и импулсопроводна, нетипична). Основната структурна единица на скелетната мускулна тъкан е мускулното влакно – миофибра. На сърдечната мускулна тъкан е мускулната клетка кардиомиоцит. Запазвайки клетъчните си ограничения клетките се нареждат едно до друго и образуват мускулни влакна. Контактват помежду си чрез интеркаларни дискове. Основна структурна единица на гладката мускулна тъкан е мускулната клетка – лейомиоцит. Мускулната тъкан се характеризира с липсата на собствено междуклетъчно вещество. Тази роля се изпълнява от рехавата съединителна тъкан, която чрез тънки прослойки (малко количество) навлиза навътре в тъканта между клетките и влакната и като носи със себе си разклонения на кръвоносни съдове и нерви. Специфични клетъчни органели за набраздената мускулна тъкан са миофибрилите, които като тънки тръбички се намират по дължината на многоядрената миофибра. По дължината на всяка миофибрила се забелязват тъмни и светли зони (ивици), напречно разположени по дългата ос на влакното, където по специфичен начин са подредени молекулите на съкратителните белтъци – актин, заедно с тропомиозин и тропонин, и миозин. Пълното съвпадение на светлите и тъмни зони във всички миофибрили на една миофибра определя напречното набраздяване. При малко отклонение на това разположение се формира косо набраздяване – ивиците са наклонени. По

средата на светлите зони, напречно на дългата ос, се разполагат молекулите на белтъците дезмин и α актин. Те изграждат т. нар. Z-дискове. Разположението на молекулите на съкратителните белтъци се повтаря между два Z-диска. Разстоянието между два Z диска се нарича *саркомер*, който представлява основната функционална единица на набраздената мускулна тъкан. Скелетната мускулна тъкан се съкращава волево, под действието на централната нервна система, докато сърдечната и гладката мускулни тъкани се съкращават неволево, под действие на вегетативната нервна система. Регенерацията на тъканта е много ограничена. Възстановяването е по-скоро за сметка на рехава съединителна тъкан.

Нервна тъкан (Nervous tissue). Представлява комплекс от основни, специализирани нервни клетки наречени неврони (невроцити) и придружаващи, спомагателни глиевы клетки – невроглия. Невроните са основна структурна и функционална единица на нервната тъкан. Функцията им е да: възприемат дразненията от околната среда и различните части на тялото; анализират, интегрират, трансформират информацията и да изработват съответни нервни импулси; препращат нервните импулси в посока към други неврони или органи от организма за подходяща реакция на организма (мускули или жлези). През ембрионалното развитие при гръбначните животни се развива от ектодермата, чрез процеса невролация (затваряне на нервната тръба). Невроните са високо специализирани клетки. Изградени са от клетъчно тяло (перикарион – метаболитен център на клетката) и израстъци, които са: дендрити – къси, дървовидно разклоняващи се и един дълъг израстък – аксон. Дендритите възприемат и насочват получената информация в посока към перикариона. В аксона се генерират и провеждат нервните импулси към реагиращите клетки или други неврони. Невроните имат специфични клетъчни органели – *тигроидни тела и неврофибрили*. Тигроидните тела представляват големи комплекси от рибозоми и гранулиран ендоплазмен ретикулум, които в хистологични препарати се оцветяват базофилно, изпълват цитоплазмата, която наподобява на тигрова кожа. При по-малки размери се структурират като малки гранули – Нислови зърна/Нислови гранули. Това е показател за интензивен синтез на структурни и транспортни белтъци. Неврофибрилите са специфично структурирани и оформят цитоскелета на клетката. Разполагат се в перикариона и израстъците. Имат значение за поддържане на клетъчната форма и за транспортирането на различни субстанции и органели в израстъците. Невроглията изпълнява спомагателна функция в нервната тъкан – хранителна, секреторна, възстановителна (репаративна), опорна, защитна, регулаторна. Невроглията бива: епендимна глия (епителоподобни клетки, изграждат стената на празнини, напр. гръбначномозъчен канал); макроглия (астроцити – фиброзни, влакнести и протоплазмени и олигодендроцити); микроглия (микроглиевы клетки със защитна функция, единствени имат мезодермален произход). Астроцитите имат основно регулаторна функция Протоплазмените астроцити са с многобройни къси и дървовидно разклоняващи се израстъци, чрез които влизат в междуклетъчни комуникации. Участват в изграждането на сивото мозъчно вещество. Влакнестите астроцити са с по-малко израстъци, но по-дълги и с по-малко разклонения. Те участват в изграждането на бялото мозъчно вещество. Олигодендроцитите са с малки размери, с къси израстъци. В бялото мозъчно вещество на ЦНС участват в образуването на миелиновата обвивка на миелиновите нервни влакна.

1. Ензими – общи свойства на ензимите

Ензимите са биокатализатори, ускоряващи определени химични реакции в клетката. Ензимите са белтъци, предимно глобуларни. Малка част от ензимите са РНК молекули, наречени рибозими, които също действат като биокатализатори. За ензимите са валидни всички общи свойства на катализаторите: 1) увеличават скоростта на спонтанно протичащи реакции, без да изместват химичното равновесие; 2) променят в еднаква степен скоростта на правата и на обратната реакция до достигане на химично равновесие; 3) действат в незначителни количества; 4) понижават активиращата енергия на реакцията (**Фиг. 1**).

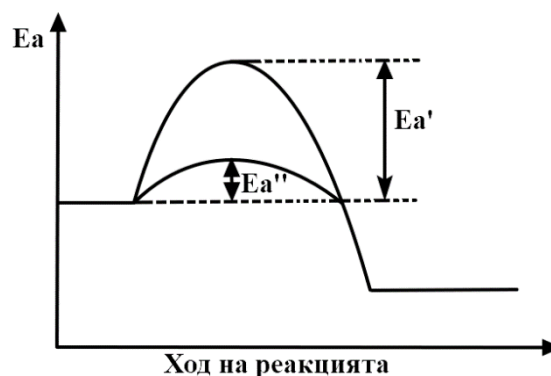
Молекулите реагират помежду си само в случаите, когато са енергетично богати и притежават енергия, по-голяма от средната кинетична енергия. Тази енергия се означава като активираща (E_a).

За ензимите са валидни всички общи свойства на катализаторите: 1) Увеличават скоростта на спонтанно протичащи реакции, без да изместват химичното равновесие. 2) Променят в еднаква степен скоростта на правата и на обратната реакция до достигане на химично равновесие. 3) Действат в незначителни количества. 4) Понижават активиращата енергия на реакцията.

Ензимите се отличават от останалите катализатори по: 1) Имат висока ефективност – ускоряват биохимичните реакции от 10^9 до 10^{12} пъти. 2) Проявяват висока специфичност по отношение природата на реакцията и структурата на субстрата. 3) Действат обикновено при помехи условия – атмосферно налягане, рН около неутралното, невисока температура. 4) Активността и синтезата на ензимите в клетките са подложени на строга регулация.

По компонентен състав, ензимите се делят на: 1) Еднокомпонентни – съставени само от 1 или повече белтъчни молекули. 2) Двуконпонентни – съдържат белтъчна съставка (апоензим) и небелтъчна съставка (кофактор). Според силата на свързване към апоензима се различават следните кофактори: а) простетична група – здраво, ковалентно свързана с апоензима, а отделянето ѝ води до разрушаване на белтъчната структура на ензима; б) коензим – слабо, нековалентно свързан с ензима, посредством водородни, йонни и хидрофобни взаимодействия, а при отделянето им, структурата на апоензима се запазва. Като коензими или простетични групи функционират витамини или техни производни (витамините се синтезират в растенията и постъпват в организма на животните и човека с храната). Пиридоксалфосфат (ПФ) – пренася аминоксигрупа. Име на съдържащия се витамин: витамин В6 (пиридоксол). Коензим на ензими трансминази. Биотин (витамин Н) – пренася карбоксилни групи. Простетична група на ензими карбоксилази. Коензими никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ) (витамин РР) пренасят водород и са окислително-редукционни системи в процесите на биологично окисление. Често окислените и редуцираните им форми функционират като преносители на редуциращи еквиваленти между различни оксидоредуктазни ензими. Флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (витамин В2, рибофлавин) са простетични групи на оксидоредуктазни ензими.

Ензимно катализираните реакции се делят в 6 групи: 1) Окислително-редукционни реакции – извършвани от ензими оксидоредуктази. Те катализират окислително-редукционни реакции. Под действие на дехидрогенази от различни субстрати се отделят водород (алкохол дехидрогеназа, лактат дехидрогеназа, сукцинат дехидрогеназа). 2) Трансферазни реакции (прехвърляне на групи) – ензими трансферази, напр. аспаратаминотрансфераза и аланинаминотранс-



Фиг. 1. Ефект на ензимите върху активиращата енергия (E_a) на биохимичните реакции. E_a' – активираща енергия на некатализираната реакция; E_a'' – активираща енергия на ензимно катализирана реакция.

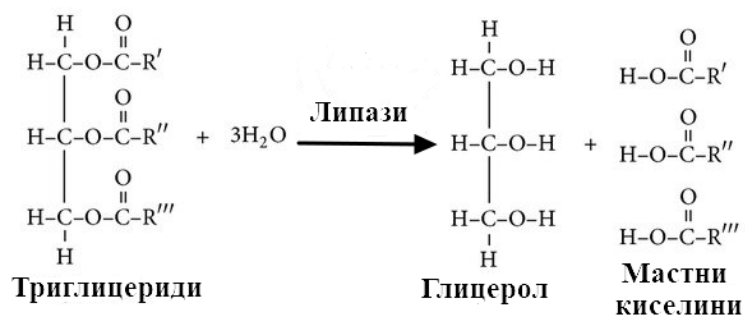
ферази, извършващи прехвърляне на amino група. 3) Реакции на хидролиза – ензими хидролази, напр. липазите хидролизират естерите връзки в липидите, гликозидхидролазите амилази, инвертаза и др. хидролизират гликозидни връзки; преазите хидролизират пептидни връзки. 4) Лиазни реакции – ензими лиази. Те катализират процеси, при които една молекула се разгражда до две молекули (например декарбоксилази – катализират отделяне на CO_2 от субстрати); пируват декарбоксилаза. 5) Изомеразни реакции – ензими изомеразы. Извършват превръщане на молекули, между нейните изомерни форми, напр., глюкозо-6-фосфат изомераса, ксилозо изомераса и др. 6) Лигазни (синтетазни реакции) – ензими лигази (синтетази). При тези реакции от две молекули се синтезира нова молекула. Всяка синтеза е ендергонична и е необходима енергия (хидролиза на АТФ). Напр. ацил-КоА синтетаза.

2. Активен център на ензимите

Активният център е неголям участък по повърхността на ензимната молекула, където субстратът се свързва и се превръща в продукт. В активния център се различават: 1) Каталитични групи – пряко ангажирани с осъществяването на каталитичния акт. Небелтъчната съставка често осигорява каталитични групи. Тяхното блокиране инактивира ензима. 2) Контактни групи – пряко ангажирани с позиционирането на субстрата и/или негова група и/или връзка спрямо каталитичните групи. 3) Помощни групи – ангажирани с нагъването на ензимната молекула в пространството така, че каталитичните и контактните групи да се позиционират спрямо субстратната молекула. 4) Несъществени групи – нямат установено отношение към по-горните три категории и често са обект на модифициране/инженериране, например при имобилизирането на ензимите в индустрията, с цел многократното им използване в непрекъснати каталитични процеси.

3. Специфичност на ензимното действие

Едно от най-характерните свойства на ензимите е тяхната висока специфичност, която позволява съгласуването провеждане на катализираните реакции в клетката, в чиито ограничени с мембрани пространства протичат едновременно и подредено хиляди биохимични превръщания. Разграничават се няколко типа ензимна специфичност: 1) Реакционна – определя се от възможностите на включените в активния център аминокиселинни остатъци да образуват или разграждат определен тип химични връзки. Напр., ензимите дезаминази на аминази на аминокиселини и декарбоксилази на аминокиселини, действат върху един и същ субстрат – L-аминокиселини, но катализираните от тях реакции водят до получаване на различни крайни продукти – α -кетокиселини и биогенни амини, съответно. 2) Субстратна специфичност – обяснява се с високите стерични изисквания на активния център спрямо субстрата. Различават се: А) строга (абсолютна) специфичност – един ензим действа върху един субстрат и не може да превръща дори и най-близкото му структурно производно. Напр., ензимът уреаза има строга специфичност спрямо субстрата си урея: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{уреаза} \Rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$. Б) Групова специфичност притежават ензими, катализиращи един и същи тип химична реакция, при която се засяга еднотипна връзка, в образуването на която участва строго определена химична структура. Напр., α -глюкозидазата хидролизира само гликозидната връзка, в която участва α -D-глюкоза (напр. в малтоза, захароза, рафиноза). Ензимът не може да хидролизира гликозидната връзка в целобиозата, в която участва β -D-глюкоза. 3) Стереохимична специфичност. Притежават я ензими, които превръщат стереоизомери. Напр., ензимът глюкозооксидаза катализира окислението на β -D-глюкоза до глюконова киселина, но не и това на α -D-глюкозата. Ензимът L-лактат дехидрогеназа катализира обратното дехидрогениране на L-млечна киселина до пиругроздена киселина, но не действа на D-млечната киселина, към която е специфична D-лактат дехидрогеназата. 4) Широка специфичност – характерна за ензими, които катализират превръщането на субстрати, в които има определени химични връзки, без да проявяват



Фиг. 2. Хидролиза на триглицериди под действие на липази.

като участва α -D-глюкоза (напр. в малтоза, захароза, рафиноза). Ензимът не може да хидролизира гликозидната връзка в целобиозата, в която участва β -D-глюкоза. 3) Стереохимична специфичност. Притежават я ензими, които превръщат стереоизомери. Напр., ензимът глюкозооксидаза катализира окислението на β -D-глюкоза до глюконова киселина, но не и това на α -D-глюкозата. Ензимът L-лактат дехидрогеназа катализира обратното дехидрогениране на L-млечна киселина до пиругроздена киселина, но не действа на D-млечната киселина, към която е специфична D-лактат дехидрогеназата. 4) Широка специфичност – характерна за ензими, които катализират превръщането на субстрати, в които има определени химични връзки, без да проявяват

изисквания към участващите в нейното формиране химични групировки. Пример за това са триацилглицерол липазите.

4. Скорост на ензимните реакции – ензимна кинетика

Скоростта на ензимната реакция (v) се измерва: чрез количеството субстрат, трансформиран за единица време ($d[S]/dt$) или чрез количеството продукт, натрупан за единица време ($d[P]/dt$). Скоростта на ензимно катализирана реакция се влияе от: концентрация на субстрата $[S]$; концентрация на ензима $[E]$; концентрация на инхибитори $[I]$; $T^{\circ}C$; pH . Скоростта на ензимната реакция намалява с времето. Причина за това е действието на различни фактори: понижаване концентрацията на субстрата с времето; инхибиране на ензима с реакционния продукт; инактивиране на ензима с напредване на реакцията. В началния период на реакцията всички тези фактори имат незначително влияние върху скоростта. Скоростта е постоянна величина – определя се началната скорост на ензимната реакция (V^0).

4.1. Стационарно и предстационарно състояние на ензимната реакция

Стационарно състояние – динамичните системи се намират в това състояние, когато важна за техните характеристики величина не се променя с времето (или скоростта на образуване на съществен за тях компонент е равна на скоростта на неговото разграждане). При смесването на E със S , ако концентрацията на субстрата е по-голяма от тази на ензима, започва формиране на ES комплекси. Концентрацията на ES достига максимална стойност, когато цялото количество ензим се свърже с S . В същото време ES се разгражда до компонентите си. Когато скоростта на образуването му се изравни със скоростта на неговото разграждане се достига до стационарно състояние т.е. концентрацията на ES не се променя с времето. Състоянието на динамичната система от началото на реакцията до достигане на стационарно състояние се означава като предстационарно – кратко време от мили до микро секунди и ензим-субстратното взаимодействие е бързо. Скоростта на образуване на продукта нараства пропорционално с повишаване концентрацията на ES (в предстационарния стадий) и става постоянна величина при достигане на стационарно състояние. Тази постоянна скорост за образуване на продукта се измерва при повечето реакции – това е началната скорост на реакцията. С напредване на времето, концентрацията на S респ. концентрацията на ES започва да се понижава и това води до понижаване на скоростта на реакцията – върху реакцията започват да оказват влияние различни фактори и изследването става нецелесъобразно (следстационарно състояние).

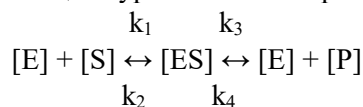
4.2. Влияние на концентрацията на субстрата върху скоростта на ензимните реакции

Молекулност на реакциите – броят молекули, които трябва да взаимодействат едновременно, за да протече реакцията.

- Едномолекулни (уномолекулни) реакции: $[A] \rightarrow [P]$; $v = d[P]/dt$; $v = -d[A]/dt$; $v = -d[A]/dt = k[A]$, където k има измерения за време – min^{-1} или s^{-1} . Това е реакция от първи порядък, в която скоростта зависи от концентрацията на $[A]$.
- Бимолекулни реакции: $[A] + [B] \rightarrow [P] + [Q]$. Скоростта може да се определи от скоростта на намаляване на $[A]$ и $[B]$ или от скоростта на нарастване на концентрациите на $[P]$ и $[Q]$. $v = k[A][B]$. Субстрати $[A]$ и $[B]$ трябва да взаимодействат помежду си, за да протече реакцията, т.е. нейната скорост е пропорционална на концентрацията на $[A]$ и $[B]$. Поради това, реакцията е от втори порядък. $2A \rightarrow P+Q$. Скоростната константа k при реакциите от втори порядък има размерност $(\text{концентрация})^{-1}(\text{време})^{-1}$, $v = k[A]^2$.

4.2.1. Кинетика на ензимни реакции с един субстрат

Общото уравнение на обратима ензимна реакция с 1 субстрат е:



$v = k_3[ES]$. Скоростта на реакцията в права посока е функция на скоростта, с която се разпада ES комплекса до E и P .

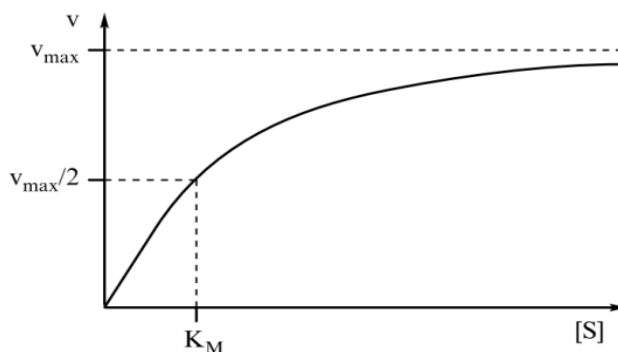
$$k_1[E].[S] = k_2[ES] + k_3[ES]; [ES].(k_2 + k_3) = k_1.[E].[S]$$

$$K_m = k_2 + k_3 / k_1$$

K_m е константата на Михаелис-Ментен, която дава информация за химичното сродство между Е и S. Колкото по-ниска е нейната стойност, толкова по-високо е сродството между Е и S.

$[ES] = [E] \cdot [S] / K_m$; E_o – общо количество ензим; $[E] = [E_o] - [ES]$; $[ES] = ([E_o] - [ES]) \cdot [S] / K_m$; $K_m \cdot [ES] = [E_o] \cdot [S] - [ES] \cdot [S]$; $K_m \cdot [ES] + [ES] \cdot [S] = [E_o] \cdot [S]$; $[ES] = [E_o] \cdot [S] / K_m + [S]$; $v = k_3[ES] \Rightarrow v = k_3[E_o] \cdot [S] / K_m + [S]$; $[E_o] = [ES] \Rightarrow V_{max} = k_3[E_o]$

$V = V_{max} \cdot [S] / K_m + [S] \Rightarrow$ Уравнение на Михаелис-Ментен. Дава възможност експериментално да се изследва зависимостта на скоростта на ензимните реакции от концентрацията на S – определя се при каква концентрация на S се достига максимална скорост на реакцията (V_{max}), както и онази концентрация на субстрата, при която се достига $V_{max}/2$, т.е. стойността на K_m . Графически, зависимостта на скоростта на ензимната реакция от субстратната концентрация се представя като хиперболична крива. Тя се построява емпирично, чрез провеждане на серия от реакции с нарастващи субстратни концентрации. K_m представлява тази субстратна концентрация, при която се достига половината от максималната скорост, V_{max} . Последната се достига при тази концентрация на S, при която всичко ензимни молекули са ангажирани в ES комплекси. В та-

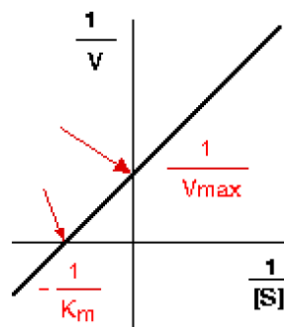


Фиг. 3. Графическо представяне на уравнението на Михаелис-Ментен за влияние на субстратната концентрация върху скоростта на ензимно катализираните реакции с 1 субстрат.

къв случай, скоростта на реакцията не нараства повече и става независима от концентрацията на S (**Фиг. 3**). V_{max} се определя от тоталното количество на ензимните молекули в системата: $V_{max} = k_{cat}[E_o]$; k_{cat} – унимолекулна константа (s^{-1} или min^{-1}) – броят молекули субстрат, превърнати от 1 молекула ензим за 1 секунда. Дава добра представа колко бързо действа ензимът.

Графически, уравнението е преизчислено по метода на двойните реципрочни величини от Лайнуевър и Бърк. В него, отрезът от ординатата дава максималната скорост на реакцията ($1/V_{max}$), а отрезът от абсцисата – стойността на K_m ($-1/K_m$). Този начин на представяне позволява определяне на посочените параметри чрез по-малко на брой експерименти, като се използва линейна зависимост **Фиг. 4**.

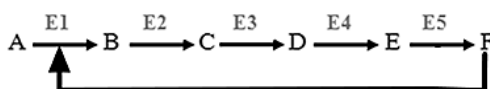
$1/v = 1/V_{max} + K_m/V_{max} \cdot 1/[S]$ – Уравнение на Лайнуевър-Бърк за зависимост на скоростта на ензимната реакция от субстратната концентрация.



Фиг.4 . Графичен израз на влиянието на субстратната концентрация върху скоростта на ензимно катализираната реакция, съгласно уравнението на Лайнуевър-Бърк.

5. Регулация на ензимната активност. Алостерична регулация

При метаболизма, съставен от взаимосвързани реакции, в които продуктът от една е субстрат във втора ензимно катализирана реакция, често срещана е регулацията по пътя на обратната връзка. При нея, продуктът на последната на реакция регулира активността на първия ензим от метаболитната верига. По този начин, се възпрепятства натрупването на междинни метаболити от пътя – наблюдава се инхибиране по пътя на обратната връзка. Когато последният продукт от метаболитната верига се изчерпи, инхибиращият ефект спира и превръщанията по биохимичния път се възобновяват (**Фиг. 5**).

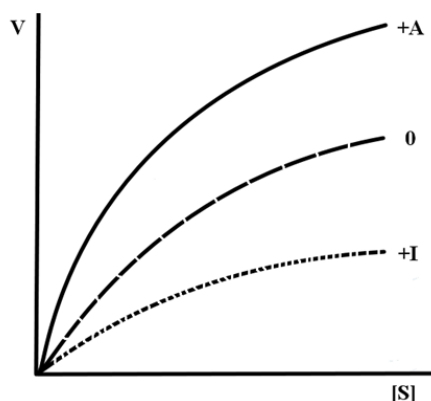


Фиг. 5. Регулация на метаболитен път чрез механизъм на обратна връзка.

Алостеричните ензими са регулаторни ензими. F действа чрез свързване към участък от ензима, различен от субстрат-свързващия участък и по този начин се инхибира E1. Регулаторните

ензими, като E1, се регулират и чрез активиране – други ефекторни молекули действат положително върху активността. Алостеричните ензими са изградени от повече от една полипептидна верига (субединица) и всяка субединица има свързващо място за субстрата, както и специално свързващо място за алостеричните ефектори. Регулаторните ефекти се постигат чрез структурни промени, възникнали в белтъка при свързване на ефекторни метаболити. Кинетиката им не следва класическото уравнение на Михаелис-Ментен. Графичната зависимост на скоростта (V) спрямо $[S]$ представлява сигмоидална или S-образна крива, вместо правоъгълна хипербола (Фиг. 6). Според модела на Моно, Уаймън и Шанжьо, алостеричните белтъци са олигомери. Могат да съществуват в поне две конформационни състояния – R (relaxed – разхлабено) ненапрегнато състояние и T (tense – напрегнато) състояние. Във всяка белтъчна молекула, всички субединици имат същата конформация (R или T). Белтъчните молекули в R и T състояние са в равновесие, като T конформацията е предпочитана пред R при условия, в които липсват лиганди ($[T] \gg [R]$). Субстратът и алостеричните активатори (положителни ефектори) се свързват само към състояние R, а алостеричните инхибитори (отрицателни ефектори) се свързват само към състояние T.

Лиганди, като субстрата, които се свързват по кооперативен начин, така че свързването на един еквивалент подобрява свързването на допълнителни еквиваленти от субстрата към една и съща белтъчна молекула, се наричат положителни хомотропни ефектори. Ефектори, които влияят върху свързването на различни от самите тях молекули, се наричат хетеротропни ефектори.



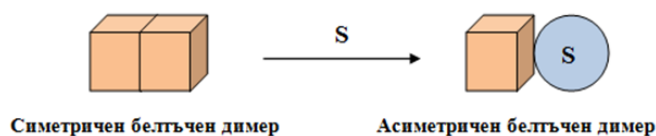
Фиг. 7. Зависимост на скоростта от концентрацията на субстрата при алостеричните регулаторни системи.

Представените промени, в отговор на ефектори, в този модел се наричат K системи, тъй като концентрацията на субстрата дава половината от максималната скорост, определена като $K_{0,5}$. В тези системи V_{max} е постоянна. Система, в която $K_{0,5}$ е константа, а V_{max} се променя в отговор на ефектори, се нарича V система. Всички графични зависимости на скоростта спрямо субстратната концентрация са хиперболични вместо сигмоидални. Положителният хетеротропен ефектор A активира чрез повишаване на V_{max} , докато отрицателният хетеротропен ефектор I води до нейното намаляване. Хетеротропният ефектор не засяга $K_{0,5}$.

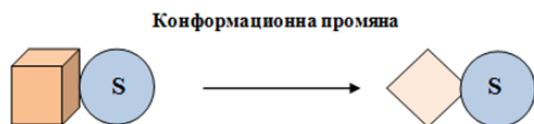
Според алостеричния модел на Кошланд, Немети и Филмер (модел на последователните конформационни изменения, Фиг. 8), свързването на лигандата води до промяна в конформацията на белтъка. Свързването на лиганда S индуцира конформационни промени в субединицата, към която се свързва. Двете субединици могат да имат различни конформации. Основният механизъм се основава на факта, че лиганд-индуцираната конформационна промяна в едната субединица може да предава своите ефекти на съседни субединици чрез промяна на взаимодействията на аминокиселинните остатъци в граничните повърхности между субединиците.



Фиг. 6. Сигмоидална зависимост на скоростта (V) спрямо $[S]$ при алостеричните ензими.

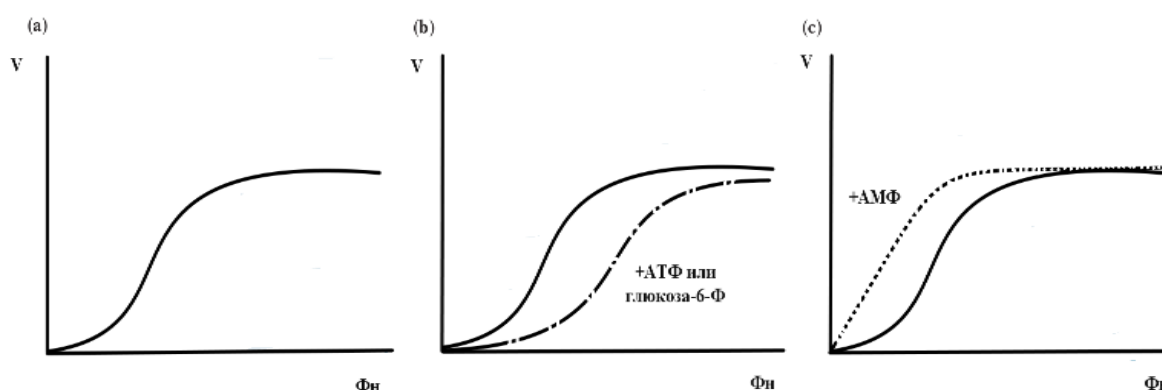


Фиг. 8. Модел на последователните конформационни изменения, предложен от Кошланд и съавтори.

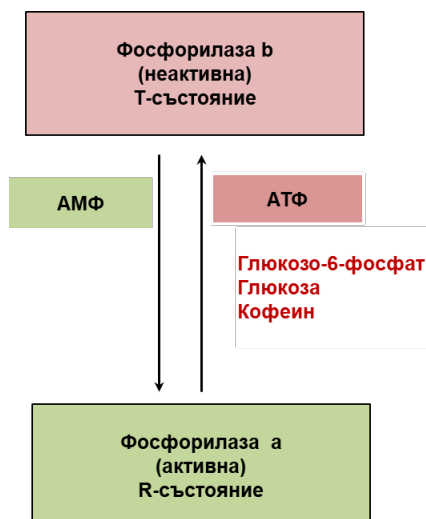


5.1. Алостерична регулация на гликоген фосфорилаза

Ензимът катализира фосфоролитичното отделяне на α -1,4-свързани глюкозни единици от нередуциращия край на гликогеновата верига, при което се получава глюкозо-1-фосфат и гликогенова верига, скъсена с 1 глюкозен остатък. Гликоген фосфорилазата е изградена от 2 еднакви субединици. Всяка субединица е изградена от 842 аминокиселинни остатъци и има молекулна маса 97.44 kDa. Всяка субединица съдържа кофактор пиридоксал фосфат, ковалентно свързана като към Lys680. Всяка субединица съдържа активен център, който е в центъра на субединицата и алостеричен ефекторен сайт близо до повърхността на субединицата. Има и регулаторен фосфорилиран сайт, който се намира при Ser14 във всяка субединица. Всяка субединица притежава място за свързване с гликогена. Свързването на субстрата неорганичен фосфат (Фн), към мускулната гликоген фосфорилаза е силно кооперативно, което води до значително повишаване действието на ензима при концентрации на субстрата в доста тесен диапазон. Неорганичният фосфат е положителен хомотропен ефектор за гликоген фосфорилазата. АТФ и глюкозо-6-фосфата са алостерични инхибитори на гликоген фосфорилазата. АМФ е алостерични активатор (положителен хетеротропен ефектор) на гликоген фосфорилазата – повишава свързването на субстрата Фн към ензима (**Фиг. 9 и 10**).



Фиг. 9. Влияние на субстрата върху скоростта на гликоген фосфорилазната реакция.



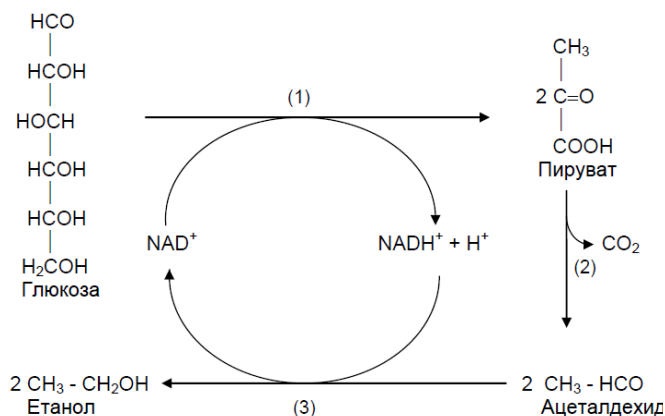
Фиг. 10. Алостерична регулация на гликоген фосфорилазата.

Ферментациите са анаеробни процеси на разграждане на субстратите, при които АТР се синтезира само чрез фосфорилиране на ниво субстрат и акцептор на водорода, отделен при биологичното окисление на субстратите е органично съединение. Микроорганизмите, осъществяващи ферментации са факултативни или облигатни анаероби. Факултативните анаероби, като ентеробактериите, в присъствие на кислород превключват метаболизма си на дишане. Облигатните анаероби не могат да синтезират компоненти на дихателна верига, свързана с кислород. Много от тях не понасят присъствието му – строги анаероби.

Микроорганизмите осъществяват няколко вида ферментация; класифицирането им се прави на базата на получените крайни продукти.

АЛКОХОЛНА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Редица гъби, някои бактерии, водорасли и протозои ферментират захарите до етанол и CO_2 в процес наречен алкохолна ферментация. Дрождите (*Saccharomyce*) разграждат глюкозата (и други захари) в гликолитичния обменен път. Полученият пируват се декарбоксилира до ацеталдехид от ензима *пируват декарбоксилаза*. Ензимът е ключов за ферментационния процес и съдържа тиаминпирозофосфат. Ацеталдехидът се редуцира до етанол от *алкохолдехидрогеназа* и по този начин водородният баланс остава постоянен (Фиг. 1). В анаеробни условия ферментацията на глюкоза е много интензивна, но дрождите почти не растат. При аерация, ферментацията отслабва и започва дишане. Този феномен е известен като **ефект на Пастьор**. Аерацията понижава консумацията на глюкоза и образуването на етанол; стимулира се растежа на дрождите. В ефекта на Пастьор участват няколко регулаторни механизма. Един от тях се проявява на нивото на процесите на



Фиг. 1. Алкохолна ферментация при дрожди. (1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват декарбоксилаза; (3) алкохол дехидрогеназа

фосфорилиране. В основата му е **конкуренцията за ADP и P_i**. Окислението на глицералехид-3-фосфата в гликолитичния път се нуждае от ADP и P_i. В аеробни условия дихателната верига и окислението на глицералдехид-3-фосфата се конкурират за ADP.

Вторият регулаторен механизъм е **алостеричния контрол на активността на фосфофруктокиназата**. Този ензим алостерично се инхибира от АТР. В присъствие на АТР се увеличава сигмоидалността на кривата на насищане на ензима със субстрат. АМР действа като положителен ефектор и елиминира подтискащия ефект на АТР.

Освен глюкоза, дрождите могат да ферментират и пируват. Междинен продукт е ацеталдехид и това се доказва чрез прибавяне на NaHSO_3 . Той се свързва с ацеталдехида (образува се ацеталдехидсулфит), който не може да акцептира водорода от редуцирания NAD. Тази функция се поема от дихидроксиацетонфосфат, който се редуцира до глицерол-3-фосфат и дефосфорилира до глицерол. Тази модифицирана ферментация Нойберг нарича **втора форма** на алкохолната ферментация. Използва се за получаване на глицерол.

Прибавянето на NaHCO_3 или Na_2HPO_4 към ферментиращия разтвор също води до образуване на глицерол, тъй като ацеталдехида се превръща в етанол и ацетат в резултат на реакция дисмутация. Това е **третата форма** на алкохолната ферментация по Нойберг. Класическата алкохолна ферментация Нойберг нарича **първа форма**.

Съществуват няколко вида бактерии, които осъществяват алкохолна ферментация. *Zyotomas mobilis* (изолиран от ферментиращия сок на мексиканския кактус *Agave mexicana*) и

Zymomonas anaerobica превръщат глюкозата в пируват по пътя на Ентнер-Дудороф. Тези бактерии съдържат ензима *пируват декарбоксилаза*. Продукти на ферментацията са етанол, CO_2 и не големи количества лактат. *Sarcina ventriculi* и *Ervinia amylovora* ферментират глюкозата до пируват по гликолитичния път. Пируватът се превръща в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и CO_2 с ензимите *пируват декарбоксилаза* и *алкохол дехидрогеназа*. *Sarcina ventriculi* образува като странични продукти ацетат и молекулен водород, а *E. amylovora* – лактат.

При бактериите сравнително рядко се среща ензимът *пируватдекарбоксилаза*. Много млечнокисели бактерии, ентеробактерии и *Clostridium spp.* образуват значителни количества етанол, но при тях отсъства пируват декарбоксилаза. Ацеталдехид се образува при редукция на ацетил-СоА в реакцията, катализирана от *ацеталдехид дехидрогеназа*.

МЛЕЧНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

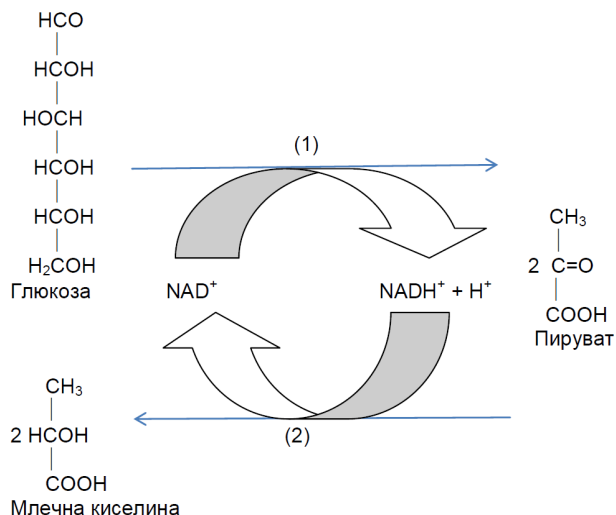
Млечната киселина (лактат) е широко разпространен краен продукт на ферментационните процеси, а няколко рода бактерии, наречени млечнокисели, продуцират млечна киселина в големи количества. Млечнокиселите бактерии от родове *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* се отнасят към **Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. Те са Грам-положителни; пръчковидни и кълбовидни; неспорообразуващи, предимно неподвижни. Аеротолерантни анаероби с ферментативен метаболизъм; не съдържат хемопротеини, като цитохроми и каталаза. Всички млечнокисели бактерии се отличават с висока захаролитична активност и отсъствие на повечето анаболитни пътища, което обуславя голяма възискателност към хранителните субстрати. Тези микроорганизми се развиват в растителни тъкани и разлагащи се растителни остатъци (*Lactobacillus plantarum*, *L. delbrückii*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*), мляко и млечни продукти (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*), чревния тракт и слизестите обвивки на човек и животните (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus faecalis*, *S. salivarius*, *S. bovis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*).

Род *Bifidobacterium* се отнася към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Всички представители на род *Bifidobacterium* са строги анаероби; те не понасят кислород; за развитието им е необходима атмосфера, съдържаща 10% CO_2 . *Bifidobacterium bifidum* е с V- или Y-образна форма, откъдето е получил името си (лат. *bifidus* – раздвоен). Преобладава в чревния тракт на кърмачета (бифидобактерии се откриват и в дебелото черво на възрастни хора), тъй като се нуждае от въглехидрати, съдържащи N-ацетилглюкозамин, който се съдържа в човешката кърма (но не в кравето мляко).

Млечнокиселите бактерии осъществяват няколко вида ферментация.

1. Хомоферментативна млечнокисела ферментация – млечната киселина е преобладаващ продукт (повече от 90% от всички продукти). Глюкоза се превръща в гликолитичния път до пируват, който акцептира водорода от глицералдехид-3-фосфат дехидрогеназната реакция и се редуцира до млечна киселина с ензима *лактат дехидрогеназа* (Фиг. 2). От 1 mol глюкоза се получават 1.8 mol млечна киселина. Енергетичният баланс на ферментацията е 2 mol АТР на 1 mol изразходвана глюкоза.

2. Хетероферментативна млечнокисела ферментация – получават се приблизително 50% млечна киселина и 50% други продукти. Хетероферментативните млечнокисели бактерии не притежават ензимите *алдолаза* и *триозофосфат изомераза*. Глюкозата се превръща в пентозофосфатния път до ксилулозо-5-фосфат, който в реакция, катализирана от *пентозофосфофокетолаза* се разпада до глицералдехид-3-фосфат и ацетилфосфат. Глицералдехид-3-фосфатът се превръща в лактат, а ацетилфосфатът през ацетил-СоА и ацеталдехид в етанол. Други млечнокисели бактерии



Фиг. 2. Хомоферментативна млечнокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) лактат дехидрогеназа.

(*Lactobacillus brevis*) превръщат ацетилфосфата изцяло или частично в ацетат, при което макроергичната връзка се пренася върху ADP – синтезира се АТР. Излишъкът от водород се поема от глюкоза, която се редуцира до манитол. Балансът на хетероферментативната млечнокисела ферментация е 1 mol АТР на всеки mol изразходвана глюкоза.

МРАВЧЕНОКИСЕЛА (СМЕСЕНА) ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРИ ЕНТЕРОБАКТЕРИИ

Представителите на разред *Enterobacteriales* се отнасят към **Група 2 – Протеобактерии, γ-Протеобактерии**. Те са Грам-отрицателни, неспорообразуващи пръчици; хемоорганотрофи. Факултативни анаероби. Условно-патогенни микроорганизми.

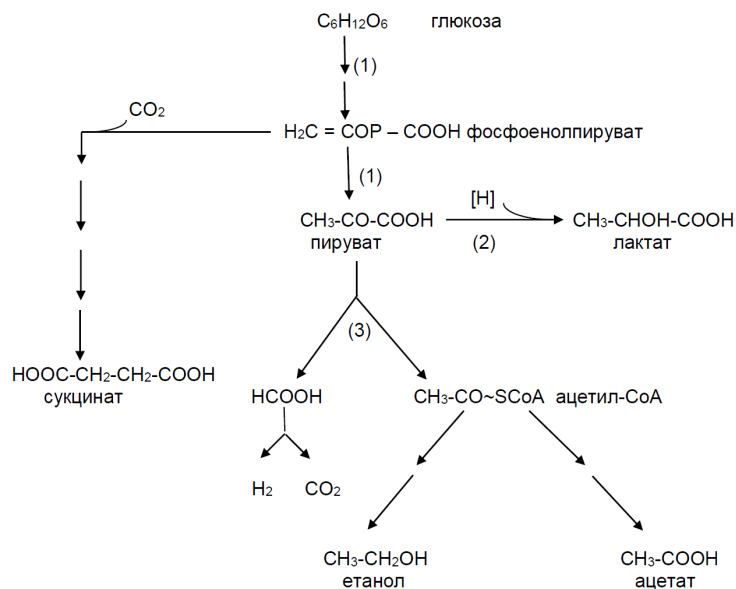
Род *Escherichia* – къси пръчици; неподвижни и подвижни; подвижните форми са перитрихи. *Escherichia coli* населява чревния тракт на животните и човек няколко часа след раждането и е нормален комменсал. При определени условия може да предизвика заболявания – уринарни, интестинални инфекции, менингити, вътреболнични инфекции. Запазва известно време жизнеспособност и извън стомашно-чревния тракт, поради което лесно се изолира. Използва се като тест-микроорганизъм за установяване на фекалното замърсяване на питейна вода.

Род *Enterobacter* – подвижни пръчици (перитрихи), разпространени в почва, вода, интестиналният тракт на човек и животни. Ферментират захарите с отделяне на газ. Могат да причинят, макар и рядко менингити, сепсиси, раневи инфекции, вътреболнични инфекции.

В отсъствие на кислород ентеробактериите осъществяват два вида смесена ферментация.

1. Родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* ферментират захарите до млечна, оцетна, мравчена, янтарна киселини, неголеми количества C_2H_5OH , CO_2 и H_2 .

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път. На ниво фосфоенолпируват (ФЕП) се отделя разклонението за синтез на янтарна киселина. Останалата част от ФЕП се превръща в пируват. Значителна част от него се редуцира до млечна киселина; бактериите от родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* продуцират значителни количества млечна киселина. От пируват с ензимния комплекс *пируват:формиат лиаза* (ключов за ферментацията) се получава ацетил-СоА и мравчена киселина. Мравчената киселина е краен продукт, но част от нея се разпада до CO_2 . Ацетил-СоА се превръща в етанол и в оцетна киселина (Фиг. 3).



Фиг. 3. Смесена ферментация при *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

(1) ензими на гликолитичния път;
(2) лактат дехидрогеназа
(3) пируват:формиат лиаза.

2. Родове *Enterobacter* и *Erwinia* за сметка на киселините образуват значителни количества C_2H_5OH , CO_2 и 2,3-бутандиол – **бутандиолова ферментация**.

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път до пируват (няма разклонение на ниво ФЕП, т.к. не се получава сукцинат). Малка част от пирувата се редуцира до млечна киселина. От пируват, с ензима *пируват:формиат лиаза* се получават формиат и ацетил-СоА. Част от формиата се разпада до CO_2 и H_2 , а ацетил-СоА изцяло се превръща в етанол. От пирувата се получава 2,3-бутандиол – специфичен продукт, който дава име на ферментацията. Двата вида ферментация се разграничават чрез реакция с метилрот (MR) и реакция на Фогес-Проскауер (VP).

МАСЛЕНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

През 1861 г. Луи Пастър открива ферментация на захари, при която се получава бутират. Осъществява се от облигатни анаероби, представители главно на 4 рода: *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*.

Видовете *Clostridium* поглъщат захарите с фосфотрансферазна система; хексозите се разграждат до пируват в гликолитичния обменен път; пируватът се превръща в ацетил-CoA, CO_2 и H_2 под действието на ензима *пируват:ferredоксин оксидоредуктаза*, който е ключов за ферментацията. Двете молекули ацетил-CoA кондензират, при което се формира ацетоацетил-CoA, който постепенно се превръща в маслена киселина (Фиг. 4). Енергетичният баланс на ферментацията е 3 mol ATP на 1 mol глюкоза.

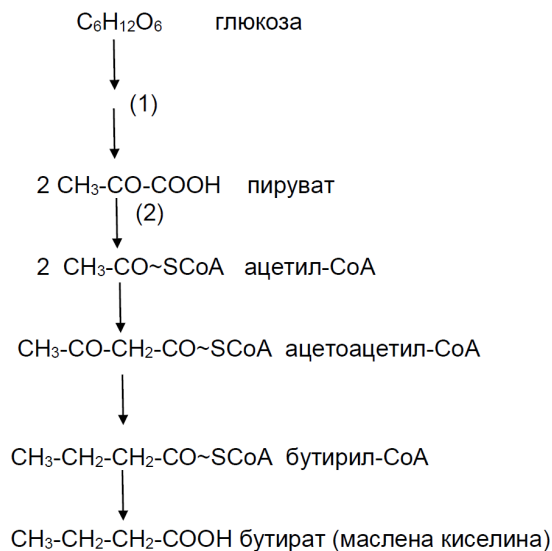
Clostridium acetobutylicum ферментира глюкозата до бутират, бутанол и ацетон. Първоначално се образува бутират, но подкислението на средата активира ензими (като *ацетоацетат декарбоксилаза*), които катализират образуването на бутанол и ацетон. Процесите на синтез на различните продукти са свързани. Декарбоксилирането на част от ацетоацетата води до загуба на част от потенциалния акцептор на водорода от редуцирания NAD, който се прехвърля върху бутирил-CoA – образува се бутанол. В процеса се включва, след активиране, постъпващия от средата бутират. Някои щамове редуцират ацетона до 2-пропанол. Ако рН се поддържа на ниво по-високо от 5.0, образуването на ацетон и бутанол силно се подтииска.

Род *Clostridium* се отнася към **Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. *Clostridium* са Грам-положителни; стари култури могат да се оцветят отрицателно по Грам. Изолират се от почва, оборски тор, замърсени води, храносмилателния тракт на животни и човек. Повечето видове са подвижни перитрихи (срещат се и неподвижни). Образуват термореzистентни спори, които са кръгли или елипсовидни и променят формата на клетката. През определени етапи от развитието си клетките съдържат гранулеза (скорбялоподобно вещество), която се оцветява от йод в синьо. Натрупването на гранулеза се използва като таксономичен белег. *Clostridium* се отличават с изразен ферментативен тип метаболизъм. Анаероби с преходни форми – от строги анаероби (*C. pasteurianum*, *C. kluyveri*) до почти аеротолерантни (*C. histolyticum*, *C. acetobutylicum*). Не съдържат хемопротеини (цитохроми и каталаза). Повечето видове са мезофилни (opt.t 30-37°C), но се срещат и термофилни, като *C. thermoaceticum*, *C. thermohydrosulfuricum*. *Clostridium* се различават силно по отношение на субстратите, които могат да ферментират. Захаролитичните видове разграждат предимно полизахариди, а пептолитичните – белтъци и аминокиселини. Оптимално рН за развитието е 6.5-7.2. Някои пептолитични *Clostridium* могат да причинят болести при раневи инфекции (газова гангрена и тетанус), а също така хранителни отравяния.

ПРОПИОНОВОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Пропионовокиселите бактерии обитават търбуха и чревния тракт на преживните животни, където превръщат млечната киселина, получена при различни ферментационни процеси в пропионова. Пропионова киселина образуват видовете *Propionibacterium*, *Selenomonas*, *Micromonospora* и *Clostridium propionicum*.

Род *Propionibacterium* се отнася към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Плеоморфни пръчици с размери 0.5 – 0.8 x 1.0 – 5.0 µm. Срещат се поединично,



Фиг. 4. Масленокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват:ferredоксин оксидоредуктаза

по двойки, в къси верижки, в Y или V образни конфигурации. Неспорообразуващи, неподвижни. При неблагоприятни условия формират бухалковидни форми. Не растат на твърди среди при достъп на въздух. Анаероби, но притежават вариабилна аеротолерантност. Притежават цитохроми и каталаза. Оптимална температура за развитие – 30 – 37°C. Хемоорганотрофи. Откриват се главно в сирене и млечни продукти и са част от нормалната микрофлора на човешката кожа. Ферментират глюкоза, захароза, лактоза, пентози, малат, глицерол, лактат с образуване на значителни количества пропионат. При ферментацията се получават също ацетат и неголеми количества CO₂.

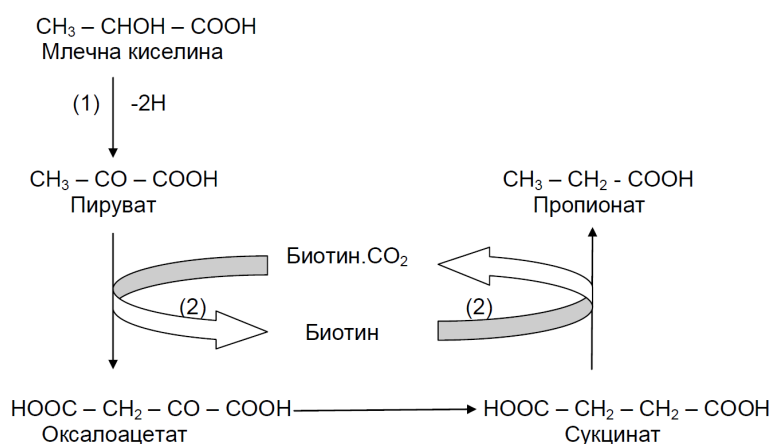
Род *Micromonospora*. Проактиномицети; отнасят се към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Притежава добре развит, разклонен, септиран субстратен мицел. Въздушен мицел липсва. Грам-положителни клетки. Стената съдържа *meso*-диаминопимелинова киселина и глицин. Аероби и микроаероби. Хемоорганотрофи. Чувствителни са към pH стойности под 6.0. Растат при температури 20 – 40°C. Обитават почва, води (морски и сладководни), седименти. Няколко вида се откриват в интестиналния тракт на термити и търбуха на овце.

Формирането на пропионата става по два пътя; превръщането на глюкозата се осъществява по гликолитичния обменен път.

1. Сукцинат-пропионатен път. Функционира при повечето пропионовокисели бактерии. Първоначално, пируватът се карбоксилира до оксалоацетат. В реакцията участва биотин, като преносител на CO₂; CO₂ се използва циклично. Оксалоацетатът се превръща в сукцинат. Сукцинатът се активира и декарбоксилира до пропионат (Фиг. 5).

2. Акрилоил-СоА път. Функционира при *Clostridium propionicum*. Междинен продукт е акрилоил-СоА. Субстрат може да бъде L-, D- или DL-

лактат, които претърпяват взаимни превръщания под действие на ензима *лактат рацемаза*. Част от млечната киселина се окислява до пируват, от който се получава ацетил-СоА, CO₂ и редуцират фередоксин с ензима *пируват:фередоксин оксидоредуктаза*. Ацетил-СоА се превръща в оцетна киселина. Останалата част от лактата се превръща в лактил-СоА, от който се получава акрилоил-СоА. Следва редукция до пропионил-СоА и освобождаване на пропионат. Донори на електрони са редуцирания флавопротеин и редуцирания фередоксин, получени в другото разклонение на пътя. Крайни продукти в този път са пропионова и оцетна киселини и CO₂.



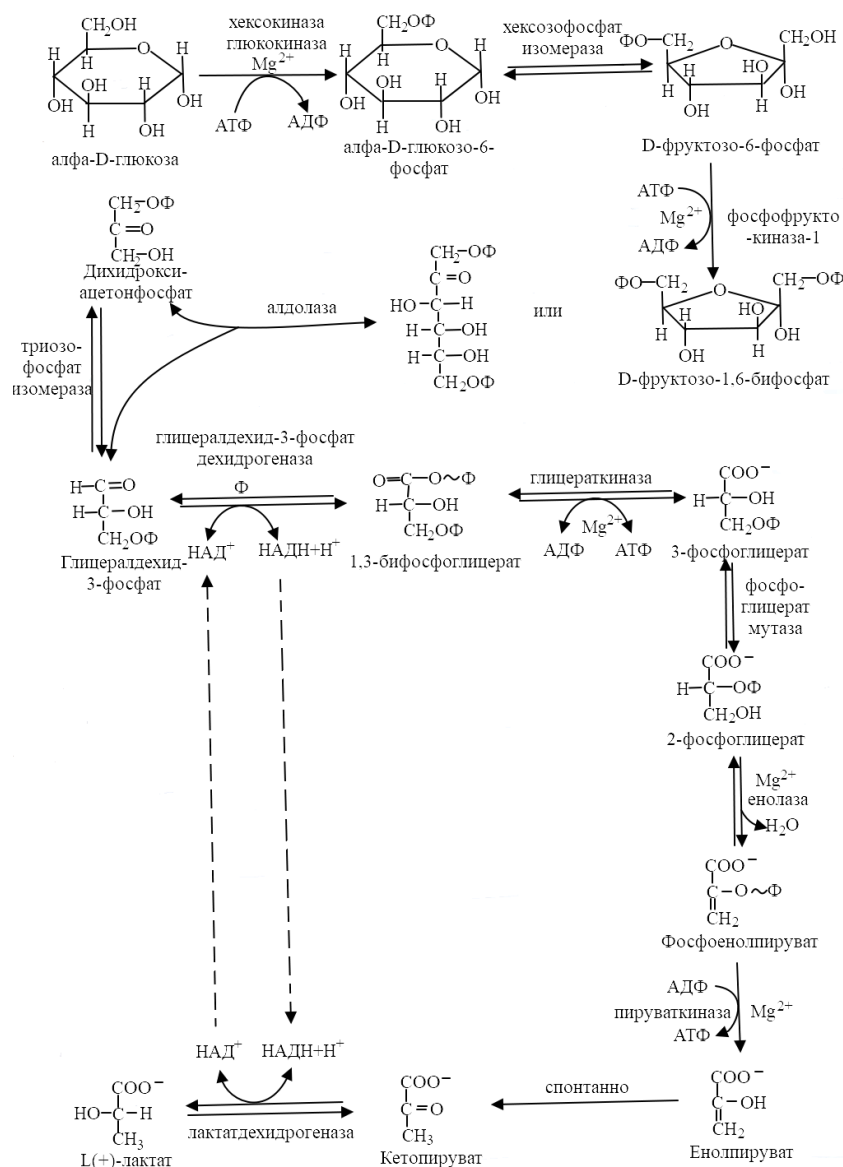
Фиг. 5. Сукцинат-пропионатен път на пропионовокисела ферментация. (1) лактат дехидрогеназа; (2) транскарбоксилаза

1. Катаболизъм на въглехидрати

Въглехидратите са най-предпочитаният източник за окислително разграждане, в хода на което организмите получават енергия в използвана форма. Разграждането на въглехидратите протича в два етапа: 1) полизахаридите и олигозахаридите се разграждат до монозахариди; 2) монозахаридите се разграждат до CO_2 и H_2O .

1.1. Анаеробно разграждане на глюкоза – гликолитичен обменен път (гликолиза)

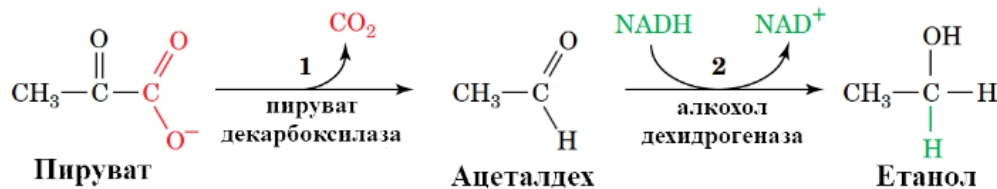
Разграждането на глюкозата (респ. др. монозахариди) в клетката започва в цитоплазмата, при анаеробни условия, по гликолитичния обменен път, наречен гликолиза. В хода на гликолизата, 1 молекула глюкоза се разгражда до 2 молекули пирогроздена киселина (пируват), а отделената енергия се съхранява в макроергични връзки – синтезира се АТФ (Фиг. 1, Г. Косекова – Лекции по биохимия).



Фиг. 1. Реакции в гликолитичната верига.

Разграждането на 1 молекула глюкоза по гликолитичната верига, в анаеробни условия, води до получаване на: 2 молекули пируват + $2\text{H}_2\text{O} + 4\text{ATP}$. От добитата енергия, под формата на АТФ, само 2 молекули АТФ са реален добив, тъй като в подготвителната фаза на гликолизата се изразходват 2 молекули АТФ.

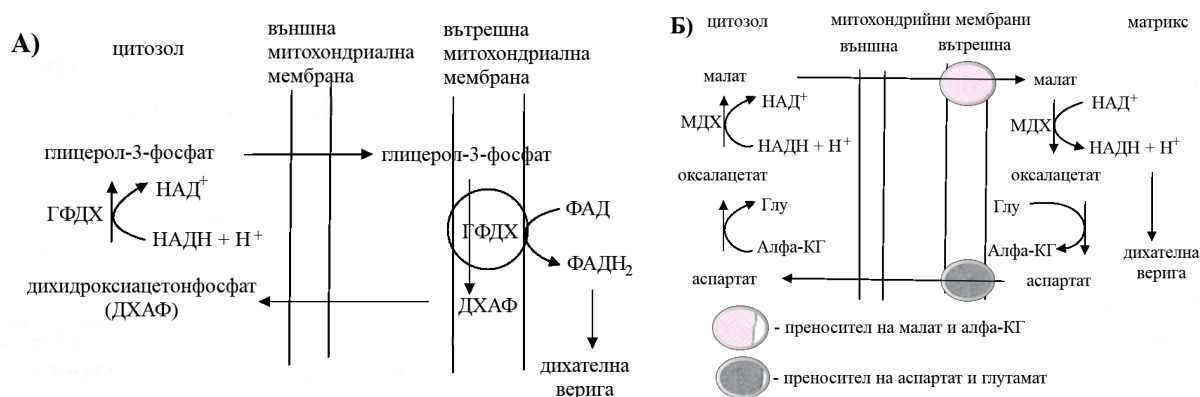
При анаеробни условия, напр. при хлебни дрожди *Saccharomyces cerevisiae*, пируватът се превръща в етанол (алкохолна ферментация) (Фиг. 2. Voet & Voet, 5th Ed.)



Фиг. 2. Анаеробно разграждане на пируват до етанол (алкохолна ферментация).

1.2. Връзки меду гликолиза и дихателни вериги

Вътрешната митохондриална мембрана е непропусклива за НАДН и НАДФН, които се отделят в хода на окислителните процеси в цитоплазмата (вкл. гликолизата). Установени са 2 совалкови механизма, осъществяващи преноса на водород от цитоплазмата към митохондриите, където се осъществява транспортирането му по дихателните вериги до кислорода: 1) глицеролфосфатна совалка; 2) малатна совалка (Фиг. 3, Г. Косекова – Лекции по биохимия). При разграждане на 1 молекула глюкоза до 2 молекули пируват по гликолизата (2АТФ) и при използване на глицеролфосфатна совалка (4АТФ) или малатна совалка (6АТФ) се синтезират 6 и съответно 8 молекули АТФ. Глицеролфосфатната совалка действа в скелетните мускули и мозъка, а малатната совалка – в сърдечния мускул, черния дроб и мастната тъкан.

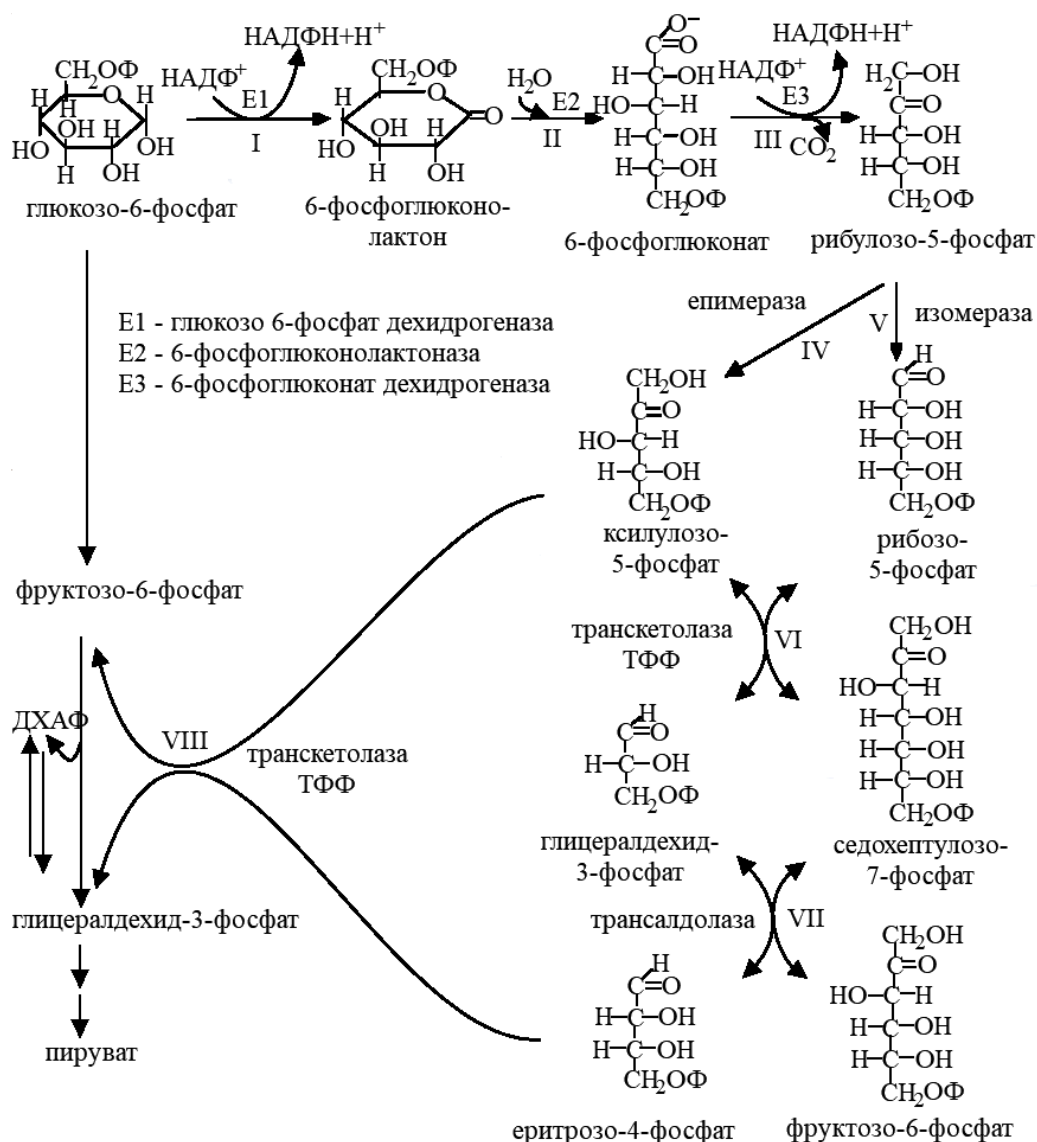


Фиг. 3. Совакови механизми за пренос на водород от цитоплазмата към дихателните вериги в митохондриите. А) Глицеролфосфатна совалка. Б) Малатна совалка. Съкращения: ГФДХ – глицеролфосфат дехидрогеназа; МДХ – малат дехидрогеназа; Глу – глутамат; α-КГ – α-кетоглутарат.

1.3. Други пътища за разграждане на глюкоза

1.3.1. Пентозофосфатен път (ПФП)

ПФП протича в цитоплазмата при анаеробни условия и се отклонява от гликолизата на нивото на глюкозо-6-фосфат. Отново се влива в гликолизата на нивото на фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат. В хода на ПФП се получава НАДФН, който е необходим за синтезните процеси. Получава се рибозо-5-фосфат, който се използва в биосинтеза на нуклеотиди, а от тях и на нуклеинови киселини. Полученият глицералдехид-3-фосфат се използва за получаване на глицерол-3-фосфат в мастна тъкан за синтеза на триацилглицероли (Фиг. 4, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

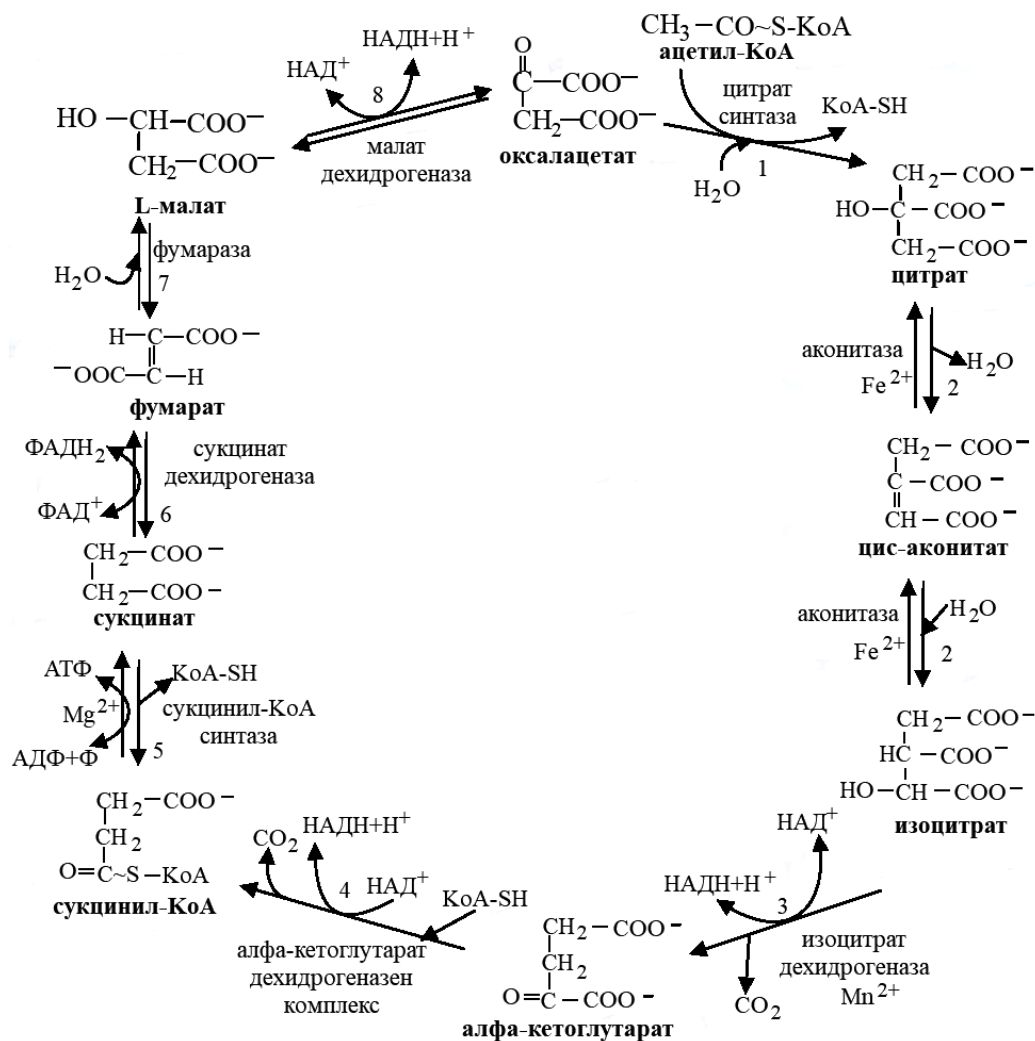


Фиг. 4. Пентозофосфатен път, в който 3 молекули глюкозо-6-фосфат се превръщат в 3 CO_2 , 2 фруктозо-6-фосфат и 1 глицералдеhid-3-фосфат. Вляво вертикално е представена схематично гликолизата. В реакции VI и VIII, катализирани от транскетолаза, се пренасят C_2 -фрагменти. C_3 -фрагмент се пренася от трансалдолазата в реакция VII.

Ензими: I – глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа; II – лактоназа; III – 6-фосфоглюконат дехидрогеназа; IV – епимераза; V – изомераза; VI – транскетолаза; VII – трансалдолаза; VIII – транскетолаза.

1.2. Цитратен цикъл (цикъл на Кребс).

Серия от реакции, катализирани от осем ензима, които разграждат ацетиловата група на ацетил-КоА до CO_2 и H_2O (**Фиг. 5, Г. Косекова – Лекции по биохимия**). Протича в митохондриалния матрикс при аеробни условия. Главен източник на АТФ – отделя се водород от отделните метаболити, който се поема от НАД и ФАД и се подава към дихателните вериги – синтезира се АТФ. Главен катаболитен път за разграждане на въглехидрати, мазнини и белтъци. Цикълът на Кребс е тясно свързан и с анаболитните процеси – от негови метаболити започват важни синтетични пътища.



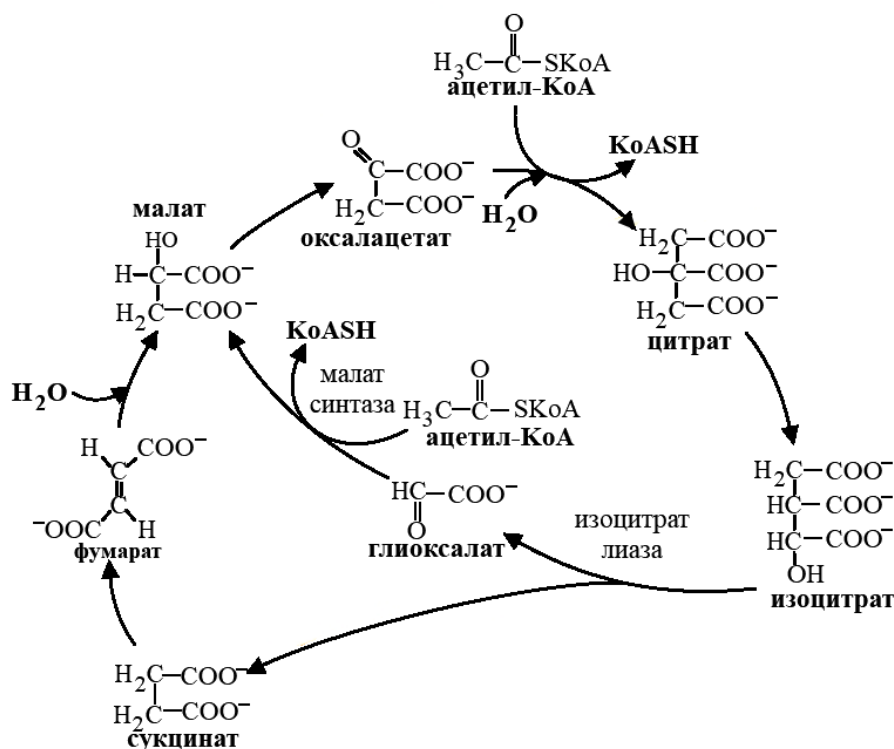
Фиг. 5. Реакции на цитратен цикъл. 1 – Кондензация на оксалацетат и ацетил-КоА до цитрат; 2 – превръщане на цитрат в изоцитрат; 3 – окислително декарбоксилиране на изоцитрат (като β-хидроксикиселина) до α-кетоглутарат; 4 – окислително декарбоксилиране на α-кетоглутарат (като α-кетокиселина) до сукцинил-КоА; 5 – енергията на тиоестерната макроергична връзка на сукцинил-КоА се пренася върху АДФ и се получава сукцинат и АТФ на субстратно ниво; 6 – Дехидрогениране на сукцинат до фумарат; 7 – хидратиране на фумарат до малат; 8 – дехидрогениране на малат до оксалацетат.

Енергиен добив от цитратния цикъл. От разграждането на 1 молекула ацетил-КоА в цикъла на Кребс се получават 12 молекули АТФ. От 1 молекула глюкоза се получават 2 молекули ацетил-КоА, от които се синтезират 24 молекули АТФ в комбинацията цикъл на Кребс + дишателни вериги.

Енергиен добив при анаеробно и аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза до CO₂ и H₂O: гликолиза (2 молекули АТФ) + совалкови механизми за пренос на редуциращи еквиваленти (6/4 молекули АТФ) + окислително декарбоксилиране на пируват до ацетил-КоА (6 молекули АТФ) + цикъл на Кребс (24 молекули АТФ) = 38/36 молекули АТФ.

1.3. Глиоксалатен цикъл

Представлява скъсен вариант на цикъла на Кребс. Характерен за някои микроорганизми и растения. При еукариотните организми е локализиран в специализирани цитоплазмени органели – глиоксисоми. От включени в цикъла 2 молекули ацетил-КоА се синтезира оксалацетат или негов предшественик от цитратния цикъл – малат, фумарат или сукцинат. Не се отделя CO₂ (не се разгражда органично съединение), но има окислителни стъпала – печели се енергия (макар и по-малко). Има синтетично значение – получения оксалацетат респ. малат да се използват за синтез на въглехидрати; да се синтезират аминокиселини. Използва се от микроорганизми и прорастващи растения за превръщане на мазнини във въглехидрати и в аминокиселини (белтъци) (Фиг. 6. Г. Косева – Лекции по биохимия).



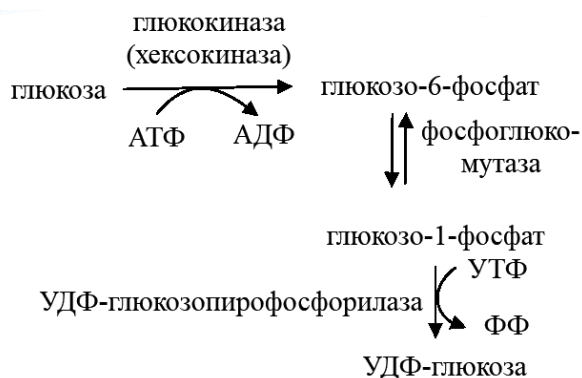
Фиг. 6. Глиоксалатен цикъл

2. Биосинтез на олиго- и полизахариди

Олигозахаридите са най-често междинен продукт от разграждането и/или биосинтезата на полизахаридите. Под действие на α -амилаза, вътрешните α -1,4-гликозидни връзки в хомополизахаридите скорбяла и гликоген биват хидролизирани до получаване на смес от малтоолигозахариди с разклонена структура. Под действие на α -1,6-глюкозидаза, биват хидролизирани α -1,6-разклоненията в скорбялата и гликогена.

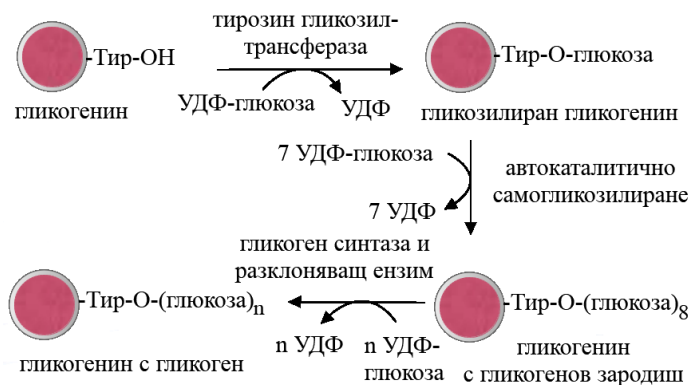
2.1. Биосинтез на гликоген.

Синтезата на гликоген започва с активиране на глюкозата до УДФ-глюкоза. Хексокиназа в мускулите и глюकोкиназа в черния дроб фосфорилират глюкозата до глюкозо-6-фосфат (Фиг. 7. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



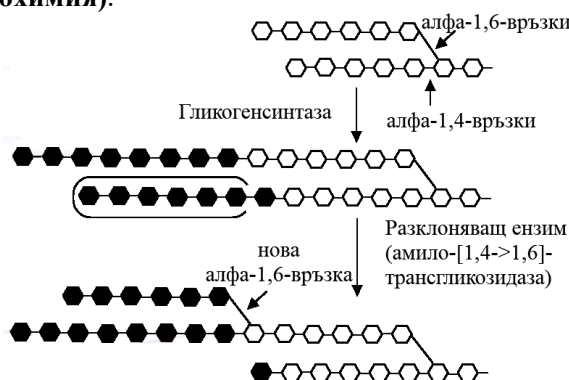
Фиг. 7. Активиране на глюкоза до УДФ-глюкоза при синтезата на гликоген.

За синтезата на гликоген е нужен зародиш от поне 7 глюкозни остатъка, свързани с α -1,4-гликозидни връзки. Той се образува с участието на ензимите тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин (автогликозилиращ се ензим) (Фиг. 8. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



Фиг. 8. Образуване на гликогенов зародиш (праймер), с участието на тирозин гликозилтрансфераза и глицогенин.

Полученият къс фрагмент е зародишът, необходим за действие на гликоген синтазата. Тя удължава веригата, добавяйки един по един глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, образувайки α -1,4-гликозидни връзки (Фиг. 9. Г. Косекова – Лекции по биохимия).

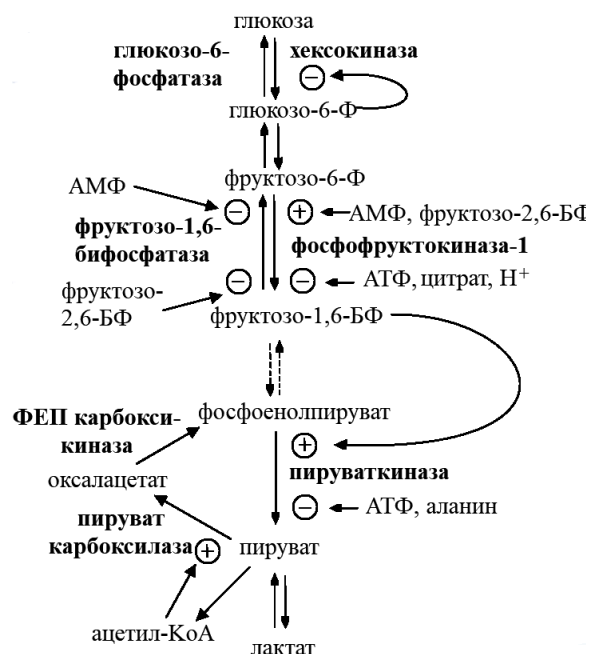


Фиг. 9. Действие на гликоген синтаза за удължаване на веригата и на амило-(1,4 $\rightarrow$ 1,6)-трансглицозидаза за разклоняване на веригата. Синтазата прехвърля глюкозни остатъци (един по един) от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, а разклоняващият ензим прехвърля фрагмент от 7 остатъка от главната верига към -ОН група на 6-о място в глюкозен остатък от същата или друга верига.

3. Регулация на въглехидратния метаболизъм

3.1. Регулация на гликолиза и глюконеогенеза

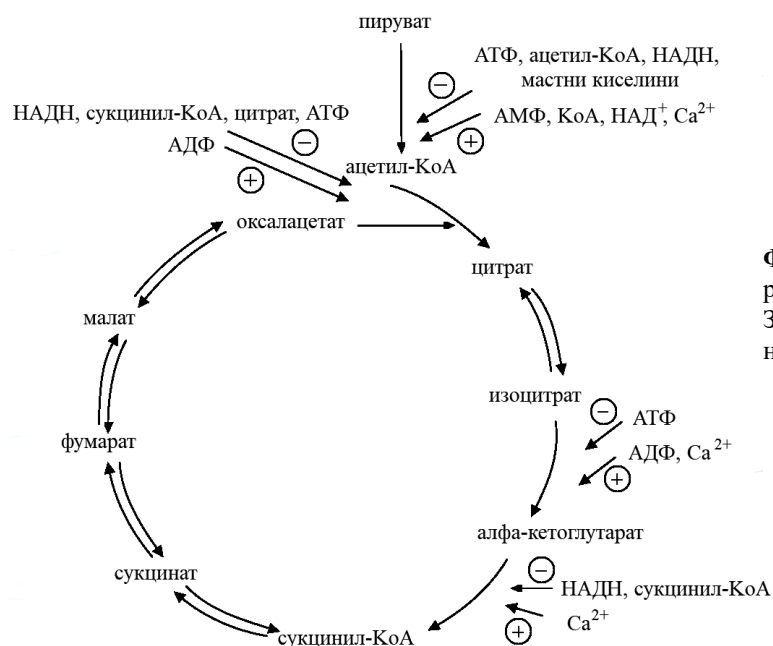
Гликолизата и глюконеогенезата не протичат едновременно, а се регулират реципрочно, в зависимост от нуждите на организма. Регулаторни ензими за глюконеогенеза са: пируват карбоксилаза, ФЕП карбоксикиназа, фруктозо-1,6-бифосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза (Фиг. 10, Г. Косекова – Лекции по биохимия). Катализираните реакции са екзергонични и необратими. Най-важният регулаторен ензим при глюконеогенезата е фруктозо-1,6-бифосфатазата – инхибира се алостерично от фруктозо-2,6-бифосфат, който активира фосфофруктокиназа-1 от гликолизата. Балансът между гликолиза и глюконеогенезата е под хормонален контрол. В черния дроб, при ниско ниво на глюкоза, глюкагонът стимулира образуване на АМФ, който активира протеин киназа А да фосфорилира фосфофруктокиназа-2 (инактивиране) и фруктозо-2,6-бифосфатаза (активиране). Това инактивира фосфофруктокиназа-1 и активира фруктозо-1,6-бифосфатаза. Това измества равновесието в полза на глюконеогенезата. Високо ниво на глюкоза намалява концентрацията на цАМФ, увеличава концентрацията на фруктозо-2,6-бифосфат и това стимулира гликолизата.



Фиг. 10. Регулация на глюконеогенеза и гликолиза.

3.2. Регуляция на цикъла на Кребс

В цикъла на Кребс има 3 регулаторни ензима: цитрат синтаза, изоцитрат дехидрогеназа, α -кетоглутарат дехидрогеназен комплекс. Значение има и пируват дехидрогеназния комплекс (ПДХК), който доставя ацетил-КоА (Фиг. 11, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

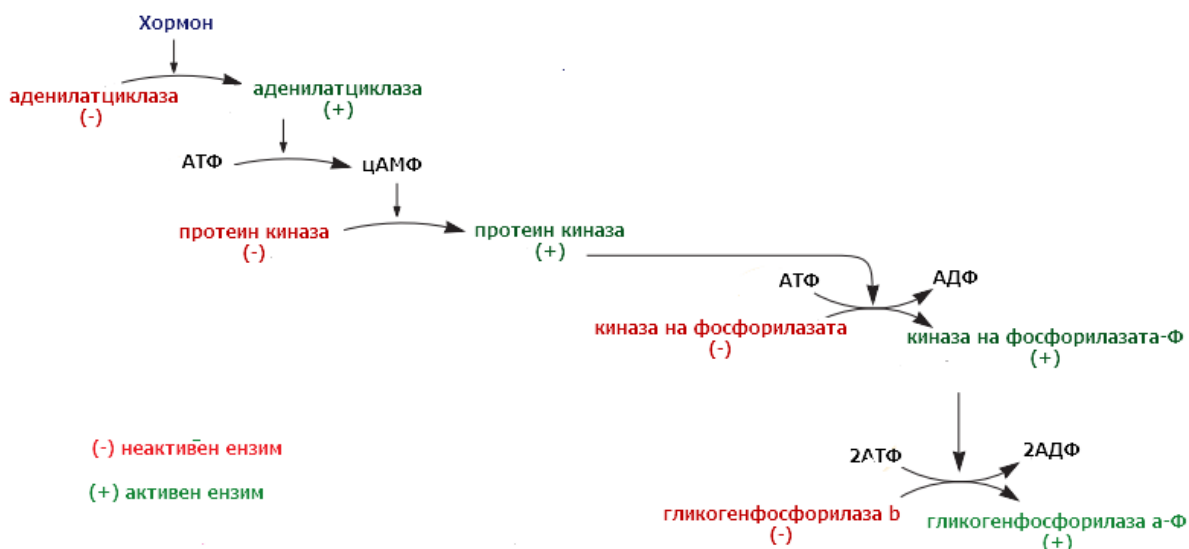


Фиг. 11. Регуляция на пируват дехидрогеназен комплекс и цитратен цикъл. Знакът плус показва активиране, а минусовият знак – инхибиране.

ПДХК се инхибира алостерично от висока концентрация АТФ, НАДН и ацетил-КоА – показател за наличие на енергия и субстрати. АМФ, КоА и НАД⁺ активират алостерично ПДХК. Интезитетът на цитратния цикъл намалява при недостиг на субстратите (оксалацетат и ацетил-КоА) или НАД⁺. Сукцинил-КоА, АТФ и цитрат са алостерични инхибитори на началните реакции на цикъла. Калциевите йони сигнализируют мускулно съкращение и стимулират окислителните реакции, доставящи енергия в използваем вид.

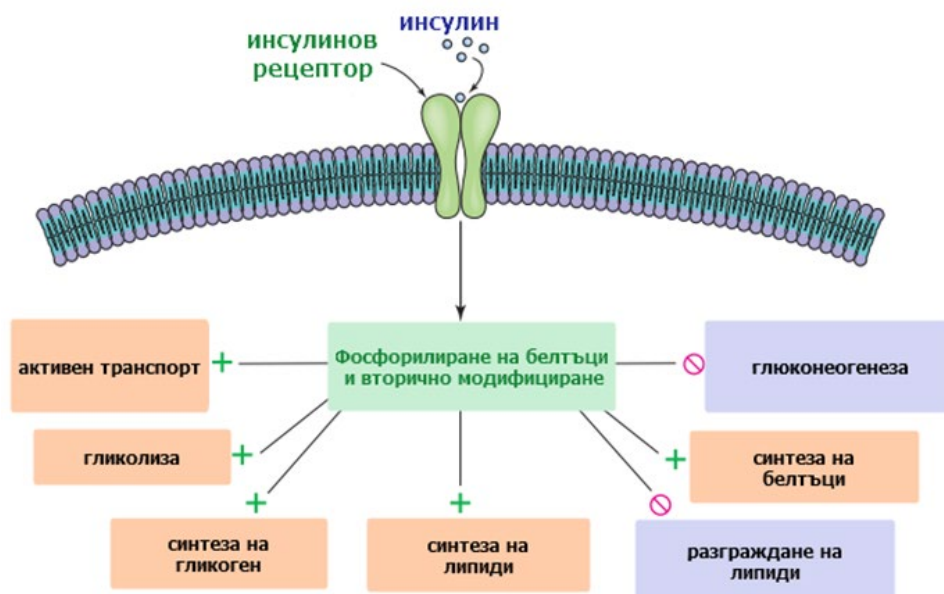
3.3. Регуляция на гликогеновия метаболизъм

Глюкагон и епинефрин (адреналин) стимулират разграждането на гликогена (гликогенолиза) – епинефрин активира гликогенолизата в черния дроб и в мускулите. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата, водеща до разграждането на гликогена (Фиг. 12, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 12. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата.

Инсулинът стимулира синтеза на гликоген, чрез активиране на фосфопротеин фосфатаза, която дефосфорилира гликоген синтаза b (неактивна) и я превръща в активна форма (гликоген синтаза a) (Фиг. 14, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 13. Ефекти на инсулина върху гликогеновия метаболизъм и ковалентното модифициране на регулаторни ензими.

Динамичното състояние на белтъците в организма е свързано с процеси на непрекъснато разграждане. При животните и човека, разграждането на белтъците има и смилателна стойност – постъпващите с храната белтъци се разграждат до α -аминокиселини (АК), които се усвояват от организма. Разграждането на белтъците е хидролитно – извършва се от протеолитични ензими, наречени пептидхидролази (протеази), които хидролизират пептидните връзки, при което се получават по-къси белтъчни фрагменти (пептиди) и свободни аминокиселини. Протеази се синтезират от всички живи организми, като изпълняват разнообразни функции – храносмилателна, защитна, регулаторна и др. Според мястото си на действие в полипептидната верига, протеазите се разделят на две основни групи ендопептидази и екзопептидази. Ендопептидазите хидролизират връзки във вътрешността на полипептидната верига, като повечето от тях проявяват специфичност по отношение на аминокиселините, участващи в образуването на пептидната връзка (трипсин, химотрипсин, пепсин, ренин, тромбин, плазмин, еластаза, колагеназа, кератиназа, протеази с растителен произход, като папаин, химопапаин, фицин, бромелин, както и някои микробни протеази).

Пепсин, трипсин, химотрипсин и ренин са смилателни ендопептидази при животинските организми. Те се отделят извън клетката и действат в средата или в кухината на храносмилателния тракт. Тези ензими се синтезират в клетките в неактивна форма – като преензими или зимогени и се активират извън клетките. Това е защитен акт на организма срещу нежелано вътреклетъчно действие. Активирането се състои в отделяне на части от полипептидната верига, които блокират активния център.

Екзопептидазите хидролизират крайни пептидни връзки в полипептидната верига, което води до освобождаване на аминокиселини и дипептиди. Разделят се на: карбоксипептидази – отделят АК със свободна карбоксилна група от С-края на полипептидната верига и аминопептидази – отделят АК със свободна amino група от N-края на полипептидната верига.

Хидролизното разграждане на белтъците води до получаване на 20 α -АК, които се подлагат на разграждане (катаболизъм).

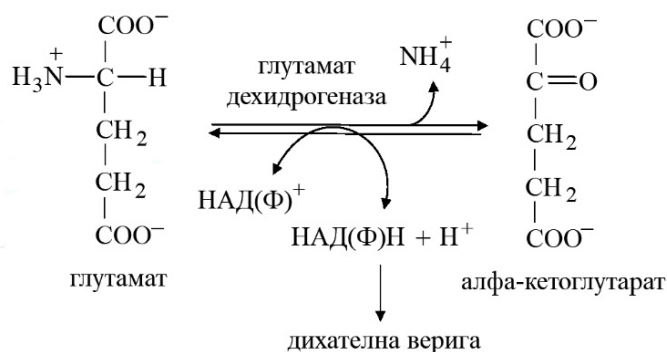
Катаболизъм на α -аминокиселини

Разграждането на аминокиселините започва с отделяне на amino групата.

Дезаминиране на АК – отделяне на amino групата от АК като амоняк.

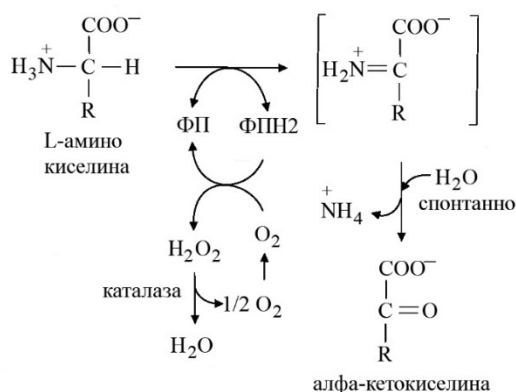
Окислително дезаминиране

Единствено глутаматът се дезаминира окислително с ензима глутамат дехидрогеназа, която пренася отделения водород върху НАД, който се редуцира и по дихателната верига се синтезират теоретично 3 молекули АТФ. Азотът се отделя като амониев йон. (Фиг. 1)



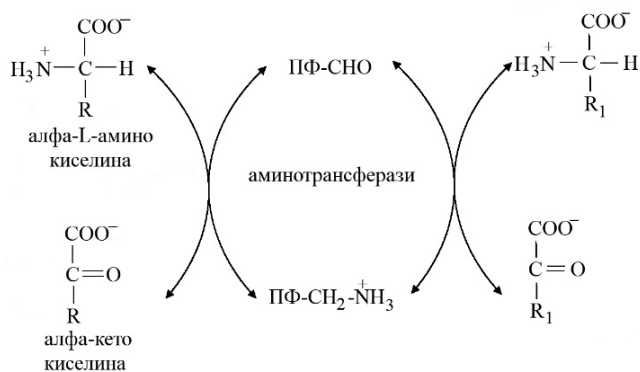
Фигура 1. Окислително дезаминиране на глутамат под действие на ензима глутамат дехидрогеназа. (Косекова Г. и съавт., 2010)

С изключение на глутамат, всички останали АК се дехидрогенират от ензими, свързани с флавинова редокс-система, която е свързана с аеробни дехидрогенази и отдава водорода директно на кислорода с образуване на водороден пероксид H_2O_2 – процес, при който не се печели енергия. Ензимите, които катализират този процес се наричат аминooksидази (Фиг. 2)



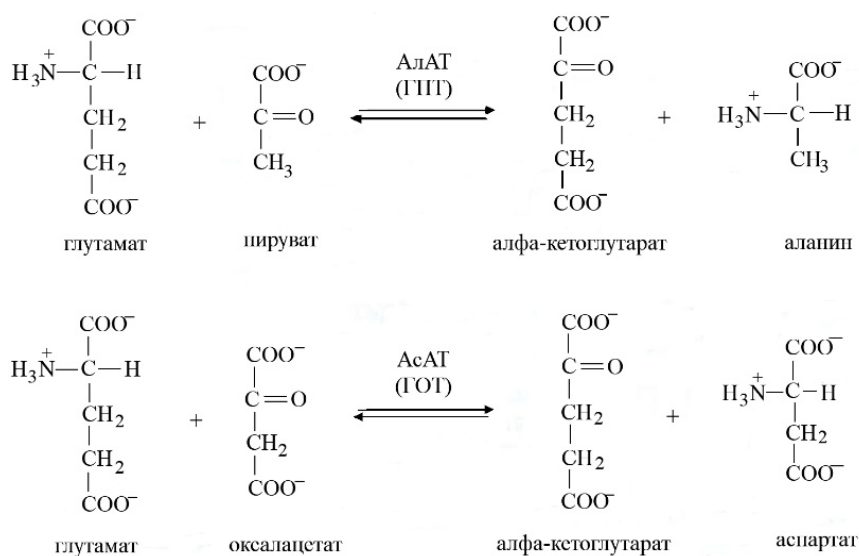
Фигура 2. Окислително дезаминиране на L-аминокиселини. (Косекова Г. и съавт., 2010)

Трансаминиране на АК – прехвърляне на амино група от една АК към кетокиселина, при което АК се превръща в кетокиселина, а кетокиселината в аминокиселина. Широко застъпен процес в животински организми и микроорганизми. Ензимите, които катализират този процес са аминотрансферази, които действат с коензим пиридоксал фосфат (ПФ). (Фиг. 3)



Фигура 3. Трансаминиране на аминокиселина и кетокиселина под действие на аминотрансферази с кофактори пиридоксал фосфат (ПФ-CHO) и пиридоксаминфосфат (ПФ-CH₂-NH₃⁺). (Косекова Г. и съавт., 2010)

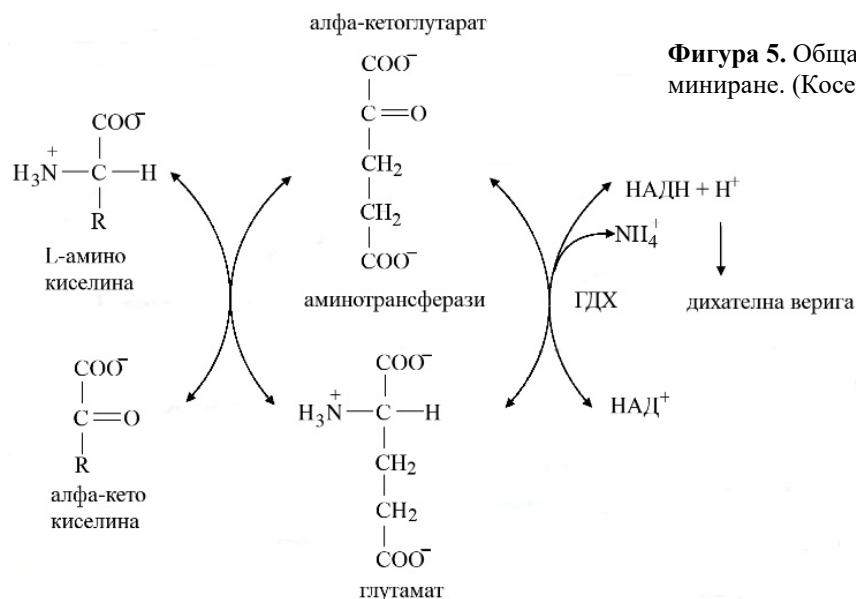
Като примери се представят реакциите, катализирани от аланин аминотрансферазата (АлАТ) и аспартат аминотрансфераза (АсАТ). Амино групата на глутамата се прехвърля към кетокиселината пируват. При отделяне на амино групата, глутаматът се превръща в α-кетоглутарат. Прехвърлянето на аминокиселината към пируват води до получаване на аминокиселината аланин. Тази реакция се катализира от аланин аминотрансферазата. Аспартат аминотрансферазата катализира прехвърляне на амино групата от глутамат към кетокиселината оксалацетат, който се превръща в аминокиселината аспартат. (Фиг. 4)



Фигура 4. Реакции, катализирани от аланин аминотрансферазата (АлАТ) и аспартат аминотрансфераза (АсАТ). (Косекова Г. и съавт., 2010)

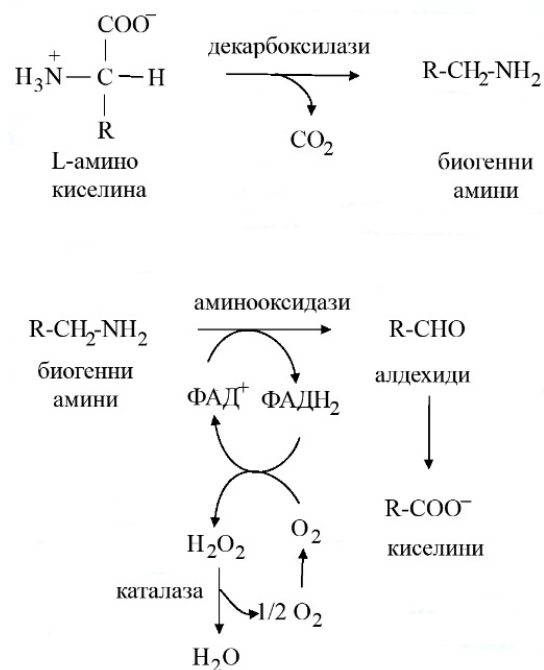
При трансаминирането аминогрупите не се отделят като амоняк, но процесът има значение за превръщането на кетокиселините (продукти от въглехидратната обмяна) в АК и обратно т.е. осъществява се връзка между обменните пътища на белтъци и въглехидрати. Чрез трансаминирането се регулира в качествено отношение АК резервоар в клетките в зависимост от нуждите на белтъчната биосинтеза.

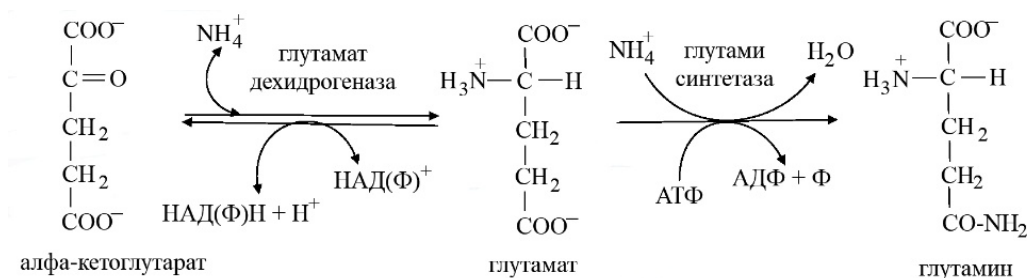
Трансдезаминиране на АК – комбинация между трансаминиране и окислително дезаминиране на глутамат, който е единствената АК, дезаминираща се с енергетичен добив. Ако АК се трансаминиран с α -кетоглутарат ще се получат различни кетокиселини и глутамат. Глутаматът се подлага на окислително дезаминиране, отделя се амоняк и отново се превръща в α -кетоглутарат, с което се затваря кръгов процес. Така се осигурява бързо и лесно дезаминиране на всички АК. (Фиг. 5)



Декарбоксилиране на АК – отделяне на CO_2 от АК. Процесът се катализира от декарбоксилази. Страничен обменен път за АК при растенията и животинските организми. При микроорганизмите декарбоксилирането на АК е широко застъпен процес и обикновено доминира над дезаминирането като главен обменен път. Получават се амини, които в малки количества упражняват физиологични и фармакологични ефекти върху организмите и се наричат биогенни амини. Отстраняването на биогенните амини от клетките включва окислително им дезаминиране до алдехиди. Процесът се катализира от аминooksидази, които действат с ФАД и в резултат на дехидрогенирането се получава H_2O_2 . Получените алдехиди се окисляват до карбоксилни киселини, които се включват в катаболитните пътища на мастните киселини (Фиг. 6).

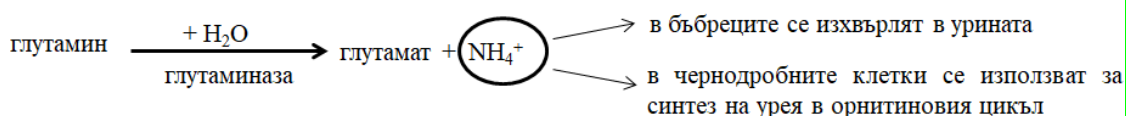
Обезвреждане на токсичния амоняк, отделен при разграждане на аминокиселините става чрез свързването му в използвана и нетоксична форма. Това става чрез редукивно аминиране на α -кетоглутарат и синтез на глутамин (Фиг. 7). Глутаминът се синтезира в мозъка и други тъкани. Тази аминокиселина е транспортна форма на включения в нея амоняк.





Фигура 7. Редуктивно аминирание на α -кетоглутарат и синтез на глутамин. (Косекова Г. и съавт., 2010)

Глутаминът лесно преминава през мембрани, тъй като е незареден и е източник на безвреден амониак, който може да се използва за различни синтези. По кръвен път се пренася до черния дроб, бъбреци и други тъкани. Под действие на ензима глутаминаза, глутамин се разгражда хидролитно до глутамат и амониев йон:



Разграждане въглеродния скелет на аминокиселините

В зависимост от това до какви метаболити се разграждат АК, се разделят на гликогенни, кетогенни и смесени (Фиг. 8).

Гликогенни АК – при разграждане се превръщат в предшественици на глюкозата (пируват, оксалацетат, α -кетоглутарат, фумарат, сукцинил-КоА).

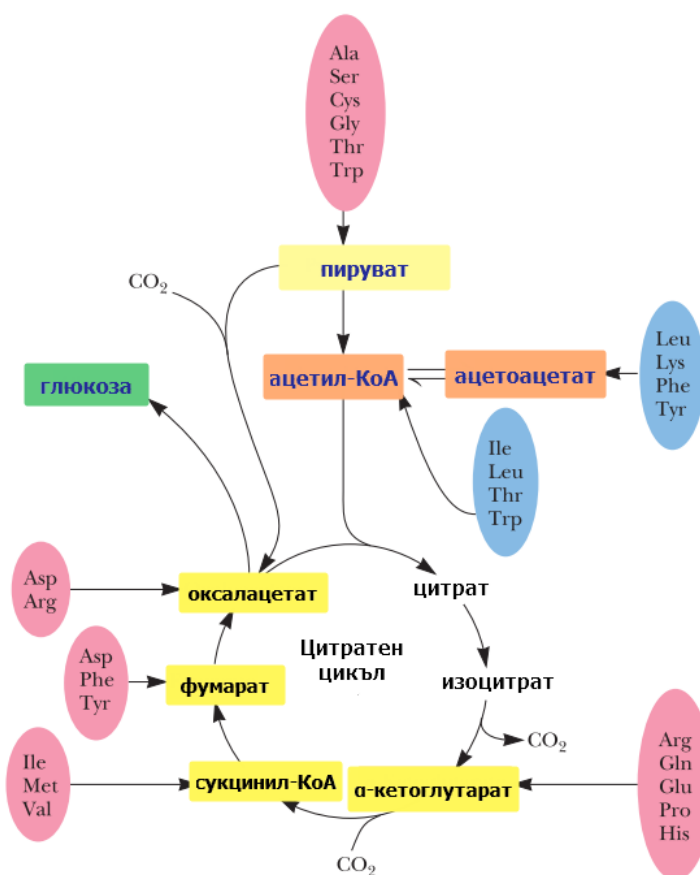
Кетогенни АК – при разграждане се превръщат в ацетоацетат, ацетил-КоА, ацетоацетил-КоА

Смесени АК – при разграждането им може да се получат както предшественици на глюкозата, така и на кетоновите тела.

Основни закономерности при разграждане на аминокиселини

Азотът на АК се отделя като амониак, а при аргинин се отделя като урея (карбамид). Съдържащите сяра АК губят свързаната сяра чрез пренасяне (при метионин), отделяне в неокислена форма (сулфид) или в окислена форма (сулфит). Въглеродните скелети на АК чрез различни реакции се включват в основните катаболитни пътища – гликолиза или цикъл на Кребс.

Някои АК достигат до две от посочените места, защото имат различни пътища на разграждане или при своя път на разграждане дават два различни продукта. Повечето АК дават отклонения от основните пътища за разграждане, което води до различни крайни продукти, някои от

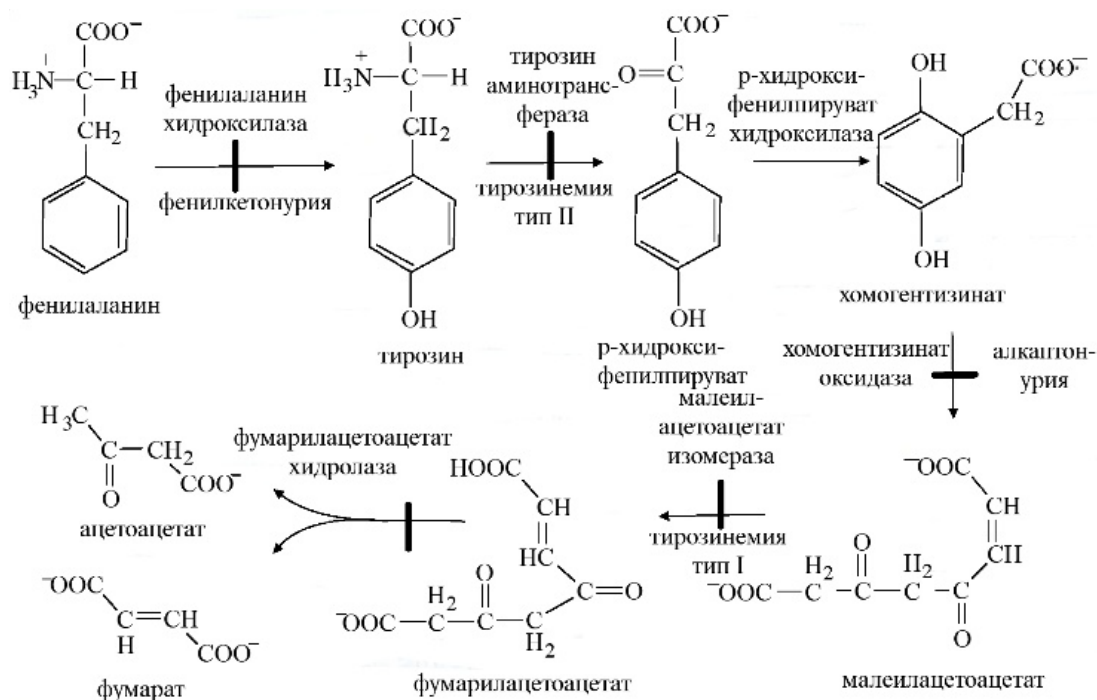


Фигура 8. Обобщена схема за разграждане на гликогенни аминокиселини и кетогенни аминокиселини. (R. Garrett & C. Grisham, 2010)

които имат специфично биологично действие. При някои от тези отклонения АК се превръщат една в друга. При разграждане на някои АК се отделят едновъглеродни групи: формилни (-CHO), формиминни (-CH=NH), хидроксиметилни (-CH₂OH), метилни (CH₃), които чрез трансферни процеси вземат участие в синтеза на важни от биологична гледна точка метаболити. Като преносител на тези групи се явява кофакторът тетрахидрофолиева киселина (ФКН4), която се получава от фолиева киселина (ФК). С ензимния белтък (специфични трансферази) ФКН4 се свързва посредством ковалентна връзка. В образуването на връзката взема участие карбоксилната група на глутаминовата киселина от кофактора.

Като пример се представя разграждане на фенилаланин и тирозин.

Нормалният път за разграждане на фенилаланин в тъканите е хидроксилирането му до тирозин – реакцията се катализира от фенилаланин хидроксилаза. (Представя се реакцията, Фиг.8-20, стр. 279) При недостатъчност на някои от ензимите, необходими за разграждането на тези две аминокиселини се развиват някои заболявания. При невъзможност да се хидроксилира, фенилаланинът се дезаминира до фенилпируват, който със своите производни фениллактат и фенилацетат се натрупват като крайни продукти – при деца това води до нарушаване на умственото развитие. Тирозинът може да се включи в синтеза на важни от биологична гледна точка съединения: хормони на щитовидната жлеза; хормона на сърцевината на надбъбречните жлези – адреналин; меланин – кожен пигмент или да се декарбоксилира до биогенния амин тирамин. (Фиг. 9)

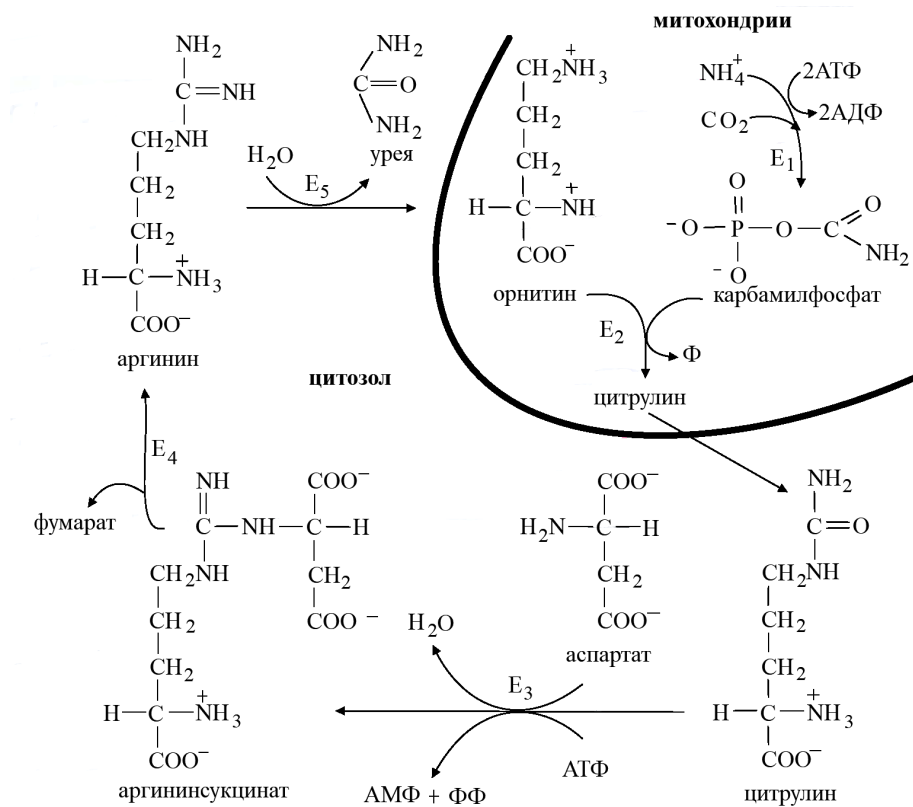


Фигура 9. Разграждане на фенилаланин и тирозин (Косекова Г. и съавт., 2010)

Крайно обезвреждане на амоняка в уреен (орнитинов) цикъл

Орнитиновият цикъл протича в чернодробните клетки – част от реакциите протичат в митохондриите, а друга част в цитозола. В този обменен път се извършва крайно обезвреждане на токсичния амоняк до урея. Уреята се синтезира от амоняк, CO₂ и азота от α-аминогрупата на аспартат. За получаване на 1 молекула безвредна урея в урейния цикъл се изразходват 3 молекули АТФ. Уреята е крайния продукт на азотния катаболизъм при човека (при човека липсва ензима уреаза, който разгражда уреята до CO₂ и 2NH₃). (Фиг. 10)

Орнитиновият цикъл е свързан с цикъла на Кребс (цитратен цикъл) чрез обмен на метаболити и енергия. Цикълът на Кребс доставя на урейния цикъл необходимите CO₂ и АТФ. Полученият фумарат в урейния цикъл, в митохондриите може да се включи в цикъла на Кребс и да се превърне в оксалацетат, който чрез трансаминиране да се превърне в аспартат (необходим за урейния цикъл).



Фигура 10. Орнитинов (уреев) цикъл. Ензими, катализиращи отделните реакции: E1-карбамилфосфат син-тетаза; E2 – орнитин транскарбамилаза; E3 – аргининсукцинат синтетаза; E4 – аргининсукциназа; E5 – аргиназа. (Косекова Г. и съавт., 2010)

1. Анатомо-морфологична характеристика на растенията

Растенията са многоклетъчни, предимно автотрофни организми, чиято структура отразява адаптацията им към неподвижен начин на живот и фотосинтетичен начин на хранене. Тяхната организация може да се разбере на две допълващи се нива: морфология, която се занимава с външния строеж на растението, и анатомия, която се отнася до вътрешната структура и подредбата на тъканите и клетките. Анатомичните и морфологичните белези са от съществено значение за растителната систематика и екология.

При излизане за живот на сушата, растенията оформят тяло (кормус), изградено от органи – специализирани части, които изпълняват определена функция. Органите са два вида: вегетативни и размножителни (генеративни). Основните **вегетативни органи** са **корен, стъбло и лист**. Те изпълняват функции, свързани с храненето при растенията, но участват и във вегетативното размножаване.

Коренът е разположен в почвата, рядко във водна или въздушна среда. Добре развит при семенните растения, с *неограничено нарастване*, положителен геотропизъм, *не образува листа и пъпки*. Коренът закрепва растението в почвата, всмуква вода и соли, но също натрупва резервни вещества, съжителства с бактерии (бактериотрофия) и гъби (микориза). **Морфологична характеристика.** Според произхода в онтогенезата корените биват *главен* (произлиза от зародишния корен на семето), *странични* (разклоненията на главния) и *добавъчни* (или *адвентивни* – образуват се от стъблото). Съвкупността от всички корени на едно растение образува *неговата коренова система*. Различават се два основни типа – *осева* и *брадата*. Осевата коренова система се състои от главния корен и неговите разклонения и е характерна за голосеменните и повечето двуседелни растения (фасул, глухарче). Брадата коренова система се състои от добавъчни корени и е типична за плауни, хвощове, папрати и едноседелни растения (житни). **Анатомична характеристика.** В младото коренче се различават следните зони надлъжно – *зона на делене* (кореновата меристема, обвита и защитена от гугла), *зона на нарастване* (оформят се предтъканите – протодермис, основна меристема и прокамбий); *зона на всмукване* (активно поглъща вода). В тази зона са оформени трайни тъкани, групирани в *първична кора* (по-добре развита) и *централен цилиндър* (*първично анатомично устройство*). Повърхността е покрита с *ризодермис* с коренови власинки, който поглъща водата и солите, а когато той отпадне, се заменя с покривна тъкан – *екзодермис*. В кората преобладава *паренхимна тъкан*. В централния цилиндър основно място заемат проводящите тъкани под формата на *радиално снопче* (среща се само в корените). На границата между двата цилиндъра се разполагат *ендодермис* (физиологична бариера) и *перидермис* (образува странични корени). При многогодишните растения (голосеменни и двуседелни) вторичните меристеми камбий и фелоген действат и се формира *вторична дървесина* и *вторична кора* (*вторично анатомично устройство*). Във вторичната дървесина годишните пръстени са неясни, радиалните паренхимни лъчи са широки, многоредни (за разлика от стъблото), дървесинният паренхим е силно представен. В кората се разполага вторичното лико, перидермис и впоследствие мъртва кора. Кората е гладка, тъй като фелогенът действа дълги години на едно и също място. **Видоизменения на корена** във връзка с поемането на нова функция са: коренови грудки (салеп), кореноплоди (морков), фотосинтезиращи корени (дяволски орех), въздушни корени (епифитни орхидеи), дихателни корени (блатен кипарис).

Стъблото е надземен орган с *неограничено нарастване*, състоящ се от *възли и междувъзлия*. Във възлите се разполагат *пъпки* и *листа*. Пъпките са скъсени клонки в състояние на покой, които впоследствие се развиват и образуват клонки с листа и/или цветове. Листата във възел могат да са по един (последователно листоразположение – круша), два (срещуположно листоразположение – мъртва коприва) или повече (прешленесто листоразположение – зокум). Стъблото дава опора на растението и осъществява връзката между корена и листата, пренасяйки веществата в две посоки – вода и соли от корена към листата и органични вещества от листата до останалите части. **Морфологична характеристика.** Стъблото се характеризира по *форма, размери, разполагане в пространството, разклоняване и продължителност на живот*. Според формата

на напречния пререз, стъблата най-често са *кръгли* или *ръбести* (три-, четири- или многоръбести), което е генетично детерминирано и е таксономичен белег. По дължина и диаметър има вариране в широки граници (посочи примери). Стъблата заемат най-често са *изправени* (топола, дъб, пшеница), *приповдигнати* (машерка), но могат и да *лежат* по земята (тиква), да *пъльзят*, пускайки корени във възлите (ягода), да се *катерят* с мустачета, кукести трихоми, адвентивни корени (грах, бръшлян) или *увиват* (хмел) по други растения или предмети. Начинът на разклоняване е три вида – *дихотомично* (върхът се цепи на две и формира два клона; при плауни), *моноподиално* (страничните клонки не надрастват върха; голосеменни растения) и *симподиално* (едно, две или повече разклоненията надрастват върха – *монохазно*-липа, бук; *дихазно*-имел; *плейохазно*-млечки). Стъблата живеят един сезон (*едногодишни*) или надебеляват и живеят повече (*многогодишни*). Едногодишни са стъблата на тревистите растения (едногодишни, двугодишни, многогодишни треви), а многогодишни – на дървесните растения (дървета, храсти и полухрасти). Най-дълго живеят дърветата секвоя, баобаб, драконово дърво (> 5000 г.). **Анатомична характеристика.** Във връзка с провеждащата функция на стъблото, най-силно са развити проводящите тъкани, разположени под формата на проводящи снопчета или цялостни пръстени, ориентирани с ликото навън (провежда асимилатите) и с дървесината навътре (провежда водата). Младите стъбла с *първично устройство* показват известни различия в типа на снопчетата и начина на разполагане. При едноседелните растения снопчетата са колатерални затворени, разпръснати сред основен паренхим и обхванати от склеренхимно влагалище. При двуседелните растения снопчетата са отворени колатерални или биколатерални, кръгово разположени (тревисти видове), а при дървесните видове младите стъбла са с неснопчесто устройство, с наличие на прокамбиален пръстен между лико и дървесина. При стъблата на двуседелните растения обикновено централният цилиндър, в който са проводящите тъкани, е ясно отделен от първичната кора, поради развитие на гранични тъкани (ендодермис, перицикъл). Първичната кора е покрита с епидермис, съдържа паренхим и механични тъкани (коленхим при двуседелните и склеренхим при едноседелните). В резултат на дейността на вторичните меристеми камбий и фелоген стъблата на голосеменните и голяма част от двуседелните растения надебеляват и при тях се формират два тъканни комплекса (*вторична дървесина и вторична кора*). *Вторичната дървесина* заема по-голяма част от обема на стъблото. Тя е с ясно оформени *годишни пръстени* (сезонност в дейността на камбия в умерените ширини), по чийто брой може да се съди за възрастта на растението, а по ширината – за условията на месторастене. Дървесината на покритосеменните растения се състои основно от *трахеи* (тръбици по които се движи водата, съставени от много клетки-членчета), но съдържа още *дървесинни фибри* (придават здравина), *дървесинен паренхим* (натрупва резервни вещества, запущва стареещата дървесина с мехурести израстъци – тили) и *отделителни структури* (танинови клетки, млечни цеви и др.). За дървесината на голосеменните е характерен еднороден трахеиден строеж (*трахеиди* – едноклетъчни водопровеждащи структури) и наличие на *смолести канали*. *Вторичната кора* съдържа вторичното лико и вторичните покривни тъкани, образувани от фелогена (перидермис и мъртва кора). *Вторичното лико* отвежда асимилатите по решетъчни елементи (*решетъчни клетки и решетъчни цеви*), които са живи клетки, с целулозни клетъчни стени. Решетъчните клетки са по-примитивни и се срещат при папратообразните и голосеменните растения, а решетъчни цеви са при покритосеменните растения (съставени от клетки-членчета), обградени с по-малки *придружаващи клетки* (поддържат живота на решетъчните цеви, които са без ядра). Съставни части на вторичното лико също са *ликов паренхим* (резервна функция), *ликови фибри*, *склереиди* (опорна функция) и *отделителни структури* (млечни цеви, слюзни и кристалоносни клетки, смолести канали). За вторичната дървесина и вторичното лико е характерна радиална система от живи паренхимни клетки (*радиални и сърцевинни лъчи*), които провеждат вещества по посока на радиуса. *Мъртвата кора* при многогодишните дървета и храсти се образува, поради многократно залагане на фелогена. Тя е многослойно покритие, комплекс от тъкани, които дават надеждна защита от механични повреди, от температурни колебания и др. Мъртвата кора бива *гладка* (бук, трепетлика), *напукана* (дъб, орех), *опадлива* (на ивици – бреза; на люспи – бор, чинар). **Видоизменения на стъблото:** *коренища* (здравец, тряска), *тръни* (глог), *стъблени грудки* (картоф), *стъблени мустачки* (лоза), *филокладии* (миши трън), *сукулентни стъбла* (кактуси, африкански млечки) и др.

Листът е надземен орган с *ограничен растеж* и обикновено *ploska форма*. Той не образува други органи. Много е *пластичен* – търпи изменения под влияние на екологичните фактори. Листът осъществява основно процесите фотосинтеза, газообмен и транспирация. **Морфологична**

характеристика. Листът се състои от *листна петура (пластинка)*, *листна дръжка*, *листна основа* и *прилистници*. Най-важната част е петурата, която фотосинтезира, обикновено плоска, с различна форма и размери. Тя може да е една (*прост лист*) или да са повече (*сложен лист* – двоен, троен, четворен, дланест, перест). Прикрепва се към стъблото с дръжка, а когато дръжката липсва, листът е *приседнал* (с варианти – *стъблеобхващащ*, *прободен*, *низбягващ*). Мястото на прикрепване е листната основа, която при житни и сенникоцветни разраства и образува *листно влагалище*, обхващащо възела и защитаващо пъпките. *Прилистниците* са два чифтни израстъка в основата на дръжката, които могат да са зелени и да фотосинтезират (жълто секирче), да са превърнати в бодли (салкъм, драка), да са малки люсповидни (бреза, памук) или изобщо да липсват (череша, бук). Листната петура е пронизана от множество жилки (провеждат веществата и дават опора), които според начина на раполагане оформят различно *жилкуване* (дихотомично, просто, пересто, дланесто, успоредно и дъговидно). Листната петура има различна *форма* (игловидна, линейна, продълговата, ланцетна, овална, кръгла, ромбична, лопатовидна, яйцевидна и др.), което се определя от съотношението дължина:ширина, формата на върха (закръглена, остра, осилеста, вдлъбната и др.) и на листната основа (закръглена, клиновидна, бъбрековидна, сърцевидна, стреловидна, копиевидна и др.). Периферията на листа, т.нар. *ръб на листната петура* може да е цялокраен (люляк), но може да се вдава навътре, но не повече от $\frac{1}{4}$ и да бъде назъбен (коприва), напилен (бряст), вълновиден (волски език), ресничест (росянка) и др.. Когато вдаванията са понавътре, се говори за *начленяване на листната петура*, което има три степени (врязан лист – $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{3}$, нарязан лист – $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$, разделен лист – $> \frac{1}{2}$, в двата варианта – дланест и перест). **консистенция** (тревиста, кожеста, месеста, ципеста), разлики в размерите (*анизофилия*) и във формата (*хетерофилия*) при средната формация листа. **Анатомична характеристика.** Основната тъкан на листата е *фотосинтезиращият паренхим (хлоренхим)*. Той заема цялото пространство между двата епидермиса, откъдето идва и другото наименование – мезофил. *Епидермис* покрива и предпазва листата, най-често еднослоен, с устица и трихоми (покривни и железисти). Устицата, осъществяващи газообмена и транспирацията, могат да се разполагат по долната повърхност (дървесни видове), по двете повърхности (тревисти растения), по горната повърхност (плаващи листа на водни растения) или да липсват (потопени листа на водни растения). Проводящите тъкани са най-често под формата на затворени колатерални снопчета, около които се разполагат механични тъкани – образуват се *жилките на листата* (листния скелет). Според разполагането спрямо земната повърхност и осветяването се формират два листни типа *при покритосеменните растения* – *двулицев* и *еднаквилицев лист*. При *двулицевия (бифациален) лист*, който заема успоредно спрямо земната повърхност положение и се нагрява повече отгоре, мезофилът е диференциран на *стълбчест (палисиден)* и *гъбчест (рехава) паренхим*. Стълбчестият паренхим е към горната повърхност, с удължени цилиндрични клетки, съдържа повече хлоропласти (по-активно фотосинтезира), а гъбчестият – към долната повърхност, с неправилни по форма клетки, по-рехава разположени (улеснява газообмена). Двата епидермиса също се различават по размера на клетките, дебелината на кутикулата и разполагането на устицата – горният е без устица, с по-дебела кутикула, по-едроклетъчен. *Жилките* пронизват мезофила на листата и заемат пространството между двата епидермиса, обхванати от паренхим или склеренхим. Бифациалните листа са характерни за повечето двуседелни растения. Повечето от тях са прикрепени с листна дръжка във възлите. *Еднаквилицевия (еквифациален) лист* заема изправено положение и е с еднакво осветяване към двете повърхности. Еднакви са както покривните тъкани, така и структурата на мезофила. Проводящите снопчета са затворени колатерални и разположени в една или две редици. Еднаквилицевите листа са характерни за едноседелните растения. При *иглолистните голосеменни растения* листата са игловидни (*иглици*) и живеят по-дълго от един сезон (2-6 години) Във връзка с презимуването, в тяхната анатомичната структура има някои специфични особености. Епидермисът е изграден от *мъртви основни клетки*, с дебел слой *кутикула* и *въсъци*. *Устицата* са разположени *във вдлъбнатини (крипти)*. Здравината на иглицата се повишава от *склеренхимен хиподермис* под епидермиса. *Мезофилът* е еднороден, клетките му са със *силно нагънати навътре стени*. Сред мезофила има *смолести канали*. Еднослоен ендодермис обгражда централна безцветна зона, в която се разполагат едно или две *отворени колатерални снопчета*. **Видоизменения на листата:** бодли (кактуси), мустачки (грах), луковици (месестите люспи, лале), ловни апарати (венерина мухоловка), сукулентни листа (алоо, дебелец).

2. Размножителни структури и размножаване при спорови и семенни растения

Размножителните органи на растенията обслужват безполовото и половото размножаване. Размножаването се характеризира с *редуване на поколения*, включващо хаплоиден *гаметофит* (полово поколение, образува гамети) и диплоиден *спорофит* (безполово поколение, образува спори). Въз основа на естеството на техните репродуктивни структури растенията се класифицират като спорови и семенни растения.

2.1 Спорови растения

Споровите растения се размножават чрез спори, които са хаплоидни едноклетъчни репродуктивни единици, образувани чрез мейоза и способни да се развият в нов гаметофит без оплождане. При кормусните спорови растения (мъхови, плаунови, папратови, хвощови) размножителните органи са: *спорангии* (образуват спори), *антеридии* (мъжки полови органи, м. гаметангии – образуват подвижни сперматозоиди) и *архегонии* (женски полови органи, ж. гаметангии – образуват една яйцеклетка). При тях е ясно изразено редуването на поколенията. При мъховете половото поколение (*гаметофит*) е доминиращо поколение, фотосинтезиращо и дългоживеещо, докато безполовото поколение (*спорофит*) не е самостоятелно – развива се върху гаметофита и се храни от него. При плаунови, папратови и хвощови спорофитът е доминиращ, фотосинтезиращ, независим, добре развит и образува спорангии със спори. Гаметофитът е малък, краткоживеещ, често със сърцевидна форма (протал) и образува половите органи и гаметите. За оплождането е необходима влажна среда за придвижване на сперматозоидите до архегона. От оплодената яйцеклетка (зигота) се развива новото растение, представляващо спорофит.

Еволюционни тенденции в размножаването на споровите растения:

- поява на *два вида спори (мегаспори и микроспори)*, което осигурява разделяне на половете (хетероспорови растения – бронец, шилолист, плаваща лейка);
- *съкращаване на гаметофита* като време за развитие и загуба на самостоятелност (остава в спората, където е защитен и се храни от нея).

2.2 Семенни растения

Преходът от спори към семена представлява основен еволюционен напредък, отразен в нарастваща структурна специализация и репродуктивна независимост от водата. Те се разделят на две групи: голосеменни и покритосеменни.

При голосеменните растения се образуват *шишарки* (имат вдървесиняла ос със спирално наредени люспи) със *семена*. В *мъжките шишарки*, върху ципести люспи се образуват прашници (микроспорангии) с прашцови зърна (микроспори), в които се образува мъжкия гаметофит (2 клетки – сифоногенна и антеридна, последната образува две мъжки неподвижни гамети, *спермии*). В *женски шишарки*, върху семенни люспи, се образуват *семецьки*. Семецьката е новообразование за семенните растения, която е видоизменен мегаспорангий (нуцелус), обвит с един слой (*интегумент*). В нея се формират архегонии, всеки с по една яйцеклетка. Зрелият прашец се пренася от вятъра до женските шишарки – осъществява се *опрашване*. Следва оплождане (*сифоногамия*), за което не е необходима вода, тъй като прашеца образува прашцова тръбица (сифон), доставяща спермиите до яйцеклетката и единият я опложда – образува се зигота и зародиш. Семецьката се превръща в *семе*, носещо *зародиша* (зародишно коренче, зародишно стъбълце и няколко зародишни листа), *хранителна тъкан* (ендосперм) и *семенна обвивка*. Образованите семена са разположени открито (голи) върху шишарковите люспи – *голосеменни растения*.

При покритосеменните растения размножителните органи са *цветовете и плодовете* със *семената*. *Цветът* е скъсена и видоизменена клонка, в която се образуват спори и гамети. Цветовете може да единични или събрани на групи – *съцветия*. Цветът се състои от *тичинки* и *плодници* (фертилни части), и *околоцветник* от *чапка* и *венче* (стерилни части). Околоцветникът е *двоен*, когато е с чашка и венче (череша) или *прост* – с еднакви листчета (лале). Всички части са разположени върху *цветно легло* и заловени с *цветна дръжка*. Околоцветникът не участва пряко в размножаването, има защитна функция и съдейства за привличане на насекоми-опрашители чрез ярка багра и аромат. Според симетрията на цветните части цветовете са *радиалносиметрични*, *моносиметрични*, *асиметрични*. Според пола цветовете са *двуполови* (с тичинки и плодници) и *еднополови* (мъжки – с тичинки и женски – с плодници). *Тичинките* имат дръжка и прашник, в чиито гнезда се образуват прашцови зърна. Във всяко зрънце се формира *мъжкото половото поколение* (вегетативна клетка и два спермия). *Плодникът* е новообразование за цвет-

ните растения, който е възникнал при срастването на плодолисти. Състои се от завръз, стълбче и близалце. В завръза се разполагат *семецьки*. В тях се образува *женското половото поколение* – *зародишна торбичка (ембриосак)*, съставена от 7 клетки, едната от които е яйцеклетката. Зрелият прашец се пренася от прашника на тичинката до близалцето на плодника чрез животни, вятър, вода (*опрашване*). Следва *оплождане* чрез сифоногамия, като само при покритосеменните растения има *двойно оплождане*, с участие на двата спермия. Семецьката се превръща в семе. ***Семето*** носи *зародиш*, *хранителна тъкан* и е обвито със *семенна обвивка*. Зародишът има зародишно коренче, зародишни листа (семеделни – 1 или 2), зародишно стъбълце и пъпка, и при покълването на семената формира ново растение. Хранителната тъкан (ендосперм) е триплоидна, резултат от оплождане. Семената са покрити и защитени от плод – *покритосеменни растения*. ***Плодът*** се образува от стената на завръза на плодника (*истински плод*), но може да участват и други цветни части („*лъжлив плод*“ – ябълка, шипка, ягода). Плодовете биват *сухи* и *сочни* според консистенцията на плодната обвивка (перикарп) след узряването. Сухи плодове са: *мехунка* (магнолия), *боб* (фасул, грах), *кутийка* (мак, памук), *шушулка/шушулчица* (синап/овчарска торбичка), *двойна крилатка* (явор), *двойна семка* (сенникоцветни – ким, анасон), *орех* (липа, леска), *жълъд* (дъб), *плодосемка* (сложноцветни – слънчоглед, глухарче), *зърно* (житни – пшеница, ечемик) и др. Сочни плодове са: *костилка* (череша, слива), *сборна костилка* (малина, къпина), *ягода* (домат, боровинка), *лимоновидна ягода* (лимон, портокал). Плодовете подпомагат разпространението на семената.

За талусните (низши) растения е характерно примитивно устройство на вегетативното тяло (талус или талом), без формиране на стъбло и листа. Талусът може да бъде едноклетъчен или многоклетъчен, микроскопичен или с големи размери, разнообразен по форма. Въпреки че по морфологично устройство, понякога талусът може да наподобява кормусно растение (Charophyta, Phaeophyta), анатомично той се състои от еднородни клетки, които не формират специализирани тъкани и в частност специализирани проводящи тъкани, характерни за всички висши растения с изключение на мъхообразните. Основно към талусните растения се отнасят водораслите, гъбите и лишеите. Към тях можем да отнесем и Синьозелените водорасли (Cyanoprokaryota). Въпреки, че те не са част от Царство Растения (Vegetabilia), а прокариотни организми, имат наличие на хлорофил *a* (рядко и хлорофил *d*); β -каротен; ксантофили и др, които им дават възможност да фотосинтезират.

1. Надцарство PROKARYOTA – ПРОКАРИОТНИ ОРГАНИЗМИ

1.1. Отдел Cyanoprokaryota – Синьозелени водорасли

Обща характеристика: Разпространени са предимно във водни басейни. Извън водата се срещат в почвата, пещери, вечни снегове и ледове. В сладководни басейни често се развиват масово и предизвикват „цъфтеж“ на водата. Някои видове отделят токсини, които са силни отрови за водните организми. Те участват като симбионти с други организми, най-вече с гъби, при което се получават лишеи. Синьозелените водорасли са едноклетъчни, колониални и нишковидни. При нишковидните синьозелени водорасли нишката е изградена от редица от клетки – трихом, обхванат от различно развито слизесто влагалище. Особеностите на нишката имат важно таксономично значение. Когато всички клетки от нишката са еднакви по морфология и функция се говори за хомоцитна нишка (*Spirulina*, *Oscillatoria*). При хетероцитната нишка (*Anabaena*, *Aphanizomenon*) клетките са с различна морфология и функции. При редица нишковидни синьозелени водорасли нишките могат да бъдат разклонени. Клетките на синьозелените водорасли са с прокариотна структура. Клетката е обхваната от 4-пластна стена, която съдържа веществото муреин (както при Грам- бактерии). Над клетъчната стена има слизесто влагалище (капсула) от полизахариди, което може да бъде безцветно или обагрено в различни цветове. В клетката на цианобактериите се различават 2 зони – периферна и централна. В централната част се намира генетичният материал (циклична ДНК молекула) и липсват пигменти, затова тя е безцветна – центроплазма. Центроплазмата функционира като ядро, но не е отделена чрез цитомембрани. Периферната зона е обагрена – хроматоплазма. В нея се намират пигментите, локализирани в частици – фикобилизоми. Някои планктонни видове образуват в клетките си газови вакуоли, изпълнени с газообразно вещество. Газовите вакуоли олекотяват клетките и ги задържат във водата, без да потъват. При някои нишковидни синьозелени водорасли се наблюдават особени клетки – хетероцисти. Те са по-едри и с дебела клетъчна стена. В тях липсват пигменти и те не фотосинтезират. В хетероцистите се извършва процесът азотфиксация. Пигментният състав на синьозелените водорасли включва: хлорофил *a* (рядко и хлорофил *d*); β -каротен; ксантофили – миксоксантофил, зеаксантин, ехиненон, осцилаксантин и фикобилини. Фикобилините биват фикоцианин, алофикоцианин (сини пигменти) и фикоеритрин (червен пигмент). Като основно резервно вещество се натрупват цианобактериална скорбяла, цианобактериални зърна и полифосфати. Размножават се чрез делене на клетката на две, спори или чрез хормогонии (при нишковидните представители). За преживяване на неблагоприятните условия се образуват и трайни стадии – акинети. В цикъла на развитие при синьозелените водорасли липсва полов процес. **Значение.** За обогатяване на първичната земна атмосфера с кислород. При цъфтеж продуцират токсини (цианотоксини: микроцистин, цилиндроспермопсин, сакситоксин, анатоксин и др.), силно отровни за водните организми, а при масово развитие в питейни язовири и за човека. Хранителен източник (род *Spirulina* и *Nostoc*). Фиксират атмосферен азот и повишават почвеното плодородие. Перспективен източник за получаване на биогорива. **Представители:** *Gloeocapsa turgida* (Глеокапса); *Spirulina platensis* (Спирулина платензис); *Oscillatoria limosa* (Осцилатория);

Gloeotrichia natans (Глеотрихия); *Anabaena spiroides* (Анабена); *Stigonema informe* (Стигонема); *Scytonema sp.* (Сцитонема) и др.

2. Надцарство EUKARYOTA – ЕУКАРИОТНИ ОРГАНИЗМИ

2. Царство Vegetabilia – Растения

2.1. Отдел Rhodophyta – Червени водорасли

Обща характеристика. Повечето са морски бентосни организми. Баграта им варира от розово- до тъмночервено. Червените водорасли са топлолюбиви – към полюсите видовото им разнообразие и обилие намалява. Сладководни са неголям брой от примитивните червени водорасли, които обитават студени добре аерирани води в горните течения на реките. Вегетативното тяло (талус) е разнообразно. Малко на брой представители от нисшите червени водорасли са едноклетъчни (*Porphyridium*, *Chrootheca*). Повечето видове са многоклетъчни и представляват различно оформени нишки (*Bangia*, *Corallina*). При най-висшите представители тялото е масивно и съставено от гъсто преплетени и слепени нишки (псевдопаренхимен талус). Най-едрите представители достигат до 1 м. Клетката има клетъчна стена, която може да се минерализира с CaCO_3 . Калцифицирането е характерно за сем. *Corallinaceae*, от което в тропически води има видове, които наподобяват повече на камъни (*Lithothamnion*), отколкото на растения. В Черно море се среща *Corallina officinalis*, при която минерализирането е по-слабо. Хроматофорите (родопласти), при по-примитивните червени водорасли са единични, едри (обикновено звездовидни), с централно разположен пиреноид. При по-висшите представители, родопластите са многобройни лещовидни или лентовидни, без пиреноид. Комплексът от пигменти включва: хлорофил а, α - и β - каротен, лутеин, зеаксантин и фикобилини. Цветът на червените водорасли се определя от количественото съотношение на фикобилините, които са три вида: фикоеритрин (червен пигмент), фикоцианин (син пигмент) и алофикоцианин (син пигмент). Фикобилините са помощни пигменти, които повишават ефективността на хлорофил а, при намалените светлинни условия в по-дълбоките слоеве на водните басейни. Благодарение на това червените водорасли обитават по-големи дълбочини. Като резервни вещества те отлагат основно червеноводораслова скорбяла. Характерно за червените водорасли е и ниското съдържание на мазнини. Имат различни начини за размножение. Едноклетъчните представители се размножават вегетативно чрез делене на две. При едрите морски макрофити е широко разпространена фрагментацията. Многоклетъчните представители се размножават безполово чрез спори (моно-, тетра- или карпоспори). Половото размножаване е оогамно. В цикъла на развитие на червените водорасли се редуват едно хаплоидно поколение (гаметофит) и две диплоидни – карпоспорофит и тетраспорофит. При повечето видове гаметофитът и тетраспорофитът са изоморфни (*Polysiphonia*), но има и случаи на хетероморфна смяна (*Porphyra*, *Bangia*). **Значение.** Добиване на агар, карагенан и агароид, които се извличат от клетъчните им стени. За храна – директно като зеленчуци в свежо състояние. Калциевите съединения са полезни за профилактика и лечение на остеопороза. За наторяване на почвите. За хранене на домашните животни. Добри биоиндикатори. **Представители:** *Porphyra leucosticta* (Порфира леукостикта); *Phylophora nervosa* (Филофора нервоза); *Corallina officinalis* (Коралина); *Ceramium sp.* (Церамиум) и др.

2.2. Отдел Bacillariophyta – Кремъчни водорасли

Обща характеристика. Най-богатият на видове отдел сред еукариотните водорасли. По брой видове те са на второ място в растителното царство, след семенните растения. Кремъчните са важна съставна част на фитопланктона и фитобентоса в моретата и сладководните басейни. Срещат се също в почвата и върху влажни скали. Повечето видове са студено- и сенколюбиви. Кремъчните водорасли са изключително едноклетъчни микроскопични организми. Тялото е една клетка или колония от клетки, свързани чрез пихтия или специални израстъци. Клетките са обхванати от прозрачна черупка, съставена основно от полимеризирана силициева киселина – кремъчно вещество. Черупката (тека) прилича на кутия, съставена от две части: по-голяма (епитека) и по-малка (хипотека). Хипотеката почти напълно влиза в епитеката, както дъното в похлупака на кутия, но те не са свързани помежду си и често се разединяват. От своя страна епи- и хипотеката се състоят от две структурни части: дъно и пояс. Поради това специфично устройство, черупката на кремъчните водорасли има различен изглед откъм дъното (в анфас) и откъм пояса (в профил). Дъното при различните таксони има различни скулптурни (четинки, шипчета) и струк-

турни образования. Повечето от структурните образования са отвори (пори, камери), чрез които клетката осъществява обмен на вещества с околната среда. Те са видово специфични и имат важно значение при определяне на кремъчните водорасли до вид. Въз основа на формата и симетрията на дъното на черупката се различават два основни типа клетки при кремъчните: центричен тип – дъното е кръгло или представлява правилен многоъгълник (с три и повече равнини на симетрия); пенатен тип – дъното е повече или по-малко удължено (с до две равнини на симетрия или без симетрия). При част от видовете с пенатен тип клетки по едното или и двете дъна има структура, която се нарича пролука. Кремъчните водорасли, които имат пролука са в състояние да извършват активни движения. Живата част – протопластът на клетката е с бистра стъкловидна цитоплазма, източена по периферията на клетката. Централната част на клетката е заета от една или няколко вакуоли. Хроматофорите (феопласти) са дисковидни (при центричните) или пластинковидни (при пенатните). Ядрото е с централно положение, поместено в специално цитоплазмено мостче. Фотосинтетично активният им комплекс включва хлорофил *a* и *c*, β -каротен и ксантофилите диатоксантин, диадиноксантин, фукоксантин, ехиненон и др. Наличието на фукоксантин определя жълто-кафявата багра на феопластите и позволява фотосинтезата да протича на по-голяма дълбочина. Като основни резервни вещества се отлагат хризоламинарин и често мазнини под формата на мастни капки. Основен начин за размножаване при кремъчните е чрез делене на клетката на две, откъдето идва другото им популярно име – диатомови водорасли (гр. *diatomos* – разделям на две). При деленето всяка дъщерна клетка получава $\frac{1}{2}$ от черупката на майчината клетка, която използва като епитека и новообразува своя собствена хипотека. В резултат това едната дъщерна клетка запазва размерите на майчината клетка, но втората е с по-малки размери. При всяко следващо делене намаляването на размерите продължава. Възстановяването на нормалните за вида размери става чрез растежни спори (ауксоспори). Те представляват зиготи, получени след полов процес. Имат еластична (несилифицирана) обвивка и активно нарастват, докато достигнат нормалните за вида размери. След това образуват черупка и започват да се делят. Поради липса на безполово размножаване, цикълът на развитие на всички кремъчни е диплонтен (редуват се само ядрени фази, без да има смяна на поколенията). **Значение.** Основна съставна част на фитопланктона и фитобентоса на сладководните и морските басейни – първични продуценти. Те са и фактор за биологичното самопречистване на водните екосистеми. В моретата преобладават центричните, а в сладките води – пенатните представители. Редица видове са приспособени към точно определени условия на средата (стенобионти) и се използват като биоиндикатори за соленост, киселинен показател (рН), замърсяване на водите с различни вещества. Поради високото съдържание на мазнини, те се отглеждат в индустриални култури за добив на липиди или се използват като висококалорична храна за малките рибки в рибовъдни басейни. Черупките на кремъчните водорасли, които съставляват основната част от диатомита (кизелгур), който представлява лека и фино порьозна скала. От диатомитите се изготвят хранителни добавки, богати на лесно усвоим силиций, под формата на биологично активна ортосилициева киселина. Те влизат в състава на паста за зъби – като мек абразив, прилагат се и за излъскване на метални повърхности. Тази фино порьозна скала се използва за направа на специални филтри (при производството на захар, бира, вина, антибиотици), като изолационен материал (на високи и ниски температури), за изработване на леки тухли и керемиди. Диатомитът има инсектицидни свойства (абсорбира восъците от хитиновия скелет на насекомите) и се прилага в много страни за дълготрайно съхранение на зърнени храни в складове. В стратиграфията диатомитите се използват за определяне възрастта на земните пластове. **Представители:** *Pinnularia sp.* (Пинулария); *Pleurosigma sp.* (Плеуросигма); *Gyrosigma sp.* (Гиросигма); *Melosira varians* (Мелозира); *Tabellaria flocculosa* (Табелария флокулоза); *Tabellaria fenestrata* (Табелария фенестрата) и др.

2.3. Отдел Phaeophyta – Кафяви водорасли

Обща характеристика. Талусът е жълто- до тъмнокафяв, поради наличието на каротеноида фукоксантин и специфични за кафявите водорасли танини. Те са прикрепени, почти изключително морски (99% от видовете). За разлика от червените водорасли, кафявите са студенолюбиви – развиват се по крайбрежията на умерените и студените региони. Те са важна съставна част на фитобентоса в приливно-отливната зона и литорала на дълбочина до 60 м. При масово развитие образуват подводни „гори“ и „ливади“ и са важни продуценти на органична материя и кислород. Макар и рядко се срещат и в неприкрепено състояние – например видове от род *Sargassum* в Саргасово море. Малко кафяви водорасли са разпространени в сладки води. Кафявите водорасли са без изк-

лучение многоклетъчни. Морфологичното разнообразие е голямо и обхваща от микроскопични разклонени нишковидни форми до макроскопични масивни форми. При напречен пререз на талуса при високоорганизираните представители от *Laminariales* и *Fucales* има диференцирана сърцевина (от едри клетки с малко феоласти) и кора (от дребни клетки с повече феоласти). Някои кафяви водорасли достигат сложна морфологична диференциация. Най-висшите наподобяват кормусни растения, с оформени корено-, стъбло- и листоподобна части, и огромни размери. Такива са гигантските представители от разред *Laminariales*, обединени под името *келп*, които обитават тихоокеанското крайбрежие на Северна и Южна Америка. Рекордьор по размери, признат за най-едрото водорасло в света е *Macrocystis pyrifera* – със средна дължина 46 м, но отделни екземпляри достигат 60 (100) м. В Черно море, най-едрото водорасло е също кафяво – *Cystoseira barbata* (Брадата цистозира), с размери – 1,5 (1,7) м. Клетките на кафявите водорасли са едноядрени. Характерна особеност е наличието на малки вакуоли около ядрото – физоди, изпълнени със специфични за кафявите водорасли танини (флоротанини). При съприкосновение с въздуха те се окисляват и оцветяват в тъмнокафяво, поради което изхвърлените на брега водорасли стават тъмнокафяви до черни на цвят. Хроматофорите (феоласти) имат жълто- до тъмнокафява багра. Те са по 1 или повече в клетка, с дисковидна или лентовидна форма. При някои видове в състава на феоластите има пиреноид. Комплексът от пигменти включва хлорофили *a* и *c*, β -каротен, фукоксантин, диатоксанти, диадиноксанти, виолаксанти, антраксанти, неоксанти. Като резервни вещества се натрупват хризоламинарин, манитол (захарен алкохол) и мастни капки. Много кафяви водорасли акумулират в тялото си йод (0,03-0,3%). Широко разпространен начин за размножаване при кафявите водорасли е вегетативното – чрез фрагментация или специални тела. Безполовото се осъществява чрез зооспори (подвижни) и апланоспори (неподвижни), които възникват след мейотично делене в еднокамерни спорангии. При половото размножаване гаметите се образуват в многокамерни полови органи (гаметангии). По отношение на циклите на развитие съществува разнообразие. В жизнения цикъл на повечето кафяви водорасли се редуват две поколения – спорофит и гаметофит. При представителите на гигантския келп самото водорасло е спорофитното поколение. То се размножава чрез продуциране на голямо количество хаплоидни подвижни спори в обкръжаващата среда. Те прорастат в гаметофитно поколение, което е микроскопично. В този случай смяната на поколенията е хетероморфна. При други кафяви водорасли двете поколения са еднакви на външен вид и смяната на поколенията е изоморфна (*Ectocarpus*, *Dilophus*). Съществуват и кафяви водорасли (разр. *Fucales* и *Durvillaeales*), при които подобно на кремъчните водорасли липсва безполово размножаване. При тях няма смяна на поколенията и цикълът на развитие е диплонтен. **Значение.** Имат важно икономическо значение, базирано както на директната им употреба, така и на добива на алгинати и манит от тях. За тази цел се използват както естествени находища, така и култивирани водорасли (марикултури). В официалната медицина се използват както алгинатите, така и биологично-активните вещества, извлечени от кафяви водорасли. Доказано е радиационнозащитното действие на алгинатите, поради способността им да се свързват избирателно с йоните на тежките метали (стронций, радий, кадмий) в неразтворими комплекси, които се извеждат от организма. Традиционно е използването на кафявите водорасли за храна като зеленчуци в свежо състояние или стрити на прах, като подправки в редица азиатски страни. **Представители:** *Ectocarpus sp.* (Ектокарпус); *Cystoseira barbata* (Брадата цистозира); *Padina pavonia* (Падина); *Laminaria saccharina* (ламинария); *Fucus vesiculosus* (Мехурест фукус); *F. serratus* (Назъбен фукус) и др.

2.4. Отдел Chlorophyta – Зелени водорасли

Обща характеристика. Баграта на водораслите е тревисто зелена, поради специфичния пигментен състав на хроматофорите (хлоропласти). По отношение на пигментния състав на хлоропластите (хлорофили *a* и *b*), състава на клетъчната стена (целулозна) и резервните вещества (скорбяла), те са най-близки до кормусните растения. Затова се приема, че сред тях са предшествениците на висшите растения. Повечето представители са сладководни, но има морски (13% от видовете), а също почвени и аерофилни видове – по скали, дънери, мъхове. Някои видове участват в състава на лишите. Зелените водорасли са изключително разнообразни по морфология. При тях са представени почти всички морфологични типове, известни при растенията (с изключение на амебовидния и кормус – с оформени вегетативни органи корен, стъбло и листа): *Флагелатен тип*. Обединява представители, които са активно подвижни с помощта на два или четири еднакви флагелума, които излизат от предния край на клетката. Различните видове могат да бъдат едноклетъчни, колониални или ценобиални форми. Ценобиалните форми са изградени от различен брой клетки, който е спе-

цифичен за различните родове. Болшинството флагелатни видове са сладководни. *Тетраспоровиден тип*. Предимно колониални форми, по-рядко едноклетъчни. Те не извършват активни движения. Устройството на клетка е подобно на флагелатните представители – с пулсиращи вакуоли и стигма. *Клетъчен тип*. Видовете, които са устроени по този тип нямат флагелуми и са неподвижни. Те са разпространени предимно в планктона на сладководните басейни. Тези водорасли са обикновено едноклетъчни или образуват колонии и ценобии. Формата на клетката при различните родове е изключително разнообразна. Тя е обхваната от здрава целулозна клетъчна стена, която може да бъде гладка или с различни скулптурни образувания – зъбчета, шипове и т.н. Клетката има едно ядро и съдържа един или няколко хлоропласта с различно разположение и форма. В структурата на хлоропласта често има уплътнение – пиреноид. Около пиреноида се отлага резервното вещество – скорбяла. *Сифонен тип*. По този тип са устроени предимно морски топлолюбиви водорасли. При тях цялото тяло е една гигантска клетка с много ядра и хлоропласти. *Нишковиден тип*. Многоклетъчни, образуващи различно оформени нишки, изградени от едноядрени клетки. При най-примитивните представители клетките от нишката са еднакви по морфология и функция (*Ulothrix*). Някои нишковидни зелени водорасли в началото на своето развитие са нишки, а по-късно оформят пластинковидни или тръбовидни талуси (*Ulva*, *Enteromorpha*). *Сифоноклададен тип*. При него вегетативното тяло представлява нишка, чиито клетки са многоядрени. Те съдържат един мрежовиден или много дисковидни хлоропласти. Клетките са едри, с дебела и често слоиста клетъчна стена (*Cladophora*, *Chaetomorpha*). Зелените водорасли имат пигментен комплекс, който включва: хлорофили *a* и *b*; β -каротен (рядко α - и γ -каротен); лутеин, виолаксантин, неоксантин, антераксантин. Като основно запасно вещество в клетките се натрупва скорбяла (α -1,4-глюкан), а често и масла. Широко разпространен начин за размножаване е вегетативното – чрез делене на две (*Ulothrix*) или фрагментация (*Ulva*, *Enteromorpha*). Безполовото се осъществява чрез спори: зооспори или апланоспори (неподвижни). Когато апланоспорите представляват миниатюрно копие на майчиния ценобий, те се наричат автоспори (при *Scenedesmus*, *Chlorella*). При зелените водорасли е представено цялото разнообразие от цикли на развитие, с изключение на диплонтния цикъл. Характерен за повечето зелени водорасли е хаплодиплонтния с изоморфна смяна на поколенията. **Значение.** Като храна за човека в свежо състояние или след кулинарна обработка, както и под формата на хранителни добавки. Моделни организми при цитологични, генетични, физиологични и биохимични изследвания. В биологичното самопречистване на водите. Като биоиндикатори за качеството на водата. Някои зелени микроводорасли могат да акумулират ценни и редки метали (кобалт, никел, молибден, злато и др.) и се използват за добив на тези метали, след отделянето им от разтворите. **Представители:** *Chlamydomonas* sp. (Хламидомонас); *Scenedesmus communis* (Сценедезмус); *Hydrodictyon reticulatum* (Водна мрежа); *Ulothrix tenuissima* (Улотрикс); *Ulva lactuca* (Морска салата); *Enteromorpha intestinalis* (Ентероморфа); *Bryopsis plumosa* (Бриопсис) и др.

ПОДЦАРСТВО КОРМУСНИ РАСТЕНИЯ (MAGNOLIOBIONTA)

Към Подцарство **Кормусни растения (Magnoliobionta)** се отнасят таксони с надталусно равнище на организация. Спорофитът има висока степен на хистологична специализация, с размери от няколко милиметра до няколко метра. Кормусните растения са преобладаващо сухоземни. Хлоропластите съдържат хлорофил *a* и *b*, а клетката е с целулозна клетъчна стена. Тялото на растенията има ясно обособени стъбло и листа. При някои дървесни и храстови представители продължителността на живота може да достигне стотици години (*Sequoiadendron giganteum* – 5 000 г.; 102 м. – височина; 12 м. – диаметър).

Цикълът на развитие на кормусните растения е хапло-диплонтен с хетероморфна смяна на поколенията. Гаметангиите и спорангиите са многоклетъчни, като имат обвивка от стерилни клетки, което ги отличава от тези на талусните растения. Половото размножаване е оогамия, като яйцеклетката се опложда в архегония (вътрешно оплождане). При по-нисшите кормусни растения в антеридиите се образуват сперматозоиди, а при по-висшите – спермации.

Безполовото размножаване се осъществява чрез мейоспори, които се образуват след мейотично делене в многоклетъчни спорангии. Спорите обикновено имат предпазна външна обвивка и са неподвижни. Спорите се разпространяват чрез вятър, вода и животни. Често срещан вариант за размножаване на кормусните растения е вегетативният.

Еволюцията на кормусните растения е спорна. Основно се налага теорията за монофилетичния им произход с родоначалник зелени водорасли. Отчитат се две основни направления в еволюцията. При мъхообразните се наблюдава доминиране на гаметофита, докато при плаунови, хвощови, папрати и семенни доминира спорофита. Най – високо равнище на развитие и видово разнообразие в растителното царство се отчита при второто еволюционно направление.

Първите фосили на кормусни растения датират от преди повече от 450 млн. години (силур). От девон те започват да завладяват сушата, като приспособяването им към сухоземния начин на живот води до масовото им разпространение и господство. В палеозоя господстват папратообразните, в мезозоя – голосеменните, а в неозоя – покритосеменните.

Класификацията на кормусните растения продължава да бъде дискуссионна и търпи развитие. Основната класификация може да бъде разделена на: висши спорови растения [Bryophyta (Мъхообразни), Lycopodiophyta (Плаунообразни), Equisetophyta (Хвощообразни), Polypodiophyta (Папратообразни)] и висши семенни растения [Pinophyta (Голосеменни) и Magnoliophyta (Покритосеменни)].

1. ВИСШИ СПОРОВИ РАСТЕНИЯ

1.1. ОТДЕЛ МЪХООБРАЗНИ – BRYOPHYTA. Обща характеристика. Мъховете са примитивни, предимно сухоземни спорови растения. Цикълът на развитие протича със смяна на две поколения – гаметофит (полово поколение) и спорофит (безполово поколение). Преобладаващото поколение е гаметофитът, което отличава мъховете от останалите спорови. Той се прикрепва по различни повърхности чрез ризоиди. Гаметофитът образува полови органи (женски – архегонии с яйцеклетки и мъжки – антеридии със сперматозоиди). Придвижването на сперматозоида до яйцеклетката става при наличие на вода. От оплодената яйцеклетка (зигота) прораста спорофитът. Той остава прикрепен върху гаметофита чрез хаусторий, изхранва се от него и е съставен от дръжка и спорангий. В спорангия след мейоза се формират хаплоидни спори. От тях се развива пластинковидна или нишковидна протонема, от която впоследствие се формират млади гаметофити. **Представители:** *Marchantia polymorpha* (Кладенчов мъх); *Sphagnum spp.* (Торфен мъх); *Funaria hygrometrica* (Влагомерен мъх); *Fontinalis antipyretica* (Изворен мъх) и др.

1.2. ОТДЕЛ ПЛАУНООБРАЗНИ (LYCOPODIOPHYTA). Обща характеристика. От плаунообразните в България се срещат 8 вида. Цикълът на развитие преминава през две самостоятелни поколения – доминиращо безполово поколение (спорофит) и силно редуцирано полово поколение (гаметофит). Плауните имат дихотомично разклонено стъбло с дребни люсповидни, приседнали по него листа и добавъчни корени. Спорангиите са разположени по горната повърхност на листата или са събрани във връхни класчета. Сред плауновете има еднаквоспорови и

различноспорови. Еднаквоспоровите образуват един тип спорангии и спори, а различноспоровите – два вида: мегаспорангии, в които се образуват мегаспори (женски спори) и микроспорангии, продуциращи микроспори (мъжки спори). От спорите се образува протал – самостоятелно живеещо полово поколение. При едни видове той живее на повърхността на земята и е фотосинтезиращ, а при други е подземен, безцветен и се изхранва с помощта на гъби. При различноспоровите плауни проталите са мъжки и женски и се развиват вътре в спорите. **Представители:** *Huperzia selago* (*Lycopodium selago*) – (Иглолистна хуперция); *Lycopodium clavatum* (Бухалковиден плаун); *Selaginella helvetica* (Швейцарски бронец) и др.

1.3. ОТДЕЛ ХВОЩООБРАЗНИ (EQUISETOPHYTES). Обща характеристика. В България – 1 род със 7 вида. Цикълът им на развитие преминава през две самостоятелни поколения – гаметофит и спорофит. Доминира спорофитът, който е познат в ежедневието като хвощ. Днес живеещите са тревисти растения с многогодишни коренища. Стъблата са изправени, кухи и начленени на възли и междувъзлия. Листата са редуцирани, заловени за възлите и срастват в ръкавче (влагалище), завършващо със заострени зъбци. Външната част на епидермиса на стъблото е импрегнирана със силициев диоксид. Фотосинтезиращата функция на растението е поета от стъблото. Спорофилите са многогъблни шипчета, събрани върхно в класчета. Хвощовете са еднаквоспорови растения, но от спорите им прорастват предимно еднopolови (мъжки или женски) гаметофити. Проталите са надземни, фотосинтезиращи. **Представители:** *Equisetum arvense* (Полски хвощ); *E. palustre* (Блатен хвощ); *E. telmateia* (Голям хвощ), *E. sylvaticum* (Горски хвощ) и др.

1.4. ОТДЕЛ ПАПРАТООБРАЗНИ (POLYPODIOPHYTES). Обща характеристика. Втора по разнообразие група кормусни растения след семенните. Цикълът на развитие е хаплодиплонтен с хетероморфна смяна на поколенията и преобладаване на спорофита. По правило стъблото е превърнато в коренище. Листата при папратите са много разнообразни, със охлювидно завит връх на петурата и нарастват върхно. Листната петура е целокрайна, разчленена или переста. При някои видове листата достигат до няколко метра (*Lygodium articulatum* – 15 м). При висшите изоспорови папрати гаметофитът (протал) е пластинковиден и се развива върху почвата, съдържа хлоропласти и има самостоятелно хранене. Прикрепва се с ризоиди, чрез които смуче вода и соли. При хетероспоровите папратообразни проталът е двудомен, силно редуциран, обхванат от обвивката на съответната спора. Размножават се основно вегетативно, чрез фрагментация и специални тела за вегетативно размножаване – от листата, стъблото, но понякога и от корените. Споровото размножаване е с неподвижни спори – апланоспори. Мнозинството съвременноразвиващите са изоспорови. Спорангиите се разполагат върху листата и са групирани в групи – сори. Половото размножаване се осъществява чрез бутилковидни архегонии. Антеридиите са еднopolастни торбички. **Представители:** *Dryopteris filix-mas* (Мъжка противоглистна папрат); *Asplenium trichomanes* (Обикновено изтравниче); *Ceterach officinarum* (Лечебна златиста папрат); *Phyllitis scolopendrium* (Обикновен волски език); *Athyrium filix-femina* (Обикновена женска папрат); *Pteridium aquilinum* (Орлова папрат); *Polypodium vulgare* (Обикновена сладка папрат) и др.

2. ВИСШИ СЕМЕННИ РАСТЕНИЯ

2.1. ОТДЕЛ PINOPHYTES – ГОЛОСЕМЕННИ. Обща характеристика. Голосеменните са различноспорови растения. Тяхната най-характерна особеност е появата на нов генеративен орган – семе. В него протичат развитието на женския гаметофит, оплождането и развитието на зародиша. Неговата поява е важна стъпка в еволюцията на растителния свят, в приспособяването му към условията на сухоземния живот. С неговата поява настъпва силна редукция на половото поколение (гаметофита) и усъвършенстване на безполовото (спорофита). Голосеменните са дървета и храсти, разпространени са главно в умерените зони на Южното и Северното полукълбо. Наричат се голосеменни, защото семепъпките и семената са разположени открито на семенните люспи в женските шишарки. Спорофитът достига висока степен на морфологична и анатомична специализация. Появява се същински корен. Стъблото в повечето случаи е разклонено моноподиално, достигащо на височина над 100 м. Листата са игловидни, люсповидни, перести, ветриловидни, разположени единично, по няколко или в сночета, последователни, в прешлени или срещуположни, дълги от няколко милиметра до 3 м., в повечето случаи са многогодишни и растенията са вечно зелени. Мъжката шишарка (микростробила) се състои от ос и на нея са разположени микроспорофилите. На тях има по два прашника (микроспорангии). В тях се образува полена, който се разнася от вятъра и опрашва семепъпката, разположена на женската шишарка. Женската шишарка (мегастробила) при отделните групи голосеменни има редица особености.

При иглолистните тя се състои от твърда ос и на нея спирално са заловени покривна (външна) и семенна (вътрешна) люспи. На всяка семенна люспа са закрепени по две семепъпки (мегаспорангии), които образуват семена. Най-много видове в България се отнасят към:

2.1.1. КЛАС PINOPSIDA – ИГЛОЛИСТНИ:

2.1.1.1. СЕМЕЙСТВО CUPRESSACEAE (КИПАРИСОВИ): **Обща характеристика.** Включва вечнозелени еднодомни и двудомни дървета и храсти. Листата са игловидни и люсповидни, разположени в прешлени или срещуположно. Мъжките шишарки са разположени единично и носят по 2-6 прашника. Женските шишарки са дребни, вдървявали или месести, наричани още галбули. Семената са с или без крилца. **Стопанско значение:** Ценни декоративни видове. Намират приложение в официалната и народната медицина, по-рядко в козметиката или кулинарията като подправка. **Представители:** *Cupressus sempervirens* (Вечнозелен кипарис); *Juniperus communis* (Обикновена хвойна); *Thuja occidentalis* (Западна туя) и др.

2.1.1.2. СЕМЕЙСТВО PINACEAE (БОРОВИ). **Обща характеристика.** Предимно вечнозелени дървета и храсти, разпространени главно в Северното полукълбо. Имат смолести канали. Листата са игловидни или линейни (плоски). Разположени са единично, по 2 до 5 или в снопчета. Мъжките шишарки са дребни, нетрайни, единични или на групи. Женските шишарки са трайни и узряват обикновено за няколко години. Състоят се от една ос и спирално наредени двойки от покривни и семенни люспи. На семенните люспи се развиват по две семепъпки. След оплождането от тях се образуват семената. Семената са снабдени с крилатка, която служи за тяхното разпространение.

Стопанско значение: Имат важна екологична роля, приложение в медицината, фармацевтиката и др. **Представители:** *Abies alba* (Бяла ела); *Picea abies* (Обикновен смърч); *Pinus sylvestris* (Бял бор); *P. nigra* (Черен бор); *P. heldreichii* (Черна мура); *Pinus peuce* (Бяла мура) и др.

2.2. ОТДЕЛ MAGNOLIOPHYTA – ПОКРИТОСЕМЕННИ, ЦВЕТНИ РАСТЕНИЯ.

Обща характеристика. Те са най-младите в еволюцията на растителния свят. Те са най-съвършенните в своето външно и вътрешно устройство и са най-широко разпространени на Земята. Спорофитът достига най-високата си степен на развитие. Представен е с всички биологични типове: треви, храсти, дървета, за разлика от голосеменните, при които няма треви. Вегетативните им органи претърпяват някои метаморфози (коренища, грудки, луковици и др.), които служат за размножаване. За първи път в еволюцията на растенията се появява плодникът (гинецей), състоящ се от завръз, стълбче и близалце. В завръза са включени семепъпките, които за разлика от голосеменните не лежат открити на семенните люспи. След оплождането от тях се образува семето, а от плодника – плода. От тук идва наименованието „покритосеменни“. Характерна структура за покритосеменните е появата на цвета, поради това отделът носи и името „цветни“. Прието е разделянето на покритосеменните на два класа: Magnoliopsida (Двусемеделни) и Liliopsida (Едносеменни). При двусемеделните, зародишът има 2 семедела. Кореновата система е осева. Проводящите снопчета са отворени колатерални, разположени в стъблото кръгово. Флоемът е с паренхим. Листата са прости или сложни, различни по форма, с преобладаващо мрежесто жилкуване. Околоцветникът е двоен, с 5- или 4-членни чашелистчета и венчелистчета. При едносеменните, зародишът с 1 семедел. Кореновата система е брадата. Проводящите снопчета са затворени колатерални, разположени в стъблото разпръснато. Флоемът е без паренхим. Листата са най-често прости, линейни или елипсовидни, с успоредно или дъговидно жилкуване. Цветът с прост околоцветник. Най-богати на видове и с важна роля в живота на човека са:

2.2.1. КЛАС MAGNOLIOPSIDA – ДВУСЕМЕДЕЛНИ:

2.2.1.1. СЕМЕЙСТВО BRASSICACEAE – КРЪСТОЦВЕТНИ. **Обща характеристика:** Включва едно-, дву- и многогодишни тревисти растения, рядко храсти и полухрасти. Корените при някои видове са вторично надбелени. Листата са прости, последователни, приседнали или с дръжки, нарязани или цели, без прилистници. Често листата са разположени в приосновна розетка. Цветовете са двуполови. Околоцветникът е двоен, актиноморфен. Чашелистчетата и венчелистчетата са по 4, свободни, разположени на кръст. Тичинките са 6, двете външни по-къси. Плодникът е ценокарпен, съставен от 2 сраснали плодолиста с горен завръз. Съцветието е обикновено грозд или щитовидно. Плодът е шушулка, шушулчица, рядко орехче или дробен. Плодовете обикновено се разпукват от основата към върха, като семената остават прикрепени върху ципеста, лъжлива преграда. **Стопанско значение:** хранителни, подправни, технически, лечебни, декоративни.

тивни, плевели. **Представители:** *Brassica oleracea* (Градинско зеле); *B. oleracea* var. *capitata* (Главесто зеле); *B. nigra* (Черна горчица, Черен синап); *B. oleracea* var. *gongylodes* (Алабаш); *B. oleracea* var. *botrytis* (Карфиол); *B. rapa* subsp. *rapa* (Бяла ряпа); *B. rapa* subsp. *oleifera* (Рапица); *Sinapis alba* (Бял синап); *Capsella bursa-pastoris* (Овчарска торбичка); *Raphanus sativus* subsp. *sativus* (Посевна ряпа); *R. raphanistrum* (Дива ряпа); *Cheiranthus cheiri* (Зимен шибой) и др.

2.2.1.2. СЕМЕЙСТВО FABACEAE – БОБОВИ (ПЕПЕРУДОЦВЕТНИ). Обща характеристика. Дървета, храсти и треви. Листата са сложни, рядко прости, с прилистници. Семейството се характеризира със специфично устройство на цвета. Чашката е образувана от 5 сраснали листчета. Венчето е зигоморфно и при повечето видове е от 5 венчелистчета с нееднаква форма и размери: едно (горно) голямо – *флагче*, две (странични) по-малки – *крилца* и две (долни), сраснали частично, образувачи т. нар. *ладийка*. Погледнат отстрани цветът наподобява кацнала пеперуда, откъдето идва и едно от старите имена на семейството – пеперудоцветни (Papilionaceae). Тичинките са 10. Най-често девет сраснали, а десетата свободна, рядко и десетте са сраснали. Плодникът е апокарпен, от един плодолист с горен завръз. Плодът е боб. Важна особеност на семейството е, че около 70% от видовете имат по корените си грудки, които са резултат на симбиоза с азотфиксиращи бактерии от род *Rhizobium*. Благодарение на това бобовите усвояват атмосферния азот, при което обогатяват почвата. **Стопанско значение:** лечебни, декоративни, фуражни, багрилни, плевелни. **Представители:** *Phaseolus vulgaris* (Обикновен фасул); *Vicia faba* (Бакла); *Pisum sativum* (Посевен грах); *Cicer arietinum* (Нахут, леблебия); *Lens culinaris* (Обикновена леща); *Arachis hypogaea* (Фъстък); *Glycine max* (Соя); *Trifolium pratense* (Ливадна детелина); *Medicago sativa* (Синя люцерина); *Robinia pseudoacacia* (Салкъм) и др.

2.2.1.3. СЕМЕЙСТВО ROSACEAE – РОЗОВИ. Обща характеристика: Космополитно семейство. Включва дървета, храсти, полухрасти, лиани и треви. Листата са прости или сложни, последователни или срещуположни, с прилистници. Цветовете са актиноморфни, двуполови, рядко еднополови. Околоцветникът е от 2 кръга, понякога с двойна чашка, 5-членен, рядко 3 – 4-членен. Тичинките са много, рядко 5, 10, 2 или 1. Цветното легло е плоско, изпъкнало или вдлъбнато. Съцветията са цимозни или рацемозни, понякога единични. Плодникът е апокарпен или синкарпен с долен, горен или полудолен завръз. Според устройството на плодника и плода, семейството се разделя на 4 подсемейства: *Spiraeoideae*, *Rosoideae*, *Maloideae* и *Prunoideae*. **Стопанско значение:** хранителни, лечебни, декоративни, плевели. **Представители:** *Rosa canina* (Обикновена шипка); *R. damascena* (= *R. kasanlica*) (Червена казанлъшка роза); *Rubus idaeus* (Малина); *R. caesius* (Къпина); *Fragaria vesca* (Дива ягода); *F. ananassa* (Културна ягода); *Malus domestica* (Домашна ябълка); *Pyrus sativa* (Културна круша); *Cydonia oblonga* (Дюля); *Mespilus germanica* (Мушмула); *Prunus domestica* (Домашна слива); *Persica vulgaris* (Праскова); *Armeniaca vulgaris* (Кайсия); *Amygdalus communis* (Обикновен бадем); *Cerasus avium* (Череша) и др.

2.2.1.4. СЕМЕЙСТВО LAMIACEAE – УСТНОЦВЕТНИ. Обща характеристика. Космополитно семейство. Включва треви, храсти и полухрасти. Стъблата са 4-ръбести, изправени, понякога лежащи, често влакнести. Листата са прости, без прилистници, разположени срещуположно, рядко в прешлени. По листата и стъблата се разполагат жлезисти трихоми, секретирани етерични масла. Цветовете са неправилни, двуустни, двуполови, образувачи цимозни съцветия, разположени в пазвите на листата или във върхни съцветия. Чашката е сраснала, обикновено двуустна. Венчето е сраснало двуустно, горната устна от 2, долната от 3 венчелистчета. Тичинките са 4, рядко 2 (род *Salvia*). Плодникът е синкарпен, съставен от 2 плодолиста. Плодът е ценобий – разпада се на 4 орехчета. **Стопанско значение:** етеричномаслени, лечебни, подправки, декоративни, медоносни. **Представители:** *Lavandula angustifolia* (Теснолистна лавандула); *Rosmarinus officinalis* (Лечебен розмарин); *Sideritis scardica* (Пирински чай); *Melissa officinalis* (Медицинска маточина); *Satureja hortensis* (Градинска чубрица); *Origanum vulgare* (Обикновен риган); *Thymus* ssp. (Машерка); *Lamium purpureum* (Червена мъртва коприва); *Salvia officinalis* (Градински чай), *Mentha piperita* (Лютива мента); *M. spicata* (Обикновена мента) и др.

2.2.1.5. СЕМЕЙСТВО ASTERACEAE – СЛОЖНОЦВЕТНИ. Обща характеристика: Най-голямото семейство в клас Двуседелни, разпространено космополитно. Представено е главно от треви, по-малко храсти и полухрасти. Листата са прости или сложни, последователни, рядко срещуположни или в прешлени, без прилистници. Много видове имат млечни цеви. Чашелистчетата са 5, обикновено превърнати в четинки, люспици или липсват. Венчелистчетата са 5, сраснали. Тичинките също са 5, сраснали с прашниците. Плодникът е от 2 сраснали плодолиста, с долен завръз. Цветовете са актиноморфни или зигоморфни, няколко типа: *тръбести* – правилни дву-

полови; *двуустни* – неправилни двуполови; *езичести* – неправилни двуполови; *лъжливоезичести* – неправилни еднуполови; *фуниеvidни* – неправилни безполови. Съцветието е кошничка, обхваната от обвивни листчета (*involucrum*). Плодът е плодосемка. **Стопанско значение:** маслодайни, медицински, декоративни, хранителни, фуражни, медоносни, каучоконосни и плевелни. Значителен брой видове са български и балкански ендемити, редки и застрашени от изчезване. **Представители:** *Helianthus annuus* (Слънчоглед); *Helianthus tuberosus* (Земна ябълка); *Chamomilla recutita* (Лайка); *Achillea millefolium* (Бял равнец); *Leucanthemum vulgare* (Обикновена маргаритка); *Lactuca sativa* var. *longifolia* (Маруля); *L. sativa* var. *capitata* (Бяла салата); *Cichorium intybus* (Синя жлъчка); *Taraxacum officinale* (Лечебно глухарче); *Calendula officinalis* (Невен) *Matricaria chamomilla* (*Chamomilla recutita*) (Лечебна лайка); и др.

2.2.1. КЛАС LILIOPSIDA – ЕДНОСЕМЕДЕЛНИ

2.2.1.1. СЕМЕЙСТВО LILIACEAE – КРЕМОВИ. **Обща характеристика.** Многогодишни луковични тревисти растения. Листата са линейни, ланцетни или елипсовидни, последователни, рядко в прешлени. Цветовете са правилни, двуполови, единични и в съцветие грозд или сеник. Околоцветникът е прост, съставен от 6 свободни околоцветни листчета, разположени в 2 кръга по 3. Тичинките са 6. Плодникът е синкарпен от 3 плодолиста с горен завръз. **Стопанско значение:** лечебни, декоративни. Някои видове са български и балкански ендемити, редки и застрашени. **Представители:** *Lilium candidum* (Бял крем); *Tulipa rhodopea* (Родопско лале); *T. gesneriana* (Градинско лале); *T. urumofii* (Урумово лале) и др.

2.2.1.2. СЕМЕЙСТВО POACEAE – ЖИТНИ. **Обща характеристика.** Едногодишни или многогодишни тревисти растения. Само някои тропически представители са храстовидни или дървесни. Кореновата система е брадата. Стъблото е цилиндрично, съставено от възли и междувъзлия. Разклоняването става при възлите в основата на стъблото (възел на братене). Често се образуват коренища. Листата са линейни, разположени последователно, състоящи се от влагалище, което обхваща стъблото и петура. На границата между двете части има езиче и ушички. Цветовете са двуполови, по-рядко еднуполови, събрани в прости съцветия – класчета, които формират сложни съцветия – клас, метлица, главица и кочан. Всяко класче е обхванато от 2 плеви, а всеки цвят – от 2 плевици, 2 лодикули, които са редуциран околоцветник. Тичинките обикновено са 3, на дълги дръжки, което улеснява опрашването. Плодникът е от 3 плодолиста, с горен завръз и двуделно близалце. Плодът е зърно (кариопсис). **Стопанско значение:** хранителни, фуражни, лечебни, декоративни, плевели. **Представители:** *Triticum aestivum* (Мека пшеница); *Zea mays* (Царевица); *Hordeum vulgare* (Обикновен ечемик); *Secale cereale* (Ръж); *Oryza sativa* (Ориз); *Avena sativa* (Посевен овес); *Saccharum officinarum* (Захарна тръстика); *Phragmites australis* (Тръстика); *Bambusa spp.* (Бамбук); *Cynodon dactylon* (Троскот) и др.

Фотосинтезата при растенията преобразува светлинната енергия в химична, като използва вода и CO_2 за синтез на въглехидрати и отделяне на кислород. За да осигури енергията и редуциращата сила, необходими за фиксацията на CO_2 , в тилакоидните мембрани на хлоропластите протичат светлинните (тилакоидни) реакции, включващи 1) окисление на водата с отделяне на O_2 , 2) редукция на НАДФ⁺ до НАДФН и 3) синтез на АТФ. Образуваният АТФ и НАДФН след това се използват в стромалните (въглеродни) реакции, където CO_2 се фиксира и редуцира до въглехидрати.

Организация на фотосистемите

В хлоропластите фотосинтетичните пигменти – хлорофили, каротеноиди и други – са свързани с белтъци и образуват пигмент-белтъчни комплекси. Тези комплекси се организират в 1) светосъбиращи (антенни) комплекси, (ССК), които улавят светлинната енергия, и 2) реакционни центрове, в които протичат първичните фотохимични реакции. Броят пигментни молекули в антенните комплекси, асоциирани с един реакционен център, значително варира при различните фотосинтезиращи организми: от ~20 – 30 бактериохлорофили при някои бактерии и ~200 – 300 хлорофили при висши растения до няколко хиляди при някои водорасли. Тази адаптация отразява различните светлинни условия в средите на обитаване. ССК поглъщат фотони и насочват енергията на електронното възбуждане към реакционните центрове. Асемблирането на пигментите с белтъците контролира този пренос чрез екситонен механизъм (между близки пигменти, <1 nm) и резонансен FRET механизъм (между по-отдалечени пигменти), осигурявайки > 95% ефективност. Абсорбционните максимуми на пигментите постепенно се изместват към по-дълговълновата част на спектъра ($\text{Chl } b \rightarrow \text{Chl } a \rightarrow \text{P680/P700}$), създавайки енергиен градиент, който гарантира еднопосочен поток на енергията. Този процес е чисто физичен (без прехвърляне на електрони), докато в реакционния център се инициират фотохимичните окислително-редукционни реакции с пренос на електрони. В рамките на тази организация при висшите растения функционират две взаимосвързани фотосистеми – фотосистема II (ФСII) и фотосистема I (ФСI), които се различават по състава на антенните си комплекси и реакционните центрове. Всяка фотосистема включва сърцевинен комплекс (ядро) с вътрешна антена, донори и акцептори около реакционния център, както и външни ССК в различен брой. Хлорофил a/b белтъците с каротеноиди, свързани с ФСII, образуват ССКII, докато тези към ФСI формират ССКI. Всеки реакционен център съдържа специална двойка хлорофилни молекули, които играят ключова роля във фотохимичния процес. Във ФСI реакционният център представлява димер на хлорофил a с максимум на абсорбция при 700 nm, наричан P700. Във ФСII реакционният център представлява димер на хлорофил a с максимум на абсорбция при 680 nm, обозначаван като P680.

Някои аноксигенни фотосинтезиращи бактерии имат само една фотосистема. Такава организация е характерна за пурпурните бактерии (с реакционен център, наподобяващ ФСII) и за зелените серни бактерии (с реакционен център, близък до ФСI). При тях протича цикличен електронен транспорт, при който електроните се връщат към изходния реакционен център. В резултат се образува протонен градиент и се синтезира АТФ, но не се отделя O_2 и не се редуцира НАДФ⁺.

Пространствено разположение на ФСII и ФСI

В тилакоидната мембрана на висшите растения двете фотосистеми са пространствено разделени. ФСII, заедно със своите антенни пигменти е локализирана основно в граналните тилакоидни мембрани, докато ФСI и нейните антенни комплекси са разположени предимно в стромалните тилакоидни мембрани, включително в крайните участъци на граналните тилакоиди, обърнати към стромата. Комплексът цитохром b₆f, който осъществява функционалната връзка между двете фотосистеми, е разположен и в двата типа тилакоиди. Това специфично пространствено подреждане на фотосистемите налага съществуването на електрон-транспортна верига, в която участват мембранно свързани комплекси и подвижни електронни преносители, осигуряващи преноса на електрони от ФСII към ФСI. Като основни подвижни преносители функционират пластохинонът (PQ/PQH₂) и пластоцианинът. PQ/PQH₂ е разположен в липидната фаза на тила-

коидната мембрана, а пластоцианинът е малък медсъдържащ белтък, разтворим в лумена на тилакоида.

Първично фотохимично събитие

Първичното фотохимично събитие представлява пренос на електрон от възбуден хлорофил в реакционния център към първия електронен акцептор. По този начин хлорофилът се окислява (губи електрон и става положително зареден), а акцепторната молекула се редуцира (получава електрон и става отрицателно заредена). Редуцираният акцептор след това предава електрона по електрон-транспортната верига, като реакционният център възстановява изгубения електрон от донорна молекула. При висшите растения водата (H_2O) служи като първичен донор на електрони, а НАДФ⁺ е краен акцептор, който се редуцира до НАДФН.

ФСII: кислород-отделящата система и електронен поток до пластохинон

ФСII е организирана като мултисубединечен белтъчен суперкомплекс. В ядрото на реакционния център се намират мембранно-свързаните белтъци D1 и D2, към които са свързани пигментите на реакционния център – хлорофили (първичен донор P680), допълнителни хлорофили, каротеноиди, феофитини и пластохинони. Към ФСII е прикрепена кислород-отделящата система, която съдържа манганов (Mn) клъстер, при който Cl^- йоните имат стабилизираща функция, а Ca^{2+} е необходим за свързването и ориентацията на водните молекули, участващи във фотолизата на водата. Мангановите йони преминават през серия от S-състояния (S_0-S_4), което позволява поэтапното окисление на две молекули вода с образуване на една молекула O_2 , 4 електрона и 4 протона. Поне 8 електрона (два за възбуждане на P700, два за P680 и 4 за фотоокислението на водата) са необходими за отделянето на една молекула O_2 , при което се формира 1 молекула НАДФН. Протоните, освободени при фотолизата на водата, се натрупват в тилакоидния лумен и създават протонен градиент, използван от АТФ синтазата за синтез на АТФ. Между Mn-комплекс и P680 действа тирозиновият радикал Y_Z , който предава електрони от Mn-клъстер към окисения P680⁺ и възстановява електронния баланс. При възбуждане от светлина хлорофилният димер P680 отдава електрон, който се прехвърля първо на феофитина (модифициран хлорофил без Mg^{2+}), а след това към два свързани пластохинона – PQA и PQB. PQA приема електрона временно и го предава към PQB. PQB получава последователно два електрона и два протона от стромата, превръщайки се в редуцирания пластохинон (PQH_2). Полученият PQH_2 напуска реакционния център и дифундира в липидната част на мембраната до комплекса цитохром b_6f .

Комплекс цитохром b_6f и Q-цикълът

Комплексът цитохром b_6f свързва двете фотосистеми и е ключов елемент от линейния поток на електрони. Той съдържа два b-тип хем, един c-тип хем (цитохром f) и Rieske Fe–S белтък. В него PQH_2 се окислява чрез механизма на Q-цикъла, при който единият електрон преминава по линейния път – през Rieske белтъка и цитохром f към пластоцианина, който редуцира P700 във ФСI; вторият електрон следва цикличен път през b-тип хемове, а отделените протони се освобождават в лумена. След два пълни оборота на Q-цикъла: до P700 достигат 2 електрона; 2 молекули PQH_2 се окисляват до PQ; 1 молекула PQ се редуцира обратно до PQH_2 ; общо 4 протона се транспортират от стромата в лумена, което засилва протонния градиент.

ФС I и редукция на НАДФ⁺

Компонентите на реакционния център на фотосистема I, заедно с вътрешния антенен комплекс от приблизително 100 хлорофилни молекули, са организирани около два големи мембранни белтъка – PsA и PsB. След възбуждане на реакционния център P700 електронът се предава първо на молекула хлорофил a (A_0), а след това на филохинона (A_1), откъдето постъпва към железно-серните центрове на ФС I. Електроните от тези центрове се предават на ферредоксина (Фд) – малък, разтворим железно-серен белтък, който се намира в стромата на хлоропласта. Последната стъпка от нецикличния поток се катализира от ферредоксин–НАДФ⁺ редуктазата, която използва електроните от Фд, за да редуцира НАДФ⁺ до НАДФН. По този начин се затваря нецикличната електрон-транспортна верига, чийто начален източник на електрони е фотоокислението на водата във ФСII. Електроните се движат еднопосочно – от водата към НАДФ⁺, като едновременно с това се осъществява пренос на протони и се генерира протонен градиент. Този линейно насочен поток от електрони се описва с т.нар. Z схема.

Цикличен електронен транспорт във ФСІ

При определени физиологични условия част от електроните, напуснали ФСІ, не се предават на НАДФ⁺, а се връщат обратно в тилакоидната електрон-транспортна верига – към пластохинона (PQ/PQH₂), цитохром b₆f и обратно към P700. Това движение се нарича цикличен електронен поток. Той не е свързан с окисление на вода и не води до редукция на НАДФ⁺, но предизвиква допълнително натрупване на протони в лумена, което увеличава количеството образуван АТФ. Цикличният електронен поток е особено важен при C₄ растенията, където в хлоропластите на клетките около проводящите снопчета е необходима повече енергия (АТФ) за протичане на реакциите от цикъла на Калвин.

Фотофосфорилиране и АТФ синтеза

И нецикличният, и цикличният поток на електрони водят до пренасяне на протони в лумена на тилакоидите, като стромата става по-алкална, а лумена – по-кисел, създавайки протон-движеща сила (ΔpH и електрически потенциал). Тази енергия се използва от АТФ синтазния комплекс, който се състои от две части: хидрофобна, свързана с мембраната (CF_o), и част, издаваща се в стромата (CF₁). CF_o формира канал за преминаване на протоните, а CF₁ съдържа каталитичните центрове, които използват протон-движещата сила за синтез на АТФ от АДФ и неорганичен фосфат. При всяко завъртане на комплекса се синтезират три молекули АТФ. По този начин АТФ синтазата функционира като молекулен мотор, преобразуващ енергията на протонния градиент в химична енергия.

Фиксация на СО₂ – цикъл на Калвин – Бенсън

Фиксацията на СО₂ при фотосинтезата се осъществява чрез серия от ензимно управлявани реакции, известни като цикъл на Калвин – Бенсън. Растенията, които фиксират СО₂ по този път, се наричат C3 растения, тъй като първият стабилен продукт на карбоксилирането е тривъглеродното съединение- 3-фосфоглицерат. Този път на СО₂-фиксация е универсален сред фотосинтезиращите организми. Цикълът протича в стромата на хлоропластите и използва енергията и редуциращата сила, произведени в светлинната фаза – съответно АТФ и НАДФН – за редукция на атмосферния СО₂ до въглеhidрати.

Цикълът на Калвин се разделя на три тясно координирани фази: карбоксилиране (фиксиране на СО₂), редукция на фиксираните въглеродни съединения и регенерация на петвъглеродния акцептор на СО₂.

I. Фаза на карбоксилиране

Първата и ключовата стъпка на цикъла е карбоксилирането на СО₂, катализирано от ензима рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза/оксигеназа (RuBisCO). RuBisCO има висока афинитет както към СО₂ (карбоксилазна активност), така и към О₂ (оксигеназна активност). При оксигеназа активност рибулозо-1,5-бисфосфат реагира с О₂, образувайки една молекула 3-фосфоглицерат и една 2-фосфогликолат, която се метаболизира в процеса на фотодишане, съпроводен със загуба на въглерод и енергия. RuBisCO катализира взаимодействието между молекулата СО₂ и петвъглеродния захарен фосфат – рибулозо-1,5-бисфосфат (RuBP) – при което се образува нестабилен шествъглероден интермедиат, който се разпада на две молекули 3-фосфоглицерат.

II. Фаза на редукция

Във втората фаза 3-фосфоглицератът се превръща в захарен фосфат– глицералдехид-3-фосфат (ГАФ)– чрез серия от редукционни реакции, изискващи както АТФ, така и НАДФН, генерирани в светлинната фаза.

III. Фаза на регенерация на акцептора

Регенерацията на рибулозо-1,5-бисфосфат – е най-сложната фаза от цикъла и включва десет последователни ензимни реакции, които преобразуват тривъглеродни съединения обратно в петвъглеродния акцептор рибулозо-1,5-бисфосфат. Асимилацията на 1 молекула СО₂ изисква 2 молекули НАДФН (изразходвани във фазата на редукция) и 3 молекули АТФ (2 в редукцията и 1 в регенерацията), доставени от светлинните реакции. От шестте молекули ГАФ, образувани при един оборот на цикъла на Калвин–Бенсън, пет се използват за възстановяване на рибулозо-1,5-бисфосфат, а шестата служи за биосинтеза на захари и други органични вещества. Вътре в

хлоропласта ГАФ се използва за синтез на глюкоза, запасни съединения като скорбяла, както и за начални етапи на синтез на белтъци и липиди. В цитозола ГАФ се използва за синтез на захароза, основната транспортна форма на въглехидрати в растенията.

Регулация на цикъла на Калвин – Бенсън от светлината

Цикълът на Калвин е напълно зависим от светлинната фаза, тъй като АТФ и НАДФН, синтезирани в тилакоидите по време на светлинните реакции, осигуряват енергията и редуциращата сила, необходими за превръщането на 3-фосфоглицерат в глицералдехид-3-фосфат и за регенерирането на рибулозо-1,5-бисфосфат. При осветяване скоростта на фиксация на CO_2 се повишава в рамките на минути, тъй като ключови ензими от цикъла, включително RuBisCO, стават активни чрез два типа регулация: 1) бавна, чрез промяна в количеството ензими вследствие на експресиите на ядрени и пластидни гени и бърза чрез посттранслационни модификации като промени в pH , Mg^{2+} , протонен градиент и редукция на дисулфидни връзки.

• Активация на RuBisCO

Каталитична активност на RuBisCO изисква участието на специфичен ензим – RuBisCO-активаза, който използва хидролиза на АТФ, за да освободи активния център на RuBisCO от инхибиращи захарофосфати. След това ензимът се карбоксилира – активираща молекула CO_2 се свързва с лизинов остатък в активния център, образувайки карбамат. Този карбамат се стабилизира чрез свързване на Mg^{2+} , което предизвиква конформационна промяна и преминаване на RuBisCO в активна конформация, способна ефективно да карбоксилира рибулозо-1,5-бисфосфат.

• Фередоксин–тиоредоксинова система и ензимите от цикъла на Калвин–Бенсън

Редуцираният фередоксин от ФС I редуцира тиоредоксина чрез фередоксин–тиоредоксин редуктаза, превръщайки дисулфидните връзки в свободни тиолове ($-\text{SH}$). Редуцираният тиоредоксин активира ключови ензими (RuBisCO-активаза, фруктоза-1,6-бисфосфатаза, седохептулоза-1,7-бисфосфатаза, фосфорибулокиназа) чрез редукция на техните дисулфидни мостове, което предизвиква конформационни промени и повишава каталитичната им активност. Така светлината осигурява ефективна работа на цикъла при наличието на АТФ и НАДФН от светлинните реакции.

Адаптации за оптимална карбоксилазна активност на RuBisCO

При осветяване растенията усилено приемат CO_2 през устицата, който преминава през клетъчна стена, плазмемембрана, цитоплазма и хлоропластна обвивка. При висока фотосинтетична активност аквапорините (трансмембранни протеини, образуващи хидрофилни пори за пасивен транспорт на вода и малки молекули) улесняват бързия транспорт на CO_2 към стромата, когато дифузията е ограничена от биомембраните.

RuBisCO има висока афинитет както към CO_2 , така и към O_2 , затова при въздушен газов състав (висок O_2 , нисък CO_2) се засилва фотодишането (оксигеназната активност на RuBisCO). За да увеличат концентрацията на CO_2 около RuBisCO и да намалят фотодишането, растенията са развили различни механизми за неговото концентриране.

При част от растенията процесът на химично свързване на CO_2 протича по механизъм, известен като С4-фиксация (цикъл на Хетч и Слек), а съответните видове се означават като С4-растения. Листата им се характеризират със специфична анатомична организация, различна от тази на С3-растенията, известна като кранц анатомия. Фотосинтезиращите тъкани са диференцирани в два морфологично и функционално различни типа клетки – мезофилни клетки, разположени радиално и по-рехаво, и клетки около проводящите снопчета (КОПС), организирани в плътен двоен слой от относително малки, дебелостенни клетки. Двата клетъчни типа са свързани чрез голям брой плазмодезми, което осигурява интензивен метаболитен обмен между тях. Хлоропластите проявяват структурен диморфизъм – те са гранални в мезофилните клетки и агранални или слабо гранални в КОПС. Клетките около проводящите снопчета съдържат по-голям брой и по-едри хлоропласти, повече митохондрии и по-малки централни вакуоли. Фиксацията на CO_2 започва в мезофилните клетки, където въглеродният диоксид се свързва с фосфоенолпируват под действието на ензима фосфоенолпируват карбоксилаза, при което се образува оксаловъглеродна киселина – съединение с четири въглеродни атома, дало името на С4-фиксацията. В кла-

сическия вариант оксалоцетната киселина се редуцира до ябълчна киселина, която се транспортира до клетките около проводящите снопчета. Там малатът се декарбоксилира до пируват, а отделеният CO_2 се фиксира от RuBisCO и навлиза в цикъла на Калвин, аналогично на C3-фотосинтезата. Физическото пространствено отделяне на RuBisCO от атмосферата и от светлинните реакции потиска оксигеназната активност на ензима, намалява фотодишането и значително повишава ефективността на фиксацията на CO_2 . Поради това C4-растенията проявяват по-висока фотосинтетична продуктивност при високи температури и силна светлинна интензивност. Макар да представляват едва около 3% от всички растителни видове, към тях принадлежат икономически важни култури като царевица, сорго, захарна тръстика и просо.

Ксерофитните растения, сред които се включват кактусите и повечето сукуленти, използват различен механизъм за фиксация на въглероден диоксид, известен като САМ-фиксация (Crassulacean Acid Metabolism). Биохимично този механизъм е сходен с C4-фиксацията, но липсва физическо пространствено разделение между първичната фиксация на CO_2 и цикъла на Калвин. Вместо това се наблюдава времево разделение на процесите: фиксацията на CO_2 протича през нощта, когато устицата са отворени, като въглеродният диоксид се фиксира до ябълчна киселина, а през деня малатът се декарбоксилира, отделеният CO_2 се поема от RuBisCO и навлиза в цикъла на Калвин. По този начин при САМ-растенията фиксацията и асимилацията на CO_2 са разделени във времето, което представлява ефективна адаптация към условия на суша и високи температури.

Растителните пигменти се делят на два основни вида: фотосинтетични пигменти и нефотосинтетични пигменти.

Фотосинтетични пигменти

Най-специфичните химични компоненти на тилакоидните мембрани на хлоропластите са фотосинтетичните пигменти (ФСП). Именно те поглъщат енергията на слънчевата светлина, която след това в растенията, цианобактериите и фотосинтезиращите бактерии се преобразува в енергия на химичните връзки. ФСП се разделят на 3 основни групи: хлорофили, каротиноиди и фикобилини. Най-голямо значение за фотосинтезата имат хлорофилите, главно хлорофил *a*. В отделните растителни организми се срещат различни комбинации на пигментите, но във всички случаи е задължително присъствието на хлорофил *a* (или бактериохлорофил *a* във фотосинтезиращите бактерии), чрез който се реализира първичното фотохимично действие на светлината. Затова ФСП на фотосинтезиращите организми се разделят на **основни** (хлорофил *a* и бактериохлорофил *a*) и **допълнителни** (останалите хлорофили, каротиноидите и фикобилините). Големият спектър от допълнителни пигменти, препокриващи със своето поглъщане практически цялата „видима“ (и инфрачервена при фотосинтезиращите бактерии) част от слънчевия спектър, дава възможност на фотосинтезиращите организми активно да улавят падащата на земята светлинна радиация. Каротиноидите също са характерни за висшите растения, водораслите и фотосинтезиращите бактерии, а фикобилините – за цианобактериите и някои водорасли.

Хлорофили

Хлорофилите принадлежат към видовете *a*, *b*, *c*, *d* и *e*, които са застъпени в различни организми. Всички фотосинтезиращи организми съдържат хлорофил *a* (фотосинтезиращите бактерии бактериохлорофил *a*). Хлорофил *b* се среща във висшите растения, зелените и еугленовите водорасли, както и в прокариоти от отдел *Prochlorophyta* (в някои фотосинтезиращи бактерии бактериохлорофил *b*). Не е установен нито един фотосинтезиращ организъм без хлорофил *a*. Във водораслите от отдел *Phaeophyta* присъства хлорофил *c*, в много червени водорасли (отдел *Rhodophyta*) – хлорофил *d*. Хлорофил *e* е открит само в жълтозеленото водорасло *Tribonema bombicinum* от сем. *Xanthophyceae*.

Хлорофилите са магнезий-съдържащи порфирины – циклични тетрапироли. Те са естери на дикарбоновата хлорофилинова киселина с два алкохола – метилов и фитол. Порфириновото ядро представлява плоска квадратна структура, състояща се от четири пиролови пръстена (*A–D*). В центъра на тази „глава“ е разположен магнезиевият атом, който се свързва чрез 4 координационни връзки с азота на пироловите пръстени. Пръстените са съединени помежду си с метинов мостчета и всеки от тях съдържа различни странични вериги. Хлорофил *b* се различава от хлорофил *a* по това, че има формилна СНО-група като страничен заместител при С-7 вместо метилна СН₃. Биосинтезата на хлорофила се осъществява по биосинтетичния път на порфирините. Ключовият предшественик на тетрапиролите, включително на хлорофила, е 5-аминолевулинова киселина (АЛК).

Хлорофилите са водонерастворими. *In vivo* те се намират нековалентно свързани с белтъци в хлорофил-белтъчни комплекси, които са включени в тилакоидните мембрани. Извличат се с органични разтворители: алкохол, ацетон, бензол, хлороформ. Разтворът на хлорофил *a* в алкохол или етилов етер има синьозелен цвят, а на хлорофил *b* – жълтозелен.

При взаимодействие на хлорофилен извлек с разредени киселини магнезиевият атом на хлорофила се замества от водорода и се образува феофитин, който има кафявозелен цвят, а при хидролиза с основи се получават съответни соли на хлорофилиновата киселина и се освобождават двата алкохола.

Много важно свойство на хлорофилите е избирателното поглъщане на светлинните лъчи – максимумите на поглъщане са в червената (640 – 660 nm) и синята област (430 – 450 nm) на видимия спектър. Спектърът на поглъщане на пигментите зависи от характера на разтворителя, от взаимодействието им в интактните клетки с белтъците.

Хлорофилите поглъщат много слабо оранжевите и жълтите лъчи, а отразяването или пропускането на зелената светлина (около 550 nm), която не се абсорбира от пигментите, дава познатия зелен цвят на растенията и на хлорофилните разтвори.

Функцията на Mg-порфирините се е формирала в процеса на еволюцията в тясна връзка с еволюцията на фоторецепторните структури. Пиролният пръстен, състоящ се от 4 атоми въглерод и атом азот, представлява хромофор, способен да поглъща енергията на видимата област на спектъра. Затварянето на пиролните пръстени в тетрапиролната структура на порфирина, химически по-устойчив, има решаващо значение в еволюцията на хлорофилите като първични фоторецептори. Благодарение формирането на циклична система и на ефекта на спрягане се появяват интензивни ивици на поглъщане във видимата област на спектъра с по-висока енергия на квантите. Образувашите се в процеса на еволюцията порфирини представляват сложна система с общ π -електронен облак, обединяващ четирите пиролни пръстена в единен цикъл.

Хлорофилът може да абсорбира светлината поради специфичната структура на порфириновото ядро. Конюгираната система на спрегнатите връзки във всички хлорофили представлява основна хромофорна група, отговорна за избирателното поглъщане на светлината.

Структурата на хлорофилната молекула може много успешно да осъществява функцията на фотосенсибилизатор (съединение, което поглъща светлинната енергия и я насочва към други безцветни съединения) на фотохимичните реакции.

Каротиноиди

Каротиноидите са мастноразтворими пигменти с жълт, оранжев, червен и кафяв цвят. Присъстват в пластидите на всички висши растения и водорасли, в цианобактериите, зелените и пурпурните фотосинтезиращи бактерии, в халобактериите. В листата на растенията каротиноидите обикновено са замаскирани от хлорофилите, но през есента, когато първи се разрушават зелените пигменти, именно каротиноидите придават характерния за есенните листа жълт или оранжев цвят.

Каротиноидите са тетратерпени, изградени от 8 изопренови единици, които дават C_{40} -съединение. Към каротиноидите се отнасят:

1. оранжеви или червени пигменти **каротини** – въглеводороди ($C_{40}H_{56}$);
2. жълти **ксантофили** – с кислородсъдържащи функционални групи в молекулата ($C_{40}H_{56}O_2$, $C_{40}H_{56}O_4$ и др.).

В пластидите на висшите растения от каротините главно се съдържа β -каротин, а от ксантофилите лутеин, виолаксантин, неоксантин. В много растения, особено в израслите на сянка, при ниска интензивност на светлината, е открит β -каротин. Във фотосинтетичните тъкани могат да се включат и други каротиноиди, често в големи количества – антраксантин, зеаксантин и пр. Тяхното съдържание силно зависи от условията на средата, особено от наличието или отсъствието на светлина, стресови фактори.

Биосинтеза на каротиноидите е локализирана в самия пластид и обикновено се осъществява в тилакоидната мембрана, с която са свързани отговорните за нея мултиензимни комплекси. Предполага се участие и на хлоропластната обвивка, доколкото и в зелени, и в незелени изолирани мембрани са открити каротиноиди, в по-значителни количества виолаксантин, следван от неоксантин.

Биосинтезата на каротиноидите в хлоропластите има връзка с общия път на образуване на полиизопреноидните съединения (стероли, убихинон, странични вериги на пластохинон и др.). Той изисква наличие на ацетил-CoA, който през мевалонова киселина (основен предшественик на изопреноидите) се превръща в *изопентенилпирофосфат* (C_5 -съединение), основна структурна единица на изопреноидната верига. Синтезата на каротиноиди се осъществява на тъмно, но светлината, особено червената, която действа чрез фитохрома, рязко ускорява този процес.

Както хлорофилите, каротиноидите са нековалентно свързани с белтъците на тилакоидните мембрани в пигмент-белтъчни комплекси. Те се извличат с органични разтворители – хлороформ, бензол, бензин. Каротините се разтварят лесно в петролеов и етилов етер, а ксантофилите – в метилов и етилов алкохол.

Каротиноидите поглъщат светлинни лъчи от виолетовата и синята област на спектъра, като спектърът им на поглъщане има два максимума между 400 и 500 nm. Те отразяват и пропускат зелените, жълтите, оранжевите и червените лъчи.

Каротиноидите изпълняват редица физиологични функции във фотосинтезиращите организми: антенна – като допълнителни пигменти участват в поглъщането на светлината; защитна

– гасители на триплетния хлорофил и на синглетния кислород; фотопротекторна – предпазват реакционния център от мощните потоци енергия при висока интензивност на светлината и стабилизируют липидната фаза на тилакоидните мембрани, защитавайки я от преокисление.

Антенна функция на каротиноидите – поглъщане на светлината

Каротиноидите се включват както в светосъбиращите комплекси на пигментните системи, така и в пигментираните протеини на реакционния център (РЦ), като поглъщат светлина в синьо-виолетовата и синята част на спектъра (400 – 500 nm) и препредават нейната енергия до хлорофилите на РЦ. В спектъра на сумарната слънчева радиация на повърхността на Земята значителна част се пада на синята и виолетовата част на спектъра (480 – 530 nm). При ниско положение на Слънцето се увеличава делът на червените лъчи и нараства частта на разсеяната светлина, в която има много синьо-виолетови лъчи. Техният дял се повишава и при облачно време. Така че значението на каротиноидите като допълнителни пигменти е да използват късовълновата част на светлинния спектър при фотосинтезата, като с това се разширява ефективността на фотосинтетичната зона на спектъра и съответно екологичната приспособеност на организмите.

Защитна функция на каротиноидите

Защитна функция на β -каротина – фотохимично гасене на възбуденото състояние на хлорофила (или кислорода)

Каротиноидите, особено β -каротинът, изпълняват много важна защитна функция, предпазвайки светлочувствителните хлорофили от фотоокислителни повреди. Причина за фотодинамичните увреждания може да бъде кислородна молекула, намираща се в първо възбудено синглетно състояние. Синглетният кислород има много висока реакционна способност и може да окислява различни органични молекули, включително хлорофили, пурины в нуклеиновите киселини и полиненаситени мастни киселини, като ги уврежда.

Молекулите на β -каротина защитават РЦ на фотосистема II (ФСII) от фотоокислителни повреди главно по два начина:

– *Гасене на възбуденото триплетно състояние на хлорофила чрез триплет-триплетен енергиен пренос.*

Когато енергията, съхранена в хлорофилите във възбудено състояние бързо се разпръсква чрез трансфер на възбуждането или фотохимичен процес, възбуденото състояние се „гаси“. В противен случай възбуденият хлорофил може да взаимодейства с молекулния кислород, като се образува възбудено състояние на кислорода – синглетен O_2 . Каротиноидна молекула, която се намира в основно синглетно състояние, може да конкурира атмосферния кислород за триплетния хлорофил ($^3Хл.$). Когато реагира с него, получава се хлорофил в основно синглетно състояние и каротиноид във възбудено триплетно състояние ($^3Кар.$). Възбуденото състояние на каротиноида няма достатъчно енергия, за да формира синглетен O_2 , така че се връща бързо в основно не възбудено състояние, губейки своята енергия като топлина.

С тази си роля на защитни агенти срещу хлорофил-сенсibiliзираното фотоокисление каротиноидите участват в т.нар. неензимна система на антиоксидантна защита на растенията.

– *Фотозащитна функция на ксантофилите в ССК – нефотохимично гасене на хлорофилната флуоресценция*

Когато интензивността на светлината е по-висока от необходимата за насищане степен на електронния транспорт, излишъкът от абсорбирана енергия може да доведе до увреждане на РЦ на ФСII, формиране на триплетен хлорофил в антената и фотоокисление на пигментите. Развита е механизъм, който да разсейва излишъка от енергия безвредно като топлина, включващ взаимно превръщане на ксантофилите, наречено виолаксантинов или ксантофилов цикъл. Процесът се индуцира от подкиселяването на тилакоидния лумен, което е свързано с формирането на протонна движеща сила. Чрез него енергията се разсейва главно в ССКII на ФСII.

Структурна роля на каротиноидите

Каротиноидите, и особено ксантофилите, са важна съставна част на светосъбиращите комплекси и водят до тяхното стабилизиране и/или правилно комплектоване. Под действие на светлина с висока интензивност молекулата на зеаксантин се ориентира в липидния слой на тилакоидната мембрана перпендикулярно към нейната повърхност, като благодарение на двете си полярни хид-

роксилни групи съединява двата липидни слоя. В резултат вискозитетът на мембраните се повишава, което намалява тяхната чувствителност към преокисление от активни кислородни форми.

Освен във фотосинтезиращи, каротиноидите са разпространени в нефотосинтезиращи организми (гъби, бактерии) и в нефотосинтезиращи растителни органи – венчелистчета, плодове, прашници и др., в които изпълняват функции, несвързани с фотосинтезата. Например ярко обагрените с каротиноиди цветове и плодове привличат насекоми, птици и др. и така подпомагат опрашването и разпространението на семената.

Фикобилини

Фикобилините се срещат в цианобактериите и във водорасли от отделите *Phodophyta* и *Cryptophyta*. В зависимост от цвета пигментите се делят на:

- червени фикоеритробилини (главно в червените водорасли)
- сини фикоцианобилини (преобладават в цианобактериите)
- алофикоцианини (в цианобактерии и водорасли).

Фикобилините са тетрапирили с отворена верига, които имат система от конюгирани двойни и прости връзки. Те са хромофорни групи на фикобилипротеините – глобуларни протеини, с които са здраво свързани с ковалентни връзки. Истинската форма на тяхната молекула може да се представи като „незатворен пръстен“. В клетките на водораслите и цианобактериите фикобилипротеините агрегират помежду си, образувайки особени гранули, наречени фикобилизоми, които са подредени в ансамбли на повърхността на тилакоидните мембрани.

Фикобилипротеините са разтворими във вода или в разтвори на соли. Всяка от трите групи има характерен спектър на поглъщане на светлинните лъчи главно в жълтозелената част на спектъра. Това е точно тази част, в която зелените растения не абсорбират фотони и по такъв начин остава отворена като един „оптичен прозорец“. Фикоеритрините имат максимум на поглъщане от 498 до 568 nm, фикоцианините от 585 до 630 nm, а алофикоцианините – от 585 до 650 nm. За фикобилипротеините е характерна ярка флуоресценция: за фикоеритрина оранжева с максимум около 575 nm, за алофикоцианина червена с максимум 660 nm.

Най-важната функция на фикобилините във водораслите и цианобактериите е включването им в светосъбиращия комплекс на фотосистемата като допълнителни пигменти, последователно разположени във фикобилизомата: на повърхността са късовълновите пигменти – фикоеритробилини, следват фикоцианобилини и в центъра на фикобилизомата пигментите с най-дълговълнов максимум – алофикоцианини (винаги присъстващи в малки количества). Те лежат директно върху тилакоидната мембрана и могат да предават своята енергия на възбуждане върху антенните пигменти хл. *a*. Такова разположение на пигментите във фикобилизомата позволява висока скорост и ефективност на миграция на погълнатата енергия до хл. *a*, локализиран в мембраната. Около 90% от погълнатата енергия на зелените, жълтите и оранжевите фотони, уловени от фикобилините, се предава главно към реакционния център на фотосистема II, докато фотосистема I се състои преди всичко от пигменти хл. *a* и каротиноиди.

Фикобилините вземат участие в т.нар. хроматична адаптация при водораслите. Имат се предвид качествените изменения в състава на светлината при проникването ѝ в дълбочина в моретата и океаните в зависимост от оптическите свойства на водата и разпределението на фотосинтезиращите организми по етажи, което от своя страна се определя от фотосинтетичните им пигменти. До 34 m дълбочина напълно се поглъщат червените лъчи, затова в горните слоеве обитават предимно зелените водорасли. До 177 m изчезват жълтите, после зелените (322 m) и около 500 m – сините и виолетовите лъчи. Във връзка с това под зелените водорасли се срещат кафявите, а още по-дълбоко – цианобактериите и червените водорасли. Установено е, че ако цианобактериите *Oscilaria sancta* се отглеждат на светлина с различен спектрален състав, в тях се развива допълнително оцветяване: на зелена светлина стават оранжевочервени, а на червена – зелени. Тези промени се свързват главно с изменения в синтезата на фикобилините. В много цианобактерии и червени водорасли е установено обаче, че за адаптацията към вариращия спектрален състав на светлината значение имат и промените в количеството и състава на различните спектрални форми хлорофили *a* и *b*.

Нефотосинтетични пигменти

За растителните организми светлината е източник не само на енергия, но и на информация, и в този случай тя има регулаторна функция. За да може светлината да оказва регулаторното си

въздействие, растението трябва да „вижда“ и да „диференцира“ различните светлинни потоци, техния спектрален състав, като в крайна сметка *трансформира светлинния сигнал в биологичен отговор*. За тази цел растителният организъм разполага със специфични фоторецепторни пигменти, различни от пигментите на фотосинтезата:

Фитохром – фоторецептор главно на червената светлина,

Криптохром – фоторецептор на синята светлина.

Други фоторецептори в растенията на синята светлина са флавини, каротиноиди, фототропини и някои порфирины.

Фитохромна пигментна система

Най-важен фоторецептор на растенията е **фитохромът** – той е тяхната „зрителна система“. С негова помощ светлината контролира – пряко или косвено, повечето основни процеси от жизнената дейност на растителния организъм и преди всичко процесите на неговия растеж, диференциация, морфогенеза.

Ключов момент в историята на фитохрома има откритието, че ефектите на червената светлина (ЧС 650 – 680 nm) върху морфогенезата може да бъдат обърнати чрез следващо облъчване със светлина с по-голяма дължина на вълната (710 – 740 nm), наречена далечна червена светлина (ДЧС). Изследванията в това отношение са проведени с фотопериодичночувствителни растения и с покълващи на светло семена. Съвършено различни по своята проява морфогенетични ефекти (потискане растежа на стъблото на ечемик, за изправяне извивката на етиолиран прорастък от грах, за забавяне на стъбленото удължаване и за други процеси на деетиоляция) се контролират в растенията от една и съща фоторецепторна система. Тя е наречена фитохром (Р) и съществува в две взаимнопревърщащи се форми – Р_ч (Р₆₆₀) и Р_{дч} (Р₇₃₀). На тъмно се синтезира Р_ч, физиологично неактивната форма. Под действието на червената светлина Р_ч се превръща във физиологично активната Р_{дч}, а под влиянието на далечната червена Р_{дч} се превръща обратно във формата Р_ч.

Сигналът, индуциран от светлината, се подава от Р_{дч} по сигнално трансдукционен път към промоторни области на гени, контролиращи фотоморфогенеза и други светлиннозависими биологични реакции.

За прехода Р_ч във Р_{дч} е достатъчно кратковременно осветяване с ЧС, а превръщането на Р_{дч} в неактивна форма Р_ч става (освен след осветяване с ДЧС) на тъмно, самопроизволно за 4–24 h, при това значителна част от него може и да се разруши.

Фитохромът се среща във всички растителни организми – висши растения, папрати, мъхове, зелени и червени водорасли, синтезира се в пластидите. Фитохромът представлява синьо-зелен цитозолен хромопротеин, предимно хидрофилен, който се състои от белтъчна и хромофорна част. Фитохромът поглъща светлина в *червената/далечната червена* и в *синята област* на светлинния спектър. В червената област на спектъра *максимумът на поглъщане* на Р_ч-формата е около 660 nm, на Р_{дч}-формата – около 730 nm.

Криптохром-фоторецептор на синята и ултравиолетовата светлина.

Криптохроми се срещат навсякъде в растителното царство. Спектърът на действие на криптохрома показва два пика в диапазона на ултравиолетовата (320 – 400 nm) и един пик в синята област на видимия спектър (400 – 500 nm). Хромофорът (поглъщащата молекула) на криптохрома е флавин. Ефектът на криптохрома е в цялостната фотоморфогенеза-контрол на фотопериодизма при цъфтежа, инхибиране удължаването на стъблото, стимулиране удължаването на листата, регулиране на движението на хлоропластите в клетката.

Мекотелите са вторият по богатство на видове тип след членестоногите. Познати са над 130 000 вида, които обитават както сладки и солени води, така и сушата. Характеризират с редица белези, по-важни от които са:

- Имат несегментирано тяло с двустранна симетрия с изключение на охлювите, при които се появява асиметрия.
- Тялото се състои от три части: глава, туловище и мускулест крак. При някои мекотели обаче главата е редуцирана в различна степен, а кракът при главоногите се изменя в пипала и фуния.
- Туловището на мекотелите изцяло или частично е покрито с голяма кожна гънка, наречена мантия. На определени места тя не прилепва плътно и там се образува мантийна празнина, в която е поместен мантийният комплекс от органи.
- По-голяма част от мекотелите притежават черупка, която играе ролята на външен скелет и приспособление за защита. Тя е продукт на мантията и има разнообразна форма. Може да бъде цяла, двуделна, многоделна или закърняла (частично или изцяло).
- Телесната празнина (целом) при повечето видове е запълнена с паренхимна тъкан. Тя остава да съществува като перикардиална празнина и празнина около половите жлези.
- Храносмилателната система се състои от три отдела – предно, средно и задно черво. При повечето мекотели в глътката има специален орган за раздробяване на храната, наречен радула. Характерно за типа е появата на храносмилателни жлези – слюнчени жлези и хепатопанкреас.
- Дихателните органи са първични кожни хриле (ктенидии) или бял дроб, който представлява богато кръвоснабдена част от мантийната празнина.
- Кръвоносната система е отворена. Сърцето е изградено от една камера и две предсърдия. При главоногите обаче тя е по-сложно устроена и се отличава от тази на останалите мекотели.
- Отделителната система е представена от бъбреци, представляващи видоизменени метанефридии.
- Нервната система е от ганглиен тип. Състои се от няколко двойки ганглии, разположени в различни части на тялото или събрани в компактна маса. При по-примитивните мекотели тя е изградена от окологлътъчен нерв пръстен и две двойки надлъжни нервни стволове.
- Сетивните органи са представени от добре развити хеморецептори, очи, статоцисти и осфрадии.
- Половата система е различно устроена. Половите жлези се отварят чрез полови проводници в мантийната празнина. При примитивните мекотели половите продукти се извеждат през перикардиума и бъбреците.
- Срещат се разделнополови и хермафродитни видове. Оплождането при примитивните мекотели е външно, а при висшите – вътрешно.
- Развитието при повечето мекотели е непряко, като се преминава през трохофорна или велигеровова ларва, а при сладководните миди – през ларва глохидиум. При белодробните охлюви (*Pulmonata*) и главоногите (*Cerphalopoda*) развитието е пряко.

Типът се разделя на два подтипа: *Aculifera* (Игловидни) и *Conchifera* (Черупчести).

Подтип *Aculifera* (= *Amphineura*) – Игловидни

Към този подтип се отнасят едни от най-примитивните мекотели, които или са без черупка, или тя е съставена от осем подвижно съчленени пластинки, които покриват тялото отгоре и отстрани. Нервната система при тях е представена от окологлътъчен нерв пръстен и две двойки

надлъжни нервни стволоче. Към този подтип се отнасят морски обитатели, групирани в два класа:

Клас Aplacophora – Безпанцерни мекотели

Класът обединява около 140 вида бентосни мекотели, които се заравят в тинята или пясъка на морското дъно. Тялото им е червеобразно, с дължина до 30 cm, и напълно покрито от мантията. Черупка нямат, но в кутикулата имат варовити игли. Особеност в устройството е отсъствието на глава и крак и наличието на бразда на вентралната страна. При срастването на ръба на мантията с коремната страна се образува редуцирана мантийна празнина с формата на улей или коремна бразда, в която е разположен цилиндричен рудимент на крака, покрит с ресни, които осъществяват придвижването на животните. Аплакофорите са хищници. Хранят се с хидроидни полипи и корали, които остъргват с радулата си. В Черно море няма представители на класа.

Клас Polyplacophora – Панцерни или Хитони

Класът обединява около 1000 вида морски бентосни мекотели, които обитават литоралната зона на моретата, като някои от тях се срещат на дълбочина до 200 m.

Тялото на хитоните най-често е продълговато овално, повече или по-малко гръб-коремно сплеснато, с билатерална симетрия и размери от 2.5 до 40 cm. То е съставено от глава, туловище и крак, скрити отгоре от осемделна черупка. На коремната страна са разположени главата и мускулестият крак. Те са обградени от мантийната празнина, която има вид на елипсовидна бразда. Главата е слабо развита, отделена от туловището, без очи и пипала. Мускулестият крак заема голяма част от долната повърхност и чрез съкращения бавно придвижва животното. Черупката е съставена от осем подвижно съчленени помежду си пластинки, подредени керемидообразно една върху друга, което позволява на тялото да се свива към коремната страна. Хитоните живеят в прибойната зона на моретата, плътно прилепени с крака си към скалите или камъните. Пълзейки по тях, те остъргват с радулата си водораслите по скалите. За храна им служат също фораминифери и водни гъби.

Клас Polyplacophora се разделя на три разреда, в един от които има представители в Черно море. От разред Chitonida се срещат видовете: *Acanthochitona crinita*, *Lepidochitona caprearum* и *L. cinerea*, които живеят в прибойната зона, прилепени към скалите на дълбочина до 30 m.

Подтип Conchifera – Черупчести мекотели

Към този подтип спада по-голямата част от представителите на тип Mollusca. Те са морски, сладководни и сухоземни обитатели. Тялото им е поместено в цяла или двуделна черупка, а при някои видове тя е закърняла в различна степен. Мантийната празнина е добре развита и в нея се намира мантийният комплекс от органи. Нервната система е съставена от няколко двойки ганглии, които са разположени в различни части на тялото. Подтипът включва пет класа: Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda, Monoplacophora и Scaphopoda. Първите три от тях са с по-голямо значение.

Клас Gastropoda – Охлюви

Охлювите са най-богатият на видове клас на мекотелите. Известни са около 110 000 вида, обитаващи както солени и сладки води, така и сушата. Размерите им варират от няколко милиметра до 50 – 60 cm. Почти всички са свободно живеещи форми, хранещи се с растения и животни. Отделни видове са паразити у бодлокожи. Имат асиметрично тяло, разделено на три части: глава, туловище и крак. Главата е разположена в предната част и е ясно обособена. На вентралната ѝ страна се намира устата, а отгоре има една или две двойки пипала и една двойка очи. Туловището представлява спирално завита торбичка, разположена в завивките на черупката и съдържаща основната част от вътрешните органи. То е прикрепено с мускули за централната ос на черупката. Кракът е мускулест орган, чрез който животното се придвижва. При пълзящите видове той има широка плоска основа, докато при плаващите се превръща в плавник или развива широки криловидни израстъци.

Черупката на охлювите е едноделна (цяла) и е разположена върху гръбната страна на животното. Тя е продукт на мантията и е изградена от три пласта: външен (конхиолинов), среден (варовиков) и вътрешен (седефен или бисерен). С растежа на животното черупката нараства както по обем, така и на дебелина. Всяка черупка има връх и отвор, между които са разположени завивките. По-голяма част от охлювите имат турбоспирални черупки, на които отделните за-

вивки лежат в различни плоскости (род *Helix*). Има и такива с планспирални черупки (род *Planorbarius*), при които завивките лежат в една плоскост. Черупките на други видове са с формата на калпаче (род *Patella*). В зависимост от разположението на отвора спрямо вертикалната ос на черупката се различават ляво- или дяснозавити черупки. При много видове отворът на черупката се затваря с капаче, наречено оперкулум. То е закрепено върху крака и при прибиране на тялото плътно затваря отвора на черупката. При видовете от род *Arion* и род *Limax*, известни като голи охлюви, черупката е закърняла.

По-важни представители на клас Gastropoda: *Calyptrea chinensis* (Китайска шапчица); *Galba truncatula* (Малко блатно охлювче); *Helix lucorum* (Кафяв градински охлюв); *H. pomatia* (Обикновен градински охлюв); *Lymnaea stagnalis* (Голям блатен охлюв); *Patella ulysiponensis* (Капаче); *Planorbarius corneus* (Рогова макаринка); *Pomatias elegans* (Еlegantен помациас); *Radix auricularia* (Уховиден радикс); *Rapana venosa* (Рапан); *Steromphala divaricata* (Стеромфала); *Tritia reticulata* (Мрежеста триция); *Viviparus viviparus* (Живородка); *Xerolenta obvia* (Ксеролента); *Zebrina detrita* (Зебрина).

Клас Bivalvia – Миди

Класът включва около 20 000 вида, по-голямата част от които са морски обитатели, но има бракични и сладководни. Морфологичните особености в устройството са свързани със слабо подвижния и прикрепен начин на живот. Мидите са билатерално симетрични мекотели с двуделна черупка. Размерите им варират от 2 – 3 mm до около 1.5 m. Тялото им е съставено от туловище и мускулест крак. Главата при мидите е напълно редуцирана, поради което при тях липсват радула и челюсти. Кракът и туловището са добре развити, като кракът най-често е странично сплеснат и заострен. С негова помощ животните се заравят в тинята или пясъка. При прикрепените форми кракът може да се редуцира напълно. Прикрепването се извършва или чрез непосредствено срастване на едната черупка към скалата, или чрез специални бисусни жлези, отделящи втвърдяващ се във водата секрет – бисус. Туловището е покрито от мантия, която на коремната страна образува мантийна празнина. Мантията секретира черупка, съставена от два дяла (или две валви). При много от видовете двете валви са еднакви и симетрични, докато при други едната валва е плоска и лежи на морското дъно или е сраснала със субстрата, а другата е изпъкнала и покрива тялото. По състав и структура черупката на мидите прилича на тази на охлювите. Двете валви са гръбно свързани чрез органична връзка – лигамент, който ги държи полуотворени. Затварянето им е активно и се осъществява чрез специални мускули, наречени аддуктори. В основата на двете валви при много видове миди се образува т. нар. ключ – образувание, което на едната валва е под формата на зъбчета, а на другата – под формата на отвори. При затварянето на двете валви зъбчетата на едната влизат в отворите на другата, което осигурява стабилност на черупката. Ключът може да бъде таксодонтен или хетеродонтен. Първият е съставен от много на брой зъбчета със сходна големина и форма, разположени радиално или в една линия. Вторият е по-често срещан и е съставен от различни по големина и форма зъбчета и улей, които при затварянето на валвите влизат едни в други.

Мантията секретира черупки, чийто цвят и скулптура по повърхността силно варират при различните видове миди. Ръбът ѝ има три гънки: вътрешна, която е мускулеста и най-силно развита, средна, изпълняваща сетивна функция, и външна, която секретира веществата, образувачи черупката. Когато чужда частица попадне между мантията и черупката (например пясъчинка), външният слой на мантията отделя около нея конхиолин и калциев карбонат, които капсулират чуждото тяло и го изолират. Така се образуват перлите. Това е характерно за някои морски и сладководни видове бисерни миди.

Мидите са едни от най-мощните филтратори във водоемите. Те прекарват огромно количество вода през себе си, като филтрират и задържат органичните частици, поради което се явяват важни пречистватели на водата. От всички мекотели те имат най-голямо значение за човека. Видовете от род *Teredo* (Дървопробивачи) нанасят вреди на дървените морски съоръжения. Вредни са и видовете от род *Dreissena*, които с бисусните си нишки се залепват към водопроводи и ги запушват. Много от мидите имат и положително значение. Някои се използват за храна от човека, но също така масово се събират, смилат се в специални мелници и се дават като храна на птици. От мидите се получават и перли, като в някои страни образуването им се предизвиква по изкуствен начин.

По-важни представители на клас Bivalvia: *Anadara kagoshimensis* (Анадара); *Anodonta cygnea* (Беззъбка, Блатна мида); *Cerastoderma glaucum* (Сърцевидка); *Chamelea gallina* (Хамелеа); *Donax trunculus* (Донакс); *Dreissena polymorpha* (Дрейсена); *Flexopecten glaber* (Морски гребен); *Mya arenaria* (Бяла пясъчна мида); *Mytilus galloprovincialis* (Черна мида); *Ostrea edulis* (Стрида); *Pholas dactylus* (Каменопробивач); *Teredo navalis* (Дървопробивач); *Unio pictorum* (Речна мида).

Клас Cephalopoda – Главоноги

Главоногите са древна група морски безгръбначни животни, известни още от началото на палеозойската ера. Съвременните представители наброяват около 760 вида. Те са най-висшите и сложно устроени представители на тип Mollusca, което е свързано с активния им хищнически начин на живот.

Тялото на главоногите се състои от глава, туловище и крак, който е видоизменен в пипала и фуния. Пипалата са осем или десет, а при видовете от род *Nautilus* могат да достигнат до 90 на брой и са разположени около устата. Те са снабдени с множество вендузи, с чиято помощ здраво се захващат за различни предмети или за своите жертви. При род *Nautilus* пипалата нямат вендузи и могат да се прибират в специални влагалища. Фунията е разположена на коремната страна в предната част на тялото. Тя представлява видоизменена задна част на крака, обърната с широк си край към мантийната празнина, а с тесния – към външната среда. С нейна помощ главоногите плуват във водата.

Тялото на главоногите изцяло е покрито с мантия, която на гръбната страна е сраснала, а на коремната е свободна и образува мантийна празнина. Тя се свързва с външната среда посредством цепковиден отвор, разположен зад фунията. Стените на мантията са снабдени със силни мускули. При свиването им, цепковидният отвор се затваря и тогава единствената връзка с външната среда остава фунията. Това има важно значение при плуването. При рязкото и силно свиване на мантийната мускулатура водата, намираща се в мантийната празнина, с голяма скорост се изтласква навън през фунията. В резултат на създадената реактивна сила, тялото силно отскача назад. След това мантията се отпуска и в мантийната празнина навлиза вода през цепковидния отвор, която отново се изтласква и т. н. Благодарение на бързото редуване на поемане и изтласкване на водата животното плува с голяма скорост.

Черупката при главоногите е развита в различна степен. При подклас Nautiloidea се наблюдава добре развита външна многокамерна черупка. Към него се отнасят най-примитивните днес живеещи главоноги от род *Nautilus*, които притежават спирално завита външна черупка, изградена от отделни камерки, като всяка следваща е по-голяма от предходната. Тялото на животното е поместено в последната най-голяма камерка. От задната част на тялото излиза израстък, наречен сифон, който преминава през преградките на камерите и достига до последната камера. Функцията му е свързана с отделянето на газ в празнините на камерите. Когато те се напълнят, относителното тегло на животното намалява и то може да изплува в по-горните слоеве на водата. Когато газът се изпусне, наutilusът потъва на дъното и може да пълзи. При подклас Coleoidea черупката е вътрешна, обърната от мантията, редуцирана в различна степен или напълно изчезнала. При сепията тя се превръща във вътрешен скелет – сепийна кост, представляваща елипсовидна варовита пореста пластинка с изпъкнала гръбна страна, скрита под мантията. При калмара от черупката остава само една малка рогова пластинка, а при представителите на разред Octopoda черупката е напълно изчезнала с изключение на род *Argonauta*, при който черупка имат само женските. Тя е спирално завита и не е разделена на камери. Тя не е продукт на мантията, а на специални жлези, разположени в крака на женската. Черупката е мястото, където се развиват яйцата.

При главоногите от подклас Coleoidea успоредно с редуцирането или липсата на черупка се развива и вътрешен хрущялен скелет, изграден от хрущялоподобно вещество под формата на отделни плочки, пръснати в мантията, пипалата, фунията и плавниците. В областта на главата се образува пръстеновиден хрущял, който обвива главовия ганглий. Той има израстъци, които обгръщат очите и статоцистите. Хрущялната капсула функционално съответства на черепа на гръбначните животни.

Кожата на главоногите е съставена от еднослоен епител, под който се намира съединителна тъкан. Тя притежава изключителната способност да променя цвета си за части от секундата. Това се дължи на наличието на пигментни клетки (хроматофори) в съединителната тъкан. Те биват черни, червени, жълти и сини и са променливи по форма – могат да се свиват и разпускат. При свиване стават по-тъмни, а при разпускане – по-светли. От различното свиване на хроматофо-

рите, пръснати по цялото тяло, цветът на главногите може да има всякакви оттенъци. Промените в окраската на тялото се осъществяват чрез нервна, хуморална и зрителна регулация. При силна раздразненост по тялото на главногите преминават вълни от различни ярки цветове.

Някои главногии излъчват светлина. Светенето се дължи или на отделяната от тях маслоподобна луминисцираща течност, или на специални клетки – фотофори, отделящи светещи вещества.

Главногите са хищници, които се хранят с риби, ракообразни и други морски животни, които улавят с пипалата си. Обитават различни морски дълбочини. Живеят във води с нормална соленост, поради което в Черно море не се срещат.

По-важни представители на клас Cephalopoda:

Nautilus pompilius – Наутилус. Притежава дебелостенна планспирална черупка с диаметър около 20 cm. Отвън е бяла с многобройни радиални светлокафяви ивици и черно петно около завивката на отвора, а отвътре е матово седефена. Среща се в Тихия океан. Храни се главно с ракообразни, но не отбягва и мъртви морски организми.

Sepia officinalis – Лечебна сепия. Има удължено гръбо-коремно сплеснато тяло със сиво-кафеникава, мраморнопетниста или ивичеста окраска. На дължина достига до 30 cm. На гръбната страна под мантията е разположена сепийната кост. Среща се в Средиземно море. Храни се предимно с дребни риби и ракообразни.

Loligo vulgaris – Обикновен калмар. Има торпедовидно тяло с добре развити плавници. Окраската е петнисточервеникава. На дължина достига до около 50 cm. От черупката е останала само една гръбно разположена рогова пластинка. Хищник, срещащ се в Средиземно море и Източното Атлантическо крайбрежие. Използва се за храна.

Octopus vulgaris – Обикновен октопод. Има торбовидно тяло с малка глава и осем дълги мускулести пипала, снабдени с два реда вендузи на вътрешната страна. Окраската е кафеникава или мраморнопетниста, но бързо може да се променя в зависимост от околната среда. На дължина достига до 80 cm. Бентосна форма, предпочита крайбрежната зона със скалисто дъно. Придвижва се с помощта на пипалата си, но може и да плува. Хищник, хранещ се с риби, раци, мекотели и др. Обикновен вид в Средиземно море. Използва се за храна.

Тялото на насекомите е ясно разделено на три отдела – глава, гърди и коремче. Всеки от тях се състои от група сегменти, носи определен тип придатъци и изпълнява определена функция.

Главата е първият отдел от тялото на насекомите. Съставена е от акрон и следващите го пет сегмента – антенален, интеркаларен, мандибуларен, максиларен и лабиален. Тя представлява силно хитинизирана капсула, образувана от сливането на тергитите на сегментите, а стернитите им образуват подгълътника (хипофаринкс). Формата и големината на главата са много различни. В зависимост от разположението на устните органи се различават три типа глава: прогнатична – устният апарат е насочен напред или слабо косо надолу – среща се при голям брой хищни насекоми; хипогнатична – устният апарат е насочен надолу – среща се най-често при скакалците; опистогнатична – устният апарат е насочен надолу и назад – характерна е за хлебарките. Върху главата са разположени антените, очите и устните органи.

Антените са първата двойка членести придатъци на тялото. Те са съставени от членчета с различна форма и дължина. Всяка антена е съставена от три части: основно членче (скапус), второ членче (педицелум) и флагелум, съставен от различен брой членчета. При насекомите се различават следните основни типове антени: нишковидни, четинковидни, гребеновидни, топлийковидни, коленчати, пластинчати, перести и др. Основната функция на антените е обонятелната. Във връзка с това често строежът им показва рязко изразен полов диморфизъм: мъжките имат значително по-дълги или с по-едри членчета антени. Осезателната функция на антените често също е основна.

Устните органи на насекомите са представени под формата на различни типове устни апарати. Те показват голямо разнообразие в строежа си в зависимост от вида на храната и начина на нейното приемане. Устните органи са изменени членести придатъци на главовите сегменти, като това изменение е изразено в различна степен в зависимост от вида на приеманата храна. Най-малко изменение е претърпял гризецият тип устен апарат, приспособен за приемане на твърда храна. По-големи изменения са настъпили в устните апарати за приемане на течна храна. Като основен тип, от който могат да се изведат всички останали типове устни апарати, се приема гризецият, наречен така заради начина, по който се приема храната. Гризецият тип устен апарат е съставен от следните части: нечифтна горна устна (лабрум), двойка горни челюсти (мандибули), двойка долни челюсти (максили) и долна устна (лабиум). Горната устна е малка, неподвижна пластинка, която покрива устния апарат отпред и отгоре. Горните челюсти са разположени непосредствено зад горната устна и представляват здрави, неразчленени, хитинови пластинки с назъбен вътрешен ръб, с които се откъсва и стрива храната. Долните челюсти са разположени зад мандибулите и са съставени от няколко членчета. Първото членче, с което се съчленяват с главата, се нарича кардо. След него е второто членче (стипес), към което са прикрепени едно максиларно пипалце, една външна дъвкателна пластинка (галеа) и една вътрешна дъвкателна пластинка (лациния). Максилите функционират като органи, с чиято помощ насекомите опипват храната си, установяват нейната годност, придържат я и я подтикват към устата. Долната устна има сходен строеж с този на максилите. В основата си е нечифтна, а към върха става чифтна, съставена от няколко части, съответстващи на частите на максилите. Нечифтната част на долната устна е съставена от една основна част – субментум, чрез който се прикрепва към главата, и ментум, и прементум. Последният носи двойка вътрешни (глоси) и двойка външни (параглоси) дъвкателни пластинки, както и лабиалното пипалце. Долната устна по устройство и функция отговаря на долните челюсти.

Гърдите са вторият отдел от тялото на насекомите. Върху тях са разположени двигателните органи – крака и крила. Във връзка с това, в гърдите се намират множество снопчета от набраздена мускулна тъкан, които почти изцяло запълват сегментите. В тях се намират и части от нервната, храносмилателната, кръвоносната и дихателната системи. Гръдният отдел при насекомите е изграден от три сегмента: преднегръд, среднегръд и заднегръд. Всеки сегмент е съставен от четири пластинки или склерити: горна пластинка – тергит, долна – стернит и две странични –

плеврити. Трите гръдни сегмента носят по една двойка крака, съчленени между стернитите и плевритите.

Краката са членести придатъци, съставени от: кокса, трохантер, бедро, пищял и ходило. Основните типове крака са следните:

- Крака за ходене – наблюдават се при бръмбари, хлебарки и др.
- Крака за скачане – наблюдават се при скакалците, щурците, бълхите и др.
- Крака за плуване – наблюдават се при някои водни бръмбари и полутвърдокрили.
- Крака за ходене по водата – наблюдават се при някои водни полутвърдокрили от родовете *Gerris*, *Notonecta* и още много други.
- Крака за хващане – характерни са за някои хищни насекоми, като богомолките, видовете от род *Mantispa* и др.
- Крака за ровене – характерни са за насекоми, които живеят в почвата и се придвижват в нея, като копаят ходове – например поповото прасе, торните бръмбари и др.

Крилата при насекомите са две двойки и са съчленени между тергитите и плевритите на среднегръда и заднегръда. На преднегръда никога не се развиват крила. Понякога те са силно редуцирани или изобщо липсват. При някои насекоми е развита само първата двойка крила, а втората двойка са силно видоизменени (например при разред *Diptera*). Крилата са ципести образувания с голяма повърхност, пресечена с много жилки.

Коремчето е третият отдел от тялото на насекомите. В него са поместени вътрешните органи и голяма част от храносмилателната, кръвоносната, нервната, дихателната и изцяло половата и отделителната система. То е съставено от 12 сегмента. Първите седем се наричат висцерални. В тях се намират вътрешните органи. Следващите два са генитални. Върху тях са разположени половите придатъци. Последните три сегмента са постгенитални. Те са със силно изразена тенденция към редукция. Коремните сегменти са съставени от тергит и стернит, които са свързани помежду си от страни чрез тънка, еластична ципеста мембрана. Върху нея са разположени стигмите (дихалцата) на дихателната система. Коремчето може частично да променя формата си благодарение на еластичността на мембраната. Придатъците на коремчето се разделят на две групи: свързани с размножаването и несвързани с него.

Придатъци на коремчето, свързани с размножаването. Това са яйцеполагалото на женските и копулационният апарат на мъжките индивиди. Яйцеполагалото е разположено на осмия и деветия коремни сегмент. Неговата основна функция е да положи яйцето на подходящо за неговото развитие място. Понякога тази основна функция може да се измени. Не всички насекоми обаче притежават яйцеполагало. Типично развитие то има при правокрылите. Копулационният апарат е разположен на деветия сегмент, който много често е изменен и се различава от другите най-вече по форма.

Придатъци на коремчето, несвързани с размножаването. Към тях се отнасят церките и опашните нишки. Те се развиват на единадесетия сегмент, но когато той е редуциран се свързват с десетия. Церките представляват дълги, многочленести, нишковидни придатъци. Много често обаче те се редуцират или изменят. При ухолозките например те представляват дебели, хитинизирани, закривени, изгубили начленяването си придатъци. Церките в най-общия случай са органи за осезание, но те се превръщат понякога в орган за плуване, хватателен орган и пр. Опашната нишка е нечифтно образувание. Тя също е многочленеста. Много често е редуцирана.

Метаморфозата на насекомите обхваща всички промени, които превръщат малката новоизлюпенa ларва в полово зрял индивид. При насекомите се наблюдават два основни типа метаморфоза (превръщане): непълна (хемиметабола) и пълна (холометабола).

Насекомите с непълна метаморфоза преминават през три стадия на развитие: яйце, ларва и имаго. Излюпената от яйцето ларва най-често е сходна по външен вид с имагото, но е безкрила и полово незряла. При по-възрастните ларви, наречени нимфи, се появяват зачатъци на крила във вид на кожни гънки върху среднегръда и заднегръда. Те постепенно се уголемяват при всяко следващо линееене. Повечето насекоми с непълно превръщане имат сходен начин на живот в ларвния и във възрастния стадий. Те живеят в същата среда, хранят се по еднакъв начин и с еднаква храна. Съществуват обаче някои разреди, чиито видове имат непълно превръщане с по-особен характер. Такива са например еднокрилите (*Ephemeroptera*), перлите (*Plecoptera*) и водните кончета (*Odonata*). Техните ларви живеят във водата, а имагото е летяща форма. Поради нееднаквата среда се наблюдават някои съществени различия – ларвите им имат различно устройство на уст-

ния апарат, притежават трахейни хриле, друг начин на движение и т. н. Непълното превръщане е характерно още за хлебарките, богомолките, правокрилите, полутвърдокрилите и др.

Насекомите с пълна метаморфоза преминават през четири стадия на развитие: яйце, ларва, какавида и имаго. Излюпената ларва има червеобразна форма. Гърдите и коремчето не са ясно обособени. Ларвата се отличава от имагото по външен вид и устройство, често използва друга храна и има различен начин на живот. Последната ларвна форма при линеенето си се превръща в какавида, в която става преустройството ѝ в имаго. По време на какавидния стадий се извършват два основни процеса: хистолиза на органите, функциониращи по време на ларвното развитие, и хистогенеза на тъканите, изграждащи новите органи на възрастните насекоми. Новите органи се изграждат от бързо делящи се групи от клетки с ембрионален характер, т. нар. имагинални дискове. Какавидният стадий продължава от няколко дни до няколко седмици. Такъв тип метаморфоза е характерен за твърдокрилите, пеперудите, ципокрилите, двукрилите и др.

Група Hemimetabola – насекоми с непълна метаморфоза

Разред Odonata – Водни кончета

Водните кончета са сравнително едри насекоми, достигащи до 12 cm дължина. Тялото им често е ярко оцветено, а крилата обикновено са прозрачни. По-рядко са зелени, сини или с друг цвят и имат гъсто, мрежесто жилкуване. Главата е голяма и много подвижна. Върху нея са разположени много големи, отлично развити очи, които често заемат по-голямата част от повърхността ѝ. Антените са много къси. Устният апарат е от гризещ тип. Гърдите носят две двойки добре развити тесни дълги крила. Краката са приспособени повече за улавяне и задържане на жертвата, отколкото за ходене. Коремчето най-често е цилиндрично или леко гръбо-коремно сплеснато. Имагото е хищник и най-често се среща около водоеми с богата водна растителност. Ларвите са сладководни обитатели и дишат с трахейни хриле. Хранят се с различни водни организми, които улавят с помощта на видоизменената си долна устна – т. нар. маска. **Представители:** *Aeshna affinis* (Ешна); *Anax imperator* (Анакс); *Calopteryx splendens* (Блестящ калоптерикс); *Cordulegaster heros* (Кордулегастер); *Lestes virens* (Лестес); *Libellula depressa* (Либелула); *Orthetrum* sp. (Ортетрум) и др.

Разред Blattodea – Хлебарки

Към разреда се отнасят дребни и средни по големина насекоми, достигащи от 1 до 10 cm дължина. Тялото им е гръбо-коремно сплеснато. Обикновено са жълтеникавокафяви, по-рядко черни или пъстри. Главата е опистогнатична с насочен надолу и назад гризещ тип устен апарат. Антените са дълги и нишковидни. Притежават двойка бъбрековидни фасетни очи, между които са разположени две дорзални очи. Първата двойка крила са по-тесни и кожести и покриват втората двойка ципести крила. При някои видове женските имат скъсени или почти напълно редуцирани крила. Краката са от бегателен тип и са снабдени с множество шипчета. Коремчето завършва с церки, функциониращи като задни антени. Хлебарките снасят яйцата си в кожест яйчен пашкул (оотека). Те са нощно активни, топлолюбиви и всеядни насекоми. В природата се срещат под камъни, сред опаднали листа или в почвата. Синантропните видове имат важно медицинско значение, тъй като често замърсяват хранителни продукти и стават преносители на различни инфекциозни болести. **Представители:** *Blatta orientalis* (Черна хлебарка); *Blattella germanica* (Германска хлебарка); *Ectobius lapponicus* (Ектобиус); *Periplaneta americana* (Американска хлебарка) и др.

Разред Mantodea – Богомолки

Разредът обединява сравнително едри насекоми, достигащи до 16 cm. Формата и цветът на тялото са много разнообразни. Най-често тялото е пръчковидно удължено или листовидно със зелена, кафява или сламеножълта окраска, често варираща при един и същ вид. Главата е триъгълна и е силно подвижна. Фасетните очи са силно развити и са разположени странично. Между тях се намират три дорзални очи. Антените са нишковидни. Устният апарат е от гризещ тип. Гръдният отдел е силно удължен, което се дължи на удължения и подвижно съчленен преднегръд. Предните крака са от хватателен тип, а средните и задните – от ходилен. Първата двойка крила са кожести, а втората – ципести. Коремчето е широко, удължено, слабо гръбо-коремно сплеснато, съставено от десет сегмента. Женските снасят яйцата си върху камък или дърво, като ги обливат с пенеста, лепкава материя. След изсъхване се оформя яйчен пашкул (оотека). Богомолките са топлолюбиви хищници, които улавят жертвите си от засада. Хранят се главно с насе-

коми. **Представители:** *Ameles heldreichi* (Малка богомолка); *Empusa fasciata* (Клонеста богомолка); *Hierodula tenuidentata* (Хиеродула); *Iris oratoria* (Синьокрила богомолка); *Mantis religiosa* (Обикновена богомолка) и др.

Разред Orthoptera – Правокрили

Към разреда принадлежат средно големи и едри насекоми, достигащи до 20 cm дължина. Главата е хипогнатична, с насочен надолу гризещ тип устен апарат, с добре развити сложни очи и различно дълги антени. Крилата са две двойки. Предните са кожести, а задните – ципести. Някои правокрили имат редуцирани крила, покриващи частично коремчето, или напълно закърнели крила, представляващи две съвсем малки люспи върху гърдите. Краката са добре развити, като първите две двойки са ходилни, а третата двойка са пригодени за скачане. При някои видове, живеещи в почвата, предните крака са от копателен тип. Много видове могат да произвеждат звуци чрез триене на крилата или на крака с ръба на крилото. Коремчето завършва с двойка неначленени церки. Женските на повечето видове имат добре развито яйцеполагало. Правокрилите се хранят предимно с растителна храна, но има и хищни видове, нападащи насекоми и други дребни животни. **Представители:** *Acrida ungarica* (Дългоглав скакалец); *Anacridium aegyptium* (Египетски скакалец); *Bradyporus dasypus* (Черно житно пиле); *Gryllotalpa gryllotalpa* (Попово прасе); *Gryllus campestris* (Полски шурец); *Saga natoliae* (Голяма сага); *Tettigonia viridissima* (Зелен скакалец) и др.

Разред Hemiptera – Полутвърдокрили

Богат на видове разред, обединяващ насекоми с пробивно-смучещ тип устен апарат. При подразредите Cicadomorpha, Fulgoromorpha и Sternorrhyncha, наричани в миналото с общото наименование равнокрили насекоми, двете двойки крила са ципести и в покой са разположени покривообразно върху коремчето. При представителите на подразред Heteroptera, известни като полутвърдокрили насекоми или дървеници, първата двойка крила в основата са хитинизирани, а към върха са ципести. Задните крила са ципести и в покой се нагъват ветрилообразно под предните. При някои видове крилата могат да бъдат частично или изцяло редуцирани. Краката при полутвърдокрилите са пригодени за ходене, но при някои видове са изменени в хватателни, плавателни и др. Редица видове са сериозни неприятели в селското и горското стопанство, тъй като се хранят с растителни сокове, други са хищници, а има и ектопаразити, които пренасят различни заболявания. **Представители:** *Cercopis sanguinolenta* (Червенотетниста цикада); *Graphosoma lineatum* (Ивичеста графозома); *Lethocerus patruelis* (Голяма водоплавка); *Notonecta glauca* (Гръбоплавач); *Pyrrhocoris apterus* (Великденче, Божа кравичка); *Tibicina haematodes* (Дъбова цикада) и др.

Група Holometabola – насекоми с пълна метаморфоза

Разред Coleoptera – Твърдокрили (Бръмбари)

Твърдокрилите са дребни, средни и едри по размер насекоми. Характерна особеност за повечето видове е силната хитинизация на тялото и първата двойка крила. Главата показва голямо разнообразие по отношение на форма, придатъци и пр. Антените са с най-различна форма и дължина, понякога надминават многократно дължината на тялото. Устният апарат е от гризещ тип. Крилата обикновено са добре развити, като първите са силно склеротизирани и се наричат елитри, а вторите са ципести и в покой са нагънати и скрити под елитрите. Краката са различно устроени в зависимост от средата и начина на живот. Срещат се ходилни, бегателни, плавателни, крака за скачане, ровене и др. Коремчето е лишено от придатъци и при нормално развити елитри остава скрито под тях. Твърдокрили имат разнообразна биология и екология. Обитават предимно сухоземни биотопи, а някои са преминали вторично към воден начин на живот. Хранят се с растителна или с животинска храна, а някои са детритофаги. **Представители:** *Calosoma sycophanta* (Златист гъсеничар); *Carabus scabrosus* (Голям син бегач); *Cerambyx cerdo* (Голям дъбов сечко); *Cetonia aurata* (Обикновена златка); *Dytiscus marginalis* (Бръмбар-плавач); *Lucanus cervus* (Еленов рогащ); *Melolontha melolontha* (Майски бръмбар); *Oryctes nasicornis* (Бръмбар-носорог); *Rosalia alpina* (Алпийска розалия) и др.

Разред Hymenoptera – Ципокрили

Много богат на видове разред, обединяващ различни по големина насекоми, с разнообразна морфология и биология. Главата е с различна големина и форма. Най-често е заоблена, с

добре развити фасетни очи, между които са разположени три прости очи под формата на триъгълник. Антените са с различна форма и дължина. Устният апарат е насочен надолу или напред и е от гризещ или смучещ тип. Притежават две двойки ципести крила, от които първата е по-добре развита. Краката са от ходилен тип. Коремчето при някои ципокрили е широко свързано с гръдния отдел, а при други се съединява с него чрез тънко стъбълце. Женските на много видове притежават яйцепологало, което при жилещите се е превърнало в жило. Ципокрилите водят разнообразен начин на живот. Много видове са фитофаги, други са хищници, а трети са паразитоиди върху различни стадии на насекоми и паякообразни. **Представители:** *Apis mellifera* (Медоносна пчела); *Formica rufa* (Червена горска мравка); *Megascolia maculata* (Жълточела сколия); *Vespa crabro* (Стършел); *Vespula vulgaris* (Обикновена оса); *Xylocopa violacea* (Пчела-дърводелец) и др.

Разред Diptera – Двукрили

Богат на видове разред, включващ дребни и средни по големина насекоми, с добре развита първа двойка ципести крила. Втората двойка крила са закърнели и изменени в къси бухалковидни образувания, наречени халтери. Главата е относително голяма с добре развити фасетни очи и две или три прости очи. Антените са различни по форма и големина. При едни видове са къси, четинковидни, а при други – дълги, нишковидни. Устният апарат е пробивно-смучещ или смучещ. Краката са от ходилен тип и са снабдени с разнообразни приспособления за движение и по много гладки повърхности. Коремчето е ясно отделено от гърдите и е съставено от седем или осем сегмента. Женските са яйцеснасящи или живораждащи. Ларвите са червеобразни и безкраки. Голяма част от двукрилите са растителноядни, други се хранят и развиват върху трупове на животни, трети са паразитоиди в насекоми. Някои видове са екто- или ендопаразити по животните и човека. **Представители:** *Anopheles* sp. (Малариен комар); *Hippobosca equina* (Конска муха); *Musca domestica* (Домашна муха); *Phlebotomus papatasi* (Флеботомус, папатак); *Tabanus* sp. (Обод); *Tipula* sp. (Дългоног/конски комар).

Разред Lepidoptera – Пеперуди

Пеперудите са третият по богатство и разнообразие на видове разред след твърдокрилите и ципокрилите. Характеризират се с наличието на микроскопични люспици, покриващи крилата и придаващи им красивия рисунък и оцветяване. Главата е малка с добре развити сложни очи. Антените са много разнообразни по устройство и дължина. Устният апарат при низшите пеперуди е от гризещ тип, а при висшите е хобот, с чиято помощ смучат нектар от цветовете на растенията. Крилата са две двойки, като при някои видове не са еднакво развити. Краката са малки и нормално развити. Коремчето е удължено, подвижно и гъсто покрито с фини космици. Ларвите им се наричат гъсеници и имат цилиндрично тяло, гризещ тип устен апарат, три двойки същински гръдни и до пет двойки лъжливи коремни крака. Повечето гъсеници са фитофаги и много от тях са неприятелни на културни и горски видове растения, но има и такива, които се хранят с продукти от животински произход. **Представители:** *Aglais io* (Дневно пауново око); *Aporia crataegi* (Бяла овоцна пеперуда); *Erebia rhodopensis* (Родопска кадифянка); *Iphiclide podalirius* (Лястовича опашка); *Papilio machaon* (Голям полумесец); *Parnassius apollo* (Червен аполон); *Pieris brassicae* (Зелева пеперуда); *Saturnia pyri* (Голямо нощно пауново око) и др.

Клас *Aves* е най-многочислената група на четирикраките животни, с най-много рецентни видове (около 11 000). В България се срещат над 420 вида. Птиците варират по размери от 5 см (колибри) до 2.75 м (щрауси). Появили са се преди около 150 млн. г., през юра, от тероподните динозаври. В процеса на еволюция при птиците се появяват значителни морфологични и физиологични промени, свързани с активния полет, които днес се приемат като основни характеристики на класа. При различните видове се наблюдават вариации в размерите и формата на клюна, главата, шията, крилата, опашката и краката, което до голяма степен е свързано с характера на движението и храненето. Голяма част от адаптациите са свързани с формирането на лек и същевременно здрав механично устойчив скелет, който да понася аеродинамичните натоварвания, вибрациите и ударните сили по време на активния полет, да устоява на въздушните течения и на динамичните сили при кацане и маневриране. Това обуславя редица преобразувания, характерни за птиците, които могат да бъдат систематизирани както следва.

I. Морфологични адаптации

1. Аеродинамично тяло, покрито с пера. Формата на тялото при птиците е обтекаема. Главата е малка, шията е гъвкава, а тялото гладко и изтеглено назад, за да намали въздушното съпротивление при полет. Най-характерното и срещашо се само при птиците епидермално образувание са перата. Те осигуряват подемна сила за извършване на полет, аеродинамичност, термоизолация, сетивна информация. По форма и функция перата биват:

- **контурни** – оформят силуета на птицата и според местоположението и функцията са:
 - *покривни* – покриват тялото;
 - *махови* – разположени по крилата в няколко реда и участващи в полета;
 - *кормилни* – на опашката, с ключова роля за управлението и стабилността на полета;
- **пухови** – разположени под контурните при възрастните птици и покриващи изцяло новоизлюпените пиленца, с терморегулаторна функция;
- **нишковидни** – близо до основата на другите пера, особено до маховите и покривните, главно със сетивна функция; тези около трътковата жлеза служат като четкови пера; също около клюна, очите, ноздрите на някои птици (бързолети, сови, лястовици, птиците киви) и дори по техните крайници (сови). Помагат на птицата да усеща позицията и движението на другите пера, но могат да имат и сетивна функция във връзка с нощна активност, подобно на мустациите при бозайниците.

Перата често са и основен инструмент за комуникация при птиците, най-често свързано с ухажването (пауни, птица-лира и др.). Контурните пера имат следното устройство:

- **дръжка** – неразклонената част на перото, която има куха основа и го закрепва във фоликул под повърхността на кожата.
- **рахис** (*rachis*) – ос на перото;
- **рами** (*rami*) – главни разклонения на оста, образуващи плоската част на перото (ветрило);
- **рамули** (*ramuli*) – разклонения на рамите, разположени едни срещу други;
- **кукички, хамули** (*hamuli*) – за свързване и фиксиране на рамулите и формиране на плътно ветрило;
- **ветрило** (*vexillum*) – при покривните, маховите и опашните пера ветрилото е плътно, при пуховите – с множество пухести разклонения, а при нишковидните – липсва или е силно редуцирано.

2. Скелет, модифициран за летене:

- **Предните крайници са видоизменени в органи за летене – крила.** Те са основният двигател на полета, чиято форма, дължина и ширина варират според типа на полета (реещ, планиращ, махов). В спокойно състояние крилата са сгънати и притиснати странично на тялото. Движението по сушата се извършва само със задните крайници.
- **Кухи, леки кости.** Скелетът при птиците е изграден от леки, но здрави кости, наречени *пневматични* кости (изпълнени с въздух – напълно кухи или с въздушни празнини в

тях), което ги прави изключително леки. Тези кости са подсилени с вътрешни напречни прегради, за да издържат на напрежението при полет. Костите на крайниците са тръбести и тънкостенни, а празнините им са изпълнени с въздушни мехури и костен мозък. Плоските кости имат гъбчеста структура, която при минимално тегло осигурява висока механична устойчивост.

- **Хетероцълни (седловидни) прешлени.** Те са характерни само за птиците и имат дълго тяло със седловидна повърхност отпред и отзад, което осигурява изключителна подвижност и същевременно здравина при тяхното съчленяване.
- **Множество костни сливания, осигуряващи лекота и здравина на скелета:**
 - **os synsacrum (кръстец)** – образува се от срастването на последните прешлени от гръдната област на гръбначния стълб, поясните, кръстните и първите 5 опашни прешлена; сраства с тазовите кости и осигурява здравина и устойчивост на задните крайници;
 - **пигостил (pygostyle)** – опашката е редуцирана, като последните 4 опашни прешлена от общо 15 в опашната област срастват в пигостил, за който се залавят трътковата жлеза и кормилните пера от опашката на птиците;
 - **carpometacarpus** – кости от китката срастват с костите на дланта; остават само две самостоятелни киткови кости;
 - седалищните кости са сраснали с хълбочните и са насочени назад и надолу;
 - **tibiotarsus** – големият пицъл в долната си част сраства с първия ред от костите на петата;
 - **tarsometatarsus** – костите от втория ред на петата срастват с костите на стъпалото;
- **Редуциран брой пръсти на предния крайник** – остават само 3, като само вторият пръст има по 2 фаланги, а първият и третият по 1.
- **Малкият пицъл (tibia) е силно редуциран** и има формата на игла.
- **Видоизменено предно поясче**, осигуряващо здрава опора на крилето:
 - ключици, сраснали в характерна за птиците кост – **furcula**;
 - саблевидни лопатки, източени назад успоредно на гръбначния стълб;
 - масивни коракоидни кости.
- **Единствено при птиците ребрата са разклонени и имат израстъци (procesi uncinati)**, които, залавяйки се за следващото ребро, подсилват здравината на гръдния кош;
- **Гръдна кост с голям гребовиден израстък – кил (carina)** за увеличаване на повърхността за прикрепване на гръдните мускули, движещи крилата. По-голям е при птици, които летят активно, и почти липсва при нелетящи птици (като щраусите).
- За пръв път при птиците се появява **капаче на колянната става patella**, поради нуждата от подсилване на колянната става и поемането на тежестта на тялото само от долните крайници.
- Челюстите са източени в лек рогов **клюн** и **липсват зъби**, което е свързано с намаляване на теглото при птиците във връзка с летенето.

3. Силно диференцирана мускулатура, с по-голяма относителна маса в сравнение с влечугите. При птиците има добре развити мускули на предното поясче и предния крайник във връзка с летенето. Най-голямо значение имат два мускула, които представляват 10 – 25% от общото тегло на птицата – големият гръден мускул (*musculus pectoralis major*) и надкоракоидният мускул (*musculus supracoracoideus*). Големият гръден мускул е основният „двигател“ на полета, създава подемна сила и тяга и задвижва крилата надолу. Функционално скрит, разположен дълбоко под големия гръден, но „ключов“ за летенето, е супракоракоидният мускул, който при съкращаване повдига крилата нагоре. Неговото сухожилие преминава през специален триосев канал, образуван от свързването на коракоида (*coracoid*), лопатката (*scapula*) и ключицата (*furcula*) и се вмъква по дорзалната страна на раменната кост (*humerus*). Дорзалното вмъкване позволява на канала да действа като шайба и супракоракоидеусът може да повдигне крилото при размаха. При срязване на супракоракоидното сухожилие, птицата не може да се издигне, защото супракоракоидният мускул е необходим за първоначалните бързи удари с крилата, които издигат птицата във въздуха. Веднъж излетяла, макар и с отрязано супракоракоидно сухожилие, птицата може да лети, защото дорзалните издигащи мускули могат да движат крилото с необходимия замах.

Птиците имат сложна мускулатура на шията поради голямата подвижност на главата, важна за улавянето на храната и за ориентиране по време на полет. Основна роля при дишането играят междуребрните и някои други мускули. Движението на опашката също се обезпечава от няколко мускула. Птиците имат и добре развита подкожна мускулатура, която движи перата в голяма част от повърхността на тялото.

Освен летене, птиците извършват и други разнообразни движения като бягане, лазене, ходене, подскочане, плуване, гмуркане. Задните крайници се движат от повече от 30 мускула. Характерна адаптация е способността на птиците да спят с разпуснати мускули, кацнали на клоните поради възникнал в хода на еволюцията пасивен сухожилен заключващ механизъм, осигуряващ автоматична флексия и фиксация на пръстите върху опората без активна мускулна контракция, което намалява енергийните разходи и повишава безопасността по време на покой.

4. Суха кожа с една-единствена жлеза. Подобно на влечугите, при птиците кожата е суха. Имат само една кожна жлеза – *тръткова жлеза*. Тя е разположена гръбно и е захваната за пигостила на гръбначния стълб. Най-добре е развита при водоплаващите птици. Жлезата отделя мазен секрет, който птицата използва за смазване на перата, което увеличава непромокаемостта и еластичността на оперението. Трътковата жлеза е добре развита и при много от суходлюбивите птици (гъскове, кокошеви и др.). При кормораните и чаплите тя е развита слабо, а при щраусовете, дроплите и някои папагали не е развита.

II. При птиците се наблюдават и редица физиологични адаптации, улесняващи летенето:

1. Два цикъла на дишане и двойно вентилиране на белия дроб. При птиците дихателната система е доста усложнена и се отличава съществено от тази при другите гръбначни животни. Въздухоносните пътища започват с 3 гънки (*конхи*) – „ноздри“, разположени латерално на клюна, покрити с влажна мембрана. Трахеята при някои видове е много дълга, лежи в собствена празнина, във видоизменен кил на гръдната кост (*sternum*). При пингвините трахеята е двойна. При пойните птици в долния край на трахеята се разполага гласов орган – *сириккс*. Белите дробове при птиците се свързват с голям брой двойки *въздухоносни мехури*. Те имат тънки стени и представляват еластични разширения на вторичните бронхи. Основни функции на въздухоносните мехури са да вентилират белите дробове, доставяйки повече кислород поради повишените енергийни нужди във връзка с летенето, и да олекотяват тялото на птиците по време на полет. При вдишване всяка порция въздух навлиза първо в задните мехури, при издишване преминава в белия дроб, а при следващо вдишване изпълва предните мехури и чак след второ издишване напуска тялото. Ето защо птицата след всяко вдишване издишва по-предходната порция въздух, което определя два цикъла на дишане. Фините бронхиоли не завършват с алвеоли, а сякаш, свързани са с подобни на тръбички *парабронхии*, през които навлиза въздух само в една посока.

2. Ефективна сърдечно-съдова система. При птиците е еволюирала една от най-ефективните сърдечно-съдови системи в животинския свят, позволяваща интензивен метаболизъм, необходим за поддържане на летателната активност и висока телесна температура. Кръвоносната система включва *четириделно сърце с 2 камери и 2 предсърдия*, което позволява пълно разделяне на артериалния от венозния кръвен поток, за разлика от влечугите. В комбинация с добре развитата капилярна и лимфна мрежа, това осигурява достатъчно кислород за интензивен метаболизъм и поддържане на *постоянна телесна температура* за първи път в еволюцията.

3. Специализирана храносмилателна система. Поради по-високите енергетични потребности на птиците спрямо влечугите е необходимо поемането на голямо количество храна. Птиците хващат храната си с *клюн*, чиято форма отразява тяхната хранителна специализация. Грабливите птици, като бухали, ястреби и орли, притежават къси закривени клюнове с гърбави върхове, които са идеални за разчленяване на плячка. Много врабчоподобни притежават къси, дълбоки човки, с режещи краища, които са адаптирани за отваряне на семена. Тези, които се хранят с насекоми, имат клюн, наподобяващ фини пинсети. Всеядните птици (гарвани и врани) имат клюн, пригоден да борави с най-разнообразна храна. Важна адаптация е способността за приемане на голямо количество храна, без да се смила веднага, благодарение на т.нар. *гуша* – единично или чифтно разширение на хранопровода, резервоар за храна. При някои видове (гълъби, фламинги, императорски пингвини) гушата изпълнява и специализирана функция при изхранване на потомството чрез усилено делящи се в нея епителни клетки, образуващи т. нар. „гълъбово“ мляко. Липсата на зъби, механично стриващи храната, е довела до диференциране на два

дяла на стомаха – *преден жлезист* (за ензимна обработка) и *заден мускулист стомах* (т. нар. *воденичка* за допълнителна механична обработка на храната). Друга особеност е, че тънкото черво е с различна дължина в зависимост от вида на приеманата храна, която се променя през различните сезони за някои видове.

4. Метанефрична, отделителна система, функционално адаптирана към икономия на вода и ефективно елиминиране на азотните отпадни продукти. Птиците притежават бъбрек от тип *метанефрос*, характерен за всички амниоти, осигуряващ ефективна филтрация и концентрация на урината като адаптация за живот в сухоземна среда. Във връзка с тенденцията за олекотяване на тялото, при птиците *липсва пикочен мехур*. Изключение правят щраусоподобните. Крайният продукт от азотната обмяна при птиците е не урея, а *пикочна киселина*. Тя се концентрира в клоаката, където водата се абсорбира от стените ѝ заради нуждата от пестене на вода и минимална загуба на течности. Остатъкът се отделя като кристалчета, образуващи белезникава каша, полепнала по екскрементите. При морските птици в областта на челните кости се развиват допълнителни *солни жлези*, които също отделят излишната сол от тялото.

5. Редуцирана полова система, адаптирана за олекотяване на тялото при полета. Макар през ембриогенезата да се развиват чифтни яйчници и яйцепроводи, при възрастните женски остава да функционира само *ляв яйчник и ляв яйцепровод*, а десните закръняват. При мъжките птици липсва и перманентен копулационен орган (с изключение на щраусите и повечето гъскоподобни), а оплождането се извършва чрез ерекtilна зона от колоаката, която е изпълнена не с кръв, а с лимфа.

6. Високоорганизирана нервна система. Главният мозък при птиците се различава от този при влечугите – той има доста по-големи размери, което е тясно свързано с по-високото равнище на жизнена дейност при птиците, каквото е летенето. *Малкият мозък* е много добре развит и покрива средния и продълговатия мозък. Неговото развитие при птиците е свързано със сложната координация на движенията по време на полет. *Продълговатият мозък* е добре развит за координиране на сложните двигателни процеси на полета; назад той преминава в гръбначния мозък. *Зрителните центрове* в мозъка са изключително добре развити при птиците, тъй като зрението е основен източник на информация за тях. Очите са големи и сравнени с големината на тялото между всички гръбначни, птиците имат най-големите очи. Това позволява да получават по-големи размери на образа в ретината и така да виждат на по-далечно разстояние и с различаване на много повече детайли. Освен отлично зрение, птиците притежават и слух, сравним по своята чувствителност с този на хората, въпреки че главите на птиците са много по-малки. Обонятелните лобове в предния мозък са слабо развити и птиците имат слабо обоняние (изключение правят кивито, албатросите и буревестниците).

Класификация на клас Aves.

Клас Птици се разделя на два подкласа – подклас Гущероопашати (Saururae) и подклас Ветрилоопашати (Ornithurae). Гущероопашатите са напълно изчезнали и нямат съвременни представители. Всички днес живеещи птици принадлежат към подклас Ветрилоопашати (последните им опашни прешлени са слети в *pygostyle*, в чиято област във вид на ветрило се залавят опашните пера), който включва следните надразреди и основни разреди:

Подклас Ветрилоопашати (Ornithurae)

Надразред Бягащи (Ratitae)

- Разред Африкански щрауси (Struthioness)
- Разред Нандуподобни (Rheiformes)
- Разред Казуароподобни (Casuariiformes)
- Разред Киви (Apterygiformes)

Надразред Плаващи (Natantes s. Impennes)

- Разред Пингвини (Sphenisciformes)

Надразред Новонебни, Летящи (Volantes s. Carinatae)

- Разред Гмурецоподобни (Podicipediformes)
- Разред Пеликаноподобни (Pelicaniformes)
- Разред Щъркелоподобни (Ciconiiformes)
- Разред Гъскоподобни (Anseriformes)

Разред Соколоподобни (Falconiformes)
Разред Жеравоподобни (Gruiformes)
Разред Кокошоподобни (Galliformes)
Разред Дъждосвирцоподобни (Charadriiformes)
Разред Гълъбоподобни (Columbiformes)
Разред Совоподобни (Strigiformes)
Разред Козодоеподобни (Caprimulgiformes)
Разред Синявицоподобни (Coraciiformes)
Разред Кълвачоподобни (Piciformes)
Разред Вrabчоподобни (Passeriformes)

I. Сърце (Cor, Cardia). Морфологичен строеж

Сърцето е кух орган с форма на неправилен конус и тегло средно от 250 до 300 грама. Намира се в гръдната кухина между двата бели дроба, зад гръдната кост и хрущялните части на ребрата, като лежи върху горната повърхност на диафрагмата. Разположено е косо в гръдния кош, като около две трети от него се намират вляво от срединната линия.

1. Околосърдечна торбичка

Сърцето е обвито от трислойна торбичка наречена перикард. Външният слой, наречен фиброзен перикард, е изграден от плътна съединителна тъкан. С долната си част той се прикрепва към горната повърхност на диафрагмата, а нагоре се слива с големите кръвоносни съдове, които вливат или изнасят кръв от сърцето. Фиброзният перикард функционира като твърда външна обвивка, която поддържа сърцето и го предпазва от препълване с кръв. Отвътре на фиброзния перикард е разположена двуслойна серозна торбичка – серозен перикард. Външният, париетален слой на серозната торбичка се прикрепва към фиброзния перикард. Този слой е непрекъснат и продължава във вътрешния, висцерален слой на перикарда, наречен епикард, който се свързва със сърцето и се смята за част от сърдечната стена. Между париеталния и висцералния слой на серозния перикард се намира цепковидно пространство, изпълнено с лубрикантна течност, която намалява триенето между сърцето и серозния слой при сърдечните съкращения.

2. Устройство на сърдечната стена

Стената на сърцето е изградена от 3 богато кръвоснабдени слоя – външен (*епикард*), среден (*миокард*) и вътрешен (*ендокард*).

Епикардът е висцералния слой на серозния перикард. Той се прикрепва към миокарда чрез слой от хлабава съединителна тъкан и често е инфилтриран с мазнини, особено при по-възрастни хора.

Миокардът е функционалният слой на сърцето и е с най-голяма дебелина. Съставен е от специализирани мускулни влакна, които се свързват по между си и образуват мрежа. Тези клетки са заобиколени от съединителна тъкан, която свързва мускулните клетки в издължени, циркулярно и спирално ориентирани снопчета. Дебелината на миокарда е различна в отделните кухини на сърцето, като той е най-дебел в лявата камера. Мускулатурата на предсърдията и камерите е напълно отделена една от друга, което не позволява едновременното им съкращение. Това важно разделение се осъществява от *фиброзния скелет* на сърцето. Той се разполага в равнината между предсърдията и камерите, около сърдечните клапи. Изграден от плътна съединителна тъкан и изпълнява няколко важни функции. Той служи като опора и място за залавяне на клапните платна. Освен това, той предпазва клапните отвори от прекомерно разширяване при преминаването на кръвта през тях по време на сърдечния цикъл. Допълнително, фиброзният скелет служи като място за залавяне на мускулните снопчета на миокарда на предсърдията и камерите. Фиброзният скелет осигурява и електрическа изолация между предсърдията и камерите, като не допуска директното предаване на електричните импулси между тях. Последната функция е от ключово значение за правилната координация на съкращенията на предсърдията и камерите и за нормалната работа на сърцето.

Ендокардът е най-вътрешния слой и покрива отвътре сърдечните кухини и клапите на сърцето. Той е изграден от плосък епител, разположен върху тънък слой съединителна тъкан.

Стената на сърдечните камери не е с еднаква дебелина във всички кухини. В предсърдията тя е много по-тънка от тази на камерите, понеже предсърдията изтласкват кръвта при по-ниско налягане. Стената на лявата камера е значително по-дебела от тази на дясната камера, което ѝ позволява да създава по-високо налягане за системното кръвообращение.

3. Сърдечни кухини

Четирите кухини на сърцето са ляво и дясно предсърдие, лява и дясна камера. Отвътре, сърдечните кухини са разделени надлъжно от сърдечна преграда, наречена септум. Отвън, границите между четирите кухини се бележат от две бразди. Първата, коронарна бразда, очертава границата между предсърдията и камерите. Втората бразда е съставена от предна междукamерна

бразда, която маркира предната позиция на междукамерния септум и задна междукамерна бразда, която разделя двете камери на задната повърхност на сърцето.

Дясното предсърдие (*atrium dextrum*) образува дясната част на основата на сърцето и получава бедна на кислород кръв от системното кръвообращение чрез 3 вени: горна куха вена (*vena cava superior*), долна куха вена (*vena cava inferior*) и коронарния синус (*sinus coronarius*). На медиалната повърхност на предсърдието, в междупредсърдната част на септума, се намира плитка окръглена ямка, *fossa ovalis*. Тя е мястото на затворения овален отвор, през който кръвта от дясното предсърдие преминва в лявото предсърдие по време на ембрионалното развитие. Дясното предсърдие се отваря в дясната камера чрез дясна предсърдно-камерна клапа.

Дясната камера (*ventriculus dexter*) формира по-голямата част от предната повърхност на сърцето. Тя получава кръв от дясното предсърдие и изпомпва кръв към белодробното кръвообращение през артерия наречена белодробен ствол. Отворът между дясното предсърдие и белодробния ствол се затваря от полулунна клапа. Стената на камерата е неравна и притежава мрежа от изпъкнали мускулни снопчета, които образуват папиларни мускули. От върховете на папиларните мускули към ръбчетата на платната на дясната предсърдно-камерна клапа се обтягат сухожилни нишки.

Лявото предсърдие (*atrium sinistrum*) съставлява по-голямата част от горната задна повърхност на сърцето. То получава богата на кислород кръв, която идва от белите дробове чрез 2 леви и 2 десни белодробни вени. Лявото предсърдие изпомпва кръв в лявата камера чрез отвор, в който се разполага лявата предсърдно-камерна клапа (митрална клапа).

Лявата камера (*ventriculus sinister*) формира върха на сърцето и по-голямата част от задната му повърхност. Тя изпомпва кръв към системното кръвообращение през аортата, в основата, на която се намира полулунна клапа. Както и дясната камера, тази също има папиларни мускули и сухожилни нишки, свързани с платната на лявата предсърдно-камерна клапа.

4. Сърдечни клапи

Сърдечните клапи се отварят (кръвта преминава през тях) и се затварят (предотвратяват връщането на кръвта) в отговор на различното налягане на кръвта от двете страни на клапата. Те осигуряват еднопосочното движение на кръвта в сърцето – от предсърдията към камерите и от камерите към големите артерии. Всяка сърдечна клапа се състои от 2 или 3 платна, които са въгвания на ендокарда, подсилен с ядра от плътна съединителна тъкан.

Предсърдно-камерните клапи са разположени в отвора между предсърдието и съответната камера – дясна предсърдно-камерна клапа (триплатна) и лява предсърдно-камерна клапа (двуплатна). Тези клапи предотвратяват връщането на кръвта към предсърдията по време на съкращението на камерите. Сухожилните нишки и папиларните мускули, които са свързани с тези клапи ограничават платната им да не се обръщат към предсърдията при камерното съкращение.

Разположени в началото на големите артерии са двете *полулунни клапи* – аортна и белодробна, всяка от които е изградена от 3 платна. Те предотвратяват връщането на кръвта от големите артерии към сърдечните камери.

5. Проводна система на сърцето

Импульсопроводната мускулатура на сърцето има свойството да генерира и провежда електрични импулси, които стимулират миокарда да се съкращава ритмично в правилната последователност. Това свойство е характерно за самата сърдечна мускулатура и не зависи от външни нервни сигнали. Състои се от синусопредсърден възел, предсърднокамерен възел и предсърдно-камерно снопче (Снопче на Хис).

Синусопредсърдният възел определя основната честота на сърдечната дейност. Той е разположен в стената на дясното предсърдие, непосредствено под входа на горната куха вена и генерира приблизително 70 – 80 електрични импулса в минута, поради това се нарича пейсмейкър на сърцето. От него импулсите се разпространяват по мускулните влакна на предсърдията, което предизвиква тяхното съкращение. Някой от тези импулси стигат до *предсърднокамерния възел*. Той е разположен в задната част на междупредсърдната преграда. След кратко забавяне тук, импулсите преминават към *снопчето на Хис*, което навлиза в междукамерната преграда и се разделя на дясно и ляво краче. В края си тези крачета се разнищват и образуват мрежа от нишки, наречени *нишки на Пуркине*. Те достигат до върха на сърцето, след което тръгват нагоре по стената на камерите. Тази организация гарантира, че съкращението на камерите започва от върха на сърцето и върви нагоре, така че кръвта се изтласква към артериите.

II. Физиологични свойства на миокарда

1. Миокардът притежава специфични физиологични свойства, които осигуряват ритмичната и координирана работа на сърцето:

Възбудимостта е основно функционално свойство на сърдечния мускул, което се изразява в способността на кардиомиоцитите да реагират на адекватен дразнител чрез възникване на акционен потенциал (потенциал на действие). Тя зависи от състоянието на клетъчната мембрана и от йонните канали, участващи в деполяризацията и реполяризацията.

Проводимостта е друго характерно свойство на клетките на миокарда, което представлява способността на възникналото възбуждане да се разпространява от клетка на клетка и да обхваща последователно различните части на сърцето. Посредством специализираната проводна система се осъществява организирано и координирано разпространение на възбуждането в миокарда, което води до последователно и синхронизирано съкращение на предсърдията и камерите, необходимо за адекватното кръвообращение.

Автоматията е уникално свойство на сърцето, което му позволява самостоятелно да генерира ритмични електрични импулси без външен нервен стимул. Това свойство е най-силно изразено в част от проводната система на сърцето – в клетките на синусопредсърдния възел.

Съкратимостта е свойство на миокарда отразяващо способността на сърцето да развива сила и да се съкращава в отговор на възбуждане. Тя зависи от концентрацията на калциеви йони в клетката, както и от функционалното състояние на съкратителния апарат.

Рефрактерността е свойството на сърдечния мускул временно да губи способността си да отговаря на нови дразнения след възникване на акционен потенциал. Тя включва абсолютна и относителна рефрактерна фаза и има ключово значение за ритмичната и координирана работа на сърцето. Благодарение на продължителния рефрактерен период се предотвратява тетанично съкращение на миокарда.

Взаимовръзката между тези свойства осигурява ефективната помпена функция на сърцето и адаптацията му към променящите се физиологични нужди на организма.

2. Сърдечен цикъл

Сърдечният цикъл представлява последователността от механични и електрически събития, които настъпват по време на едно съкращение и отпускане на сърцето, осигурявайки ефективното пълнене и изтласкване на кръвта. Общата продължителност на един сърдечен цикъл е приблизително 0,8 секунди, при честота 75 удара в минута. Той включва координирани фази на систола и диастола на предсърдията и камерите. Цикълът започва с предсърдна систола (с продължителност $\approx 0,1$ s), при която допълнително количество кръв постъпва в камерите и се формира нейният краен диастолен обем. Следва предсърдна диастола (с продължителност $\approx 0,7$ s) камерната систола (с продължителност $\approx 0,3$ s), която започва с фаза на изометрично съкращение, характеризираща се с бързо нарастване на вътрекамерното налягане при затворени клапи. Когато налягането в камерите надвиши това в аортата и белодробната артерия, полулунните клапи се отварят и започва фазата на изтласкване. През този етап определено количество кръв от камерите (ударен обем) се изпомпва в артериалната система. Камерната систола завършва с отпускане на миокарда и спад на налягането. Началото на камерната диастола (обща продължителност $\approx 0,5$ s) се бележи от затварянето на аортната и белодробната клапа, което предотвратява обратния кръвоток, последвано от фазата на изометрично отпускане. При по-нататъшно понижаване на камерното налягане предсърдно-камерните клапи се отварят и започва бързото пълнене на камерите. То постепенно преминава в бавно пълнене, когато налягането в предсърдията и камерите се изравни. В края на диастолата нова предсърдна систола подготвя сърцето за следващия цикъл. Всички фази на сърдечния цикъл са тясно свързани с промени в налягането, обема и електричната активност на сърцето. Тази синхронизация осигурява ефективна помпена функция при различни физиологични условия.

Помпена функция на сърцето

Сърцето поддържа адекватен кръвен поток чрез регулиране на артериалното кръвно налягане и честотата и силата на съкращенията. Силата на съкращението зависи от процесите на възбуждане–съкращение, количеството вътреклетъчен калций и механичните условия на пълнене.

Процесите на възбуждане–съкращение (систола) се регулират от нервната система и от циркулиращи хуморални фактори. При настъпване на потенциал на действие калциеви йони навлизат в кардиомиоцитите през специфичен тип калциеви канали и предизвикват освобождаване

на допълнително количество Ca^{2+} от саркоплазмения ретикулум – механизъм, известен като калций-индуцирано освобождаване на калций. Полученото временно повишаване на втретклетъчната концентрация на Ca^{2+} активира миофиламентите чрез свързване с тропонин С и предизвиква съкращение. Силата на съкращаването зависи от количеството освободен Ca^{2+} , което се регулира от активността на калциевите канали, натриево-калциев обменник и натрупването на Ca^{++} в саркоплазмения ретикулум. Нервната и хуморалната регулация, например, действието на адреналин и норадреналин – модулира този процес, като засилва навлизането в цитоплазмата на Ca^{++} и обратното му връщане в саркоплазмения ретикулум, с което се увеличава силата и честотата на сърдечните съкращения.

Диастола

Пълното отпускане (диастола) на сърдечния мускул след всяко съкращение е от решаващо значение за нормалната сърдечна функция. Камерите могат да се напълнят с кръв, постъпваща от системното и белодробното кръвообращение, едва след като процесът на релаксация е започнал. В края на систолата навлизането на калциеви йони (Ca^{++}) в клетката спира, а освобождаването им от саркоплазмения ретикулум се прекратява. Това позволява бърза реабсорбция на калция от цитоплазмата на кардиомиоцитите. С намаляването на втретклетъчната концентрация на Ca^{++} той се отделя от тропонин С, което води до отделяне на актин-миозиновите мостчета и настъпване на отпускане на мускулните влакна.

III. Основни показатели на работата на сърцето

Основните показатели на работата на сърцето включват ударен обем, минутен обем, честота на сърдечните съкращения и артериално кръвно налягане.

Ударният обем (УО) се дефинира като количеството кръв, изтласквано от всяка камера при едно камерно съкращение, като при здрави възрастни индивиди стойността му е приблизително 70 милилитра за удар. Този показател се определя основно от съкратителната сила на миокарда и от степента на камерно пълнене в края на диастолата, изразена чрез крайния диастолен обем. Съкратителната сила на миокарда характеризира способността на сърдечния мускул да развива сила независимо от първоначалното разтягане на мускулните влакна. Неговата регулация се осъществява предимно от симпатиковата нервна система, която чрез увеличаване на втретклетъчната концентрация на калциеви йони усилва силата на съкращение. В резултат на това се наблюдава повишаване на ударния и минутния обем. Крайният диастолен обем зависи основно от венозното връщане на кръв към сърцето и продължителността на диастолата. По-голямото венозно връщане и по-продължителната диастола водят до увеличаване на крайния диастолен обем, което допринася за по-голям ударен обем.

Минутния обем (МО) се получава чрез умножаване на ударния обем по сърдечната честота (СЧ) и показва общия обем кръв, изпомпван от сърцето за една минута ($\text{МО} = \text{УО} \times \text{СЧ}$).

Сърдечната честота е показател за дейността на сърцето, която в условия на покой при възрастни индивиди обикновено варира в границите 60 – 80 удара в минута и оказва пряко влияние върху минутния обем. При умерено увеличаване на сърдечната честота минутният обем нараства, докато при значително ускоряване на сърдечния ритъм времето за диастолен пълнене на камерите се съкращава, което може да предизвика редукция на ударния обем. По време на физическо натоварване минутният обем на сърцето може да достигне стойности от порядъка на 20 – 25 l/min, особено при добре тренирани индивиди.

Хуморалните фактори, включително катехоламините адреналин и норадреналин, допринасят за увеличаване на ударния и минутния обем чрез повишаване на съкратителната сила на миокарда, подобно на симпатиковата нервна система.

Венозният тонус регулира венозното връщане към сърцето, като по този начин влияе на крайния диастолен обем и, косвено, на ударния обем.

Чрез интегрираното действие на тези регулаторни механизми сърцето осигурява адекватен кръвоток при различни физиологични състояния.

Артериалното кръвно налягане представлява друг важен показател за функцията на сърцето и се определя от стойностите на систоличното (СН) и диастоличното артериално налягане (ДН). Систоличното артериално налягане отразява максималното налягане в артериите на системното кръвообращение по време на систолата, когато лявата камера изтласква кръвта в аортата, докато диастоличното налягане представлява минималната стойност на налягането в артериите

от системното кръвообращение, по време на диастолата, когато сърцето се отпуска и камерите се пълнят с кръв. Тези показатели отразяват механичното натоварване върху стените на артериите и при здрави възрастни индивиди в покой средните им стойности са приблизително 120 mmHg за систоличното и 80 mmHg за диастоличното налягане. Разликата между тях се определя като пулсово налягане и обикновено варира между 30 и 50 mmHg.

Средното артериално налягане представлява средната хидростатична стойност на налягането в артериите през целия сърдечен цикъл и е основен фактор за поддържането на ефективната перфузия на органите. То се изчислява като диастоличното налягане плюс една трета от пулсовото налягане ($ДН + ПН/3$) и при здрави възрастни в покой е приблизително 90 – 95 mmHg.

Артериалното кръвно налягане зависи от минутния обем на сърцето и общото периферно съдово съпротивление. Както беше коментирано по-горе, минутният обем в покой е приблизително 5 l/min, като нараства значително при физическо натоварване и от своя страна зависи от сърдечната честота. Периферното съпротивление зависи основно от тонуса на гладката мускулатура в артериолите и техния радиус. С напредване на възрастта намаляването на еластичността на артериалните съдове води до постепенно увеличение на периферното съпротивление, а с него и систоличното артериално налягане.

Регулация на сърдечно-съдовата система

Регулацията на сърдечно-съдовата система осигурява поддържането на адекватно кръвоснабдяване на органите при различни физиологични условия. Основни интегрални параметри, които са подложени на контрол е минутният обем на сърцето, сърдечната честота и артериалното кръвно налягане. Техните стойности се поддържат основно чрез хормони и от вегетативната нервна система. Артериалното кръвно налягане, например, е подложено на непрекъснат мониторинг чрез барорецептори, разположени в каротидния синус и аортната дъга, които реагират на промени в налягането в рамките на секунди и модулират симпатиковия и парасимпатиковия тонус. Повишаването на артериалното кръвно налягане, например, води до засилване на парасимпатиковия тонус и намаляване на сърдечната честота. При понижаване на артериалното кръвно налягане се активира симпатиковата нервна система, което повишава честотата и силата на сърдечните съкращения. Симпатиковата активация предизвиква също така вазоконстрикция на артериолите, което увеличава периферното съдово съпротивление и води до увеличаване на артериалното кръвно налягане.

От друга страна, съществуват и локални механизми на авторегулация, които позволяват адаптация на кръвотока спрямо моментните метаболитни нужди на тъканите. Намаляването на парциалното налягане на кислорода, например и повишаването на CO_2 водят до локална вазодилатация.

Паралелно с тези два бързи регулаторни механизма, съществува и дългосрочен контрол на артериалното кръвно налягане, която е тясно свързана с бъбречната функция и контрола на кръвния обем. Така например, ренин-ангиотензин-алдостероновата системата от хормони, инициирана от бъбреците, в отговор на ниско артериално налягане води до неговото повишаване чрез задържане на натрий и вода и чрез вазоконстрикция. Антидиуретичният хормон, който действа върху събирателните съдове в бъбреците също допринася за поддържането на артериалното налягане чрез влияние върху водния баланс, модулирайки общият обем на циркулиращата кръв и по този начин оказва съществено влияние върху венозното връщане и минутния обем на сърцето.

Чрез координираното действие на нервни, хуморални и локални механизми се осигурява относителна стабилност на функционалните параметри на сърцето при различни натоварвания и промени в околната среда.

Нервната система осъществява връзката на организма със средата и го адаптира към непрекъснато изменящите се условия в нея. Тя пуска в ход и регулира дейността на органите и системите, и осигурява функционалното единство на организма. Подялбата на нервната система (НС) се извършва по два принципа: топографски и функционален. Според топографския принцип НС е **централна**, чиито структури са разположени в черепната кухина и гръбначния канал (главен и гръбначен мозък) и **периферна**, чиито структури са извън тези кухини (периферни нерви, възли и рецептори). Според функционалния принцип НС е **соматична**, която осъществява връзката на организма с околната среда и осигурява инервацията на скелетните мускули и **вегетативна**, която регулира и координира дейността на вътрешните органи, кръвоносните съдове и жлезите.

Основната тъкан, която изгражда структурите на нервната система е нервната тъкан. Тя се

състои от два основни клетъчни типа: високоспециализирани функционални клетки (неврони) и клетки с поддържаща функция (глиални клетки). Невроните са способни да възприемат дразненията от външната или вътрешната среда на тялото, да се възбудят и да провеждат нервни импулси, а глиалните клетки (невроглия) имат опорна, трофична, защитна и секреторни функции. **Невронът** е основна морфологична и функционална структура на нервната тъкан (Фигура 1). Притежава клетъчно *тяло* (сума, перикарион);

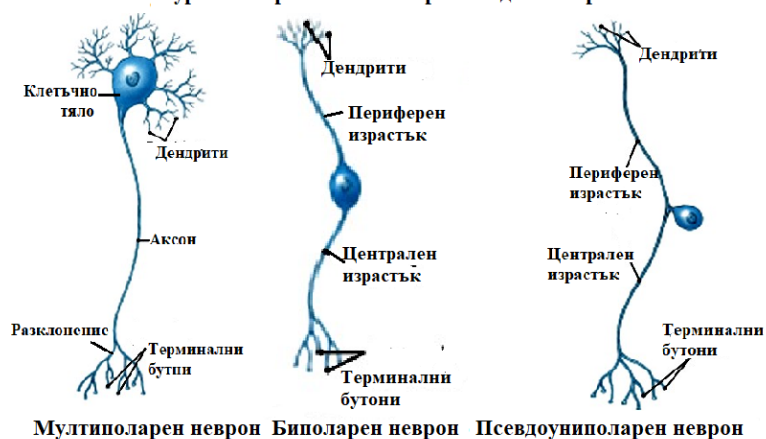
къси, разклонени в близост до тялото израстъци – *дендрити* и дълъг израстък, наречен *аксон* или неврит. Тялото съдържа основната част от цитоплазмата, ядрото и клетъчните органели. Нервният импулс се пренася от дендритите към перикариона и от него към аксона.

По-голямата част от аксоните са покрити с миелинова обвивка, която се образува от клетъчната мембрана на един вид невроглиялни клетки – Шванови клетки (в ПНС) и олигодендрцити (в ЦНС). На места миелиновата покривка се прекъсва – т.нар. *прищъпвания на Ранвие*. Миелинът е мастно-белтъчно вещество, което придава белезникав цвят на аксона. Действа като електрически изолатор, предотвратявайки разсейването на импулсите и позволявайки им да „скачат“ между прекъсванията на Ранвие. Миелиновата обвивка е свързана с провеждане на възбудеността. Колкото е по-дебела, толкова по-голяма е скоростта на провеждане. Аксоните в края се разклоняват и завършват с окончания, наречени *терминални бутони*. Невронът има свойства на секреторна клетка. В перикариона се синтезират химични вещества (медиатори или невротрансмитери), които се пренасят до терминалните бутони и имат голямо значение при предаване на нервния импулс от един неврон на друг.

Видове неврони. Класификацията на невроните може да се направи по различни критерии:

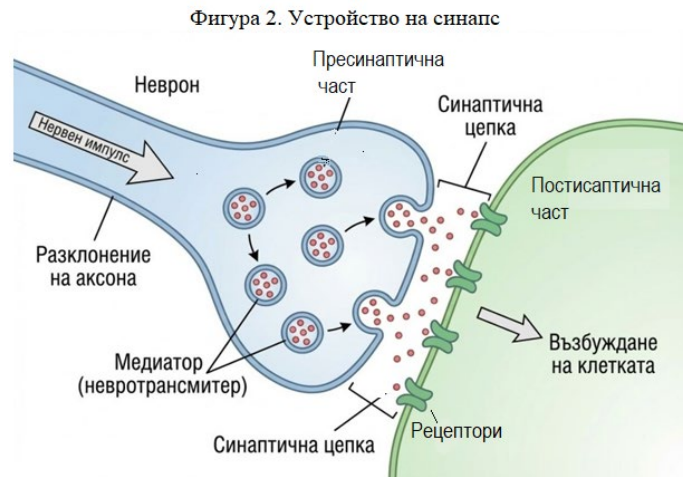
1. Според скоростта на провеждане: **А** неврони – богато миелинизирани, провеждат с най-голяма скорост. **В** неврони – слабо миелинизирани, провеждат с по-малка скорост. **С** неврони – немиелинизирани, провеждат с най-малка скорост.
2. Според големината на перикариона: клетъчното тяло варира в широки граници – от 3 – 4 μm до 120 μm и в зависимост от това невроните се делят на – гигантски, големи, средни, малки и много малки.
3. Според формата на клетъчното тяло: звездовидни, пирамидни, крушовидни, вретеновидни, овални и пр.

Фигура 1. Устройство на неврон. Видове неврони.



4. Според броя на израстъците: *многополюсни* (мултиполарни) – имат много дендрити и един аксон и са най-много в нервната система; *двуполюсни* (биполарни) – имат два израстъка, изхождащи от двата полюса на тялото. Единият (по-къс) израстък, е централен и е насочен към структурите на ЦНС, а другият (по-дълъг), е периферен, достигащ до рецептори, разположени в различни части на тялото; *псевдоеднополюсни* (псевдоуниполарни) – имат един къс израстък, който Т-образно се разделя на два противоположни клона (периферен и централен).
5. Според функциите невроните биват: сетивни, двигателни и междинни (интерневрони).
6. Според посоката на провеждане на нервните импулси – аферентни (пренасят импулси от периферията към мозъка), еферентни (пренасят импулси от мозъка към периферията) и асоциативни (свързват аферентните с еферентните неврони).

Невроните се свързват помежду си чрез **синапси** (Фигура 2). Те представляват специализирани контакти между две нервни клетки или между нервна и ефекторна клетка (мускулна или жлезиста), чрез които става предаване на нервния импулс. Синапсът има три части: 1. *пресинаптична част* – това най-често е крайното окончание на аксона (мембраната на терминалния бутон). Тази част е разширена и съдържа множество митохондрии и малки мехурчета (везикули) с определено химическо вещество (медиатор). 2. *постсинаптична част* – това е мембраната на следващия неврон. На нея се разполагат рецептори (протеини), които могат специфично да се свържат с медиатора. 3. *синаптична цепка* – пространството между двете части, което е широко около 20 nm. Когато нервният импулс достигне пресинаптичната част, медиаторът се отделя от везикулите, дифундира в синаптичната цепка и се свързва с рецепторите на постсинаптичната част. В резултат на това настъпва деполяризация (възбуждане) или хиперполяризация (задържане) на постсинаптичната мембрана в зависимост от характера на медиатора. Според контактуващите части на невроните синапсите биват: *аксо-соматични*, *аксо-дендритни*, *аксо-аксонални* и *дендро-дендритни*.



В ЦНС нервната тъкан е организирана в сиво и бяло мозъчно вещество. **Сивото вещество** (substantia grisea) е изградено от телата на невроните, дендритите, невроглия и кръвоносни съдове. **Бялото вещество** (substantia alba) е изградено от аксоните на невроните, невроглия и кръвоносни съдове. Аксоните в бялото вещество се групират и образуват добре оформени снопчета.

Произход. НС произлиза от ектодермата. По гръбната страна на зародиша се появява нервна пластинка (плочка), която към края на първия месец се превръща в нервна тръба. Предният край на тръбата задебелява и от него се обособяват три мозъчни мехурчета (предно, средно и задно), от които по-късно се развиват частите на главния мозък. От задния край на тръбата се оформя гръбначния мозък.

Краен мозък – външно описание на хемисферите и вътрешен строеж.

Крайният мозък (telencephalon) се развива от предното мозъчно мехурче във връзка с обонянето, инстинктивното и съзнателно поведение на човека. Той е най-голямата част на главния мозък и представлява 80% от масата му. Нарича се още голям мозък (cerebrum). Изграден е от две **полукулба** (хемисфери), разделени едно от друго с надлъжна цепка, в дъното на която се намира бяло образувание, наречено **мазлесто тяло** (corpus callosum). То е съставено от миелинови нервни влакна, преминаващи от едната в другата хемисфера. Полукулбите имат овална издължена форма с *три повърхности*: горновъншна (изпъкнала), медиална (плоска) и долна. По повърхността на полукулбите преминават множество бразди (sulci cerebri), които ограничават мозъчни гънки или извивки (gyri cerebri). От три основни бразди (*централна, латерална и темменно-тилна*), полукулбите се разделя на **четири дяла**: *челен* (lobus frontalis), *теменен* (lobus

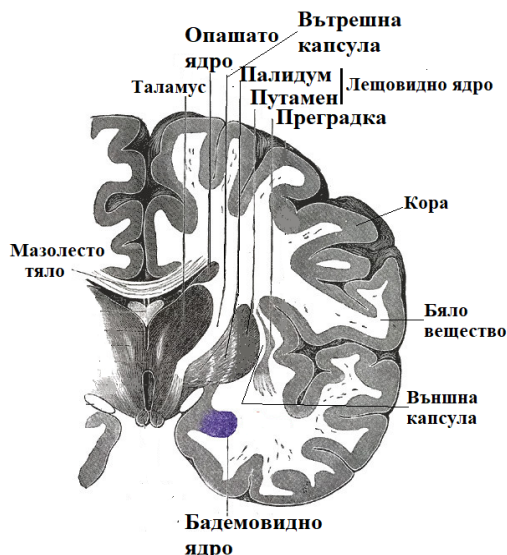
parietalis), *тилен* (lobus occipitalis) и *слепоочен* (lobus temporalis). Във всеки дял се намират бразди от втори порядък, които ограничават съответни мозъчни извивки (фигура 3). По-важни извивки на полукулбото са: По горно – външната повърхност в **челния дял** – предцентрална гънка (*гирус прецентралис*) и три челни гънки (*гирус фронталис супериор*, *гирус фронталис медиус*, *гирус фронталис инфериор*); в **теменния дял** – задцентрална гънка (*гирус постцентралис*) и две теменни делчета – горно и долно (*лобулус париеталис супериор* и *лобулус париеталис инфериор*); в **слепоочния дял** – три хоризонтални слепоочни гънки (*гирус темпоралис супериор*, *гирус темпоралис медиус*, *гирус темпоралис инфериор*); в **тилния дял** – няколко тилни гънки (*гири оксипиталис*). По медиалната повърхност – поясна гънка (*гирус цингули*), клин (*кунеус*), предклиние (*прекунеус*), парацентрално делче (*лобулус парацентралис*). По долната повърхност – права гънка (*гирус ректус*), орбитални гънки (*гири орбиталис*), парахипокампова гънка (*гирус парахипокампа-лис*).

Фигура 3. Бразди и гънки на хемисферите



Всяко полукулбо се състои от части, с различна филогенетична възраст: *мозъчна кора*, *бяло мозъчно вещество*, *базални ядра*, *странично мозъчно стомахче*, *обонятелен мозък*, *лимбична система*. **Мозъчната кора** (*cortex cerebri*) е най-силно развита и покрива останалите части като плащ. Във филогенетично отношение тя е най-младото образуване на нервната система (неенцефална част). **Бялото вещество** (*substantia alba*) също е неенцефална част. Изградено е от нервни влакна, невроглия и кръвоносни съдове. Според посоката си нервните влакна са три вида: 1) *асоциативни* – свързват части на едно и също полукулбо. Те биват *къси*, свързващи съседни извивки и *дълги*, свързващи различните дялове на полукулбото; 2) *комисурални влакна* – свързват симетрични части от двете полукулба, влизайки в състава предимно на мазолестото тяло; 3) *проекционни влакна* – свързват кората на хемисферите с други части на главовия мозък и с гръбначния мозък. Съобразно посоката, в която провеждат влакната биват *низходящи* – двигателни, достигащи до по-ниско стоящи части на ЦНС и *възходящи* – сетивни, идващи от други части на мозъка до кората. **Базалните ядра** на хемисферите представляват струпвания от сиво вещество (видими при срез) в основата на полукулбата, сред бялото вещество (фигура 3). Към базалните ядра спадат: *опашато ядро* (*nucleus caudatus*) – има форма на запетая и дължина около 7 см. Притежава широка предна част – глава и дълга опашка, която се извива върху таламуса от междинния мозък; *лещовидно ядро* (*nucleus lentiformis*) – разполага се латерално от опашатото

Фигура 4. Базални ядра на хемисферите



ядро, като се отделя от него чрез слой бяло вещество (*вътрешна капсула*). Има форма на двойно-изпъкнала леща. Състои се от външна, по-тъмна част – *черупка* (путамен) и вътрешна, по-светла част – *бледо тяло* (палидум). Опашатото и лещовидното ядро, заедно с разположеното по между им бяло вещество формират т.нар. *ивичесто тяло* (*corpus striatum*). Двете ядра функционират в тясно взаимодействие с коровите двигателни зони и до голяма степен са отговорни за двигателния контрол на тялото. Имат ключово участие в екстрапирамидната система, осигурявайки плавност, прецизност и координация на произволните движения, както и в регулиране на мускулния тонус. Увреждането на различни части от ядрата предизвиква сложни нарушения в регулацията на движенията – т.нар. паркинсонов синдром (тремор, мас-

ковидно лице, скованост на мускулите и др.); *преградката* (claustrum) представлява вертикална нагъната сива пластинка, с дебелина 1 – 2 мм, разположена в страни от лещовидното ядро. От него се отделя чрез тънък слой бяло вещество (външна капсула); *бадемовидното ядро* (corpus amigdaloidum) е сива маса, намираща се в дълбочина на бялото вещество в слепоочния дял. То е основна част на лимбичната система. **Страничното мозъчно стомахче** (ventriculus lateralis) е чифтна кухня, разположена във вътрешността на съответната хемисфера (лява и дясна) и е остатък от ембрионалното предно мозъчно мехурче. Състои се от четири части, разположени в различните дялове на хемисферата: *централна част* – в теменния дял; *преден рог* – в челния дял; *задан рог* – в тилния дял; *долен рог* – в слепоочния дял. Във вътрешността на стомахчето има съдов сплит, отделящ цереброспинална течност (ликвор). Чрез отвора на Монро предният рог се свързва с кухнята на третото мозъчно стомахче в междинния мозък. **Обонятелният мозък** е свързан с приемане и анализиране на обонятелната информация. Това е филогенетично най-старата част на полукълбото, която у човека е сравнително слабо развита.

Има два дяла – периферен и централен. **Периферният дял** включва няколко, свързани едно с друго, образувания: *обонятелна луковица*, *обонятелен път*, *обонятелен триъгълник*, *обонятелно поле*. Структурите залягат по долната повърхност на челния дял. Те приемат и обработва първичната информация за миризмите, разграничавайки различните аромати. След това предават данните към централния дял на мозъка за по-нататъшна интерпретация. Към **Централният дял** се отнасят главно: *извивка на морския кон* (gyrus hippocampus) – особена гънка на кората, вдадена (втлачена) в долния рог на страничното стомахче и изолирана с бяло вещество; *бадемовидно ядро* (амигдала). Хипокамът участва в запаметяването на миризмите, а амигдалата добавя емоционален заряд, правейки спомените за различните аромати емоционално наситени. Обонятелният мозък има много връзки с лимбичната система, като някои от неговите структури са част от тази система. **Лимбичната система** включва мозъчни структури, разположени около мазолестото тяло. Тя отговаря за емоционалното състояние, настроенията, паметта, инстинктите и обонянето. Морфологично към нея се отнасят едни от най-старите образувания на кората: *извивка на морския кон* (хипокамп) – има основна роля при обучение и памет – формиране на краткосрочна памет и нейното преминаване в дългосрочна; *поясна гънка*, *парахипокампова гънка*, *зъбчатата гънка* – ключови корови структури, свързани с внимание, пространствено възприемане и формиране на спомени. Освен корови гънки към лимбичната система се отнасят и редица ядра: *бадемовидното ядро* – обработва емоции като страх и гняв, участва в емоционалната памет и формиране на реакции „борба или бягство“; някои *ядра на междинния мозък* (сисовидни телца, ядра на таламус и на епиталамус). Всички части на лимбичната система са свързани помежду си чрез нервни влакна. Невроните на тази система притежават и многобройни връзки с кората, с мрежестата формация и с хипоталамуса. По този начин в лимбичната система се осъществява интеграция на соматична, вегетативна и обонятелна информация.

Кора на крайния мозък. Цито- и миелоархитектоника на кората

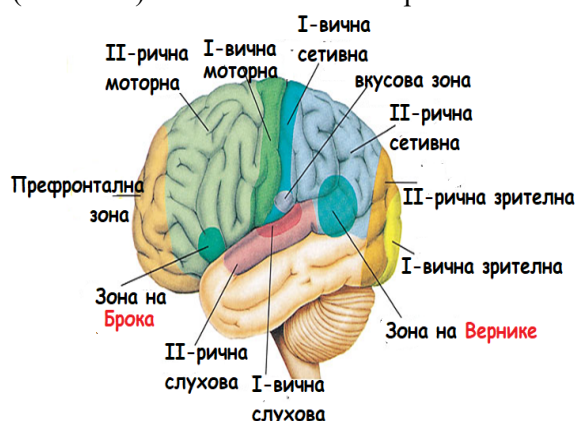
Кората (cortex cerebri) представлява слой сиво вещество, покриващо повърхността на хемисферите. Дебелината ѝ варира от 1.5 до 5 mm. Тя е силно набраздена и нагъната. Съдържа около 14 – 20 милиарда неврони, които влизат в множество контакти. В строежа ѝ участват разнообразни по форма, големина и функции нервни клетки, които се групират в два основни типа: пирамидни и зърнести (звездовидни). *Пирамидните* неврони са най-многобройните клетки (66%). Тяхната големина варира между 15 – 120 μm. *Зърнестите* неврони са с по-малък размер (8 – 14 μm), с редуцирана цитоплазма и силно разклонени дендрити. Те са около 33% и съществуват в няколко разновидности (вретеновидни клетки, хоризонтални клетки на Кахал, клетки на Мартиноти, кошничкови клетки и др.). В кората клетките се подреждат по определен начин, като образуват слоеве, които се различат по количество и вид на изграждащите ги неврони. Това подреждане на клетките в слоеве се нарича **цитоархитектоника**. В по-голямата част от кората (9/10) клетките образуват шест слоя. Такава кора се обозначава като *еднаква кора* (*изокорткс*). От повърхността към дълбочината слоевете са: I. молекулярен слой – предимно неvroглиялни клетки и преплетени нервни влакна; II. външен зърнест слой – малки зърнести и пирамидни клетки; III. външен пирамиден слой – малки до средно големи пирамидни клетки; IV. вътрешен зърнест слой – малки зърнести клетки; V. вътрешен пирамиден слой – големи пирамидни клетки (гигантски клетки на Бец); VI. полиморфен слой – разнообразни по форма клетки. Останалата 1/10 от мозъчната кора има по-малко слоеве (3 – 4 слоя) и се обозначава като *друга кора* (*алокорткс*).

Израстъците на невроните в кората също са подредени в определен ред и това се нарича **миело-архитектоника**. Нервните влакна се разполагат в кората в две посоки: вертикално или хоризонтално. *Вертикалните влакна* според посоката на провеждане са аферентни или еферентни. *Хоризонталните влакна* формират бели ивици, разграничаващи отделните слоеве на кората.

Локализация на функциите в кората

Кората е най-новата формация в строежа на нервната система и в нея са локализирани най-висшите нервни функции като мислене, памет, говор, въображение, планиране, сензорна обработка и пр. На функциите на кората са подчинени пряко или косвено всички останали части на нервната система. Във функционално отношение кората се разделя на различни зони – първични зони (сетивни и двигателни), вторични зони (асоциативни) и третични зони (психични). По-важни зони на кората са:

Първична моторна зона – разположена предимно в предцентралната гънка. От тук започват пирамидните пътища, свързани с волевите движения в противоположната половина на тялото. Увреждането на зоната води до *парализа* на противоположната мускулатура. **Вторична моторна зона** (асоциативна зона) – обхваща задните части на трите челни гънки. От тук се подреждат и съгласуват в последователен ред отделните движения. При увреждане настъпва *несръчност (апраксия)* – невъзможност за координация на отделните движения при изпълнение на сложно действие. **Префронтална зона**



(третична зона) – заема предната част на челния дял (челния полюс). Това е ключова област в мозъка, обработваща когнитивна информация. Регулира социалното поведение, емоциите и вземането на решения. Увреждането на зоната води до разстройство на личността – антисоциално поведение, нарушения в планирането, преценката и контрола на импулсите, постепенна деградация. **Първична соматосетивна зона** – обхваща предимно задцентралната гънка. До нея достига информация за повърхностна и дълбока (проприоцептивна) сетивност. При увреждане настъпва пълна безчувственост. **Вторична соматосетивна зона** (асоциативна зона). Обхваща областта на горното теменно делче. Тук се анализират и синтезират тактилни усещания. При увреждане настъпва **тактилна агнозия** – невъзможност за разпознаване на предметите чрез опипване. **Първична зрителна зона** – обхваща гънки в тилния дял, около браздата на птичата шпора. До тази част достигат първични зрителни усещания (светлинни сигнали). При увреждане настъпва слепота. **Вторична зрителна зона** (асоциативна зона) – в тилния дял, около първичната зона. Тук се анализират и асоциират първичните зрителни сигнали и се различават предметите, разположението им в пространството и т.н. При увреждане на тази част настъпва **зрителна агнозия** – предметите се виждат, но не се разпознават. **Първична слухова зона** – обхваща средата на горната слепоочна гънка. Възприема първични звукови сигнали – честота, интензитет, посоката от която идват и пр. При увреждане на тази част настъпва глухота. **Вторична слухова зона** (асоциативна зона) – в горна слепоочна гънка, в близост до първичната слухова зона. В нея се извършва по-сложен анализ на звуковете – разпознаване на мелодии, език, емоционални нюанси и пр. При увреждането ѝ болният чува звуците, но не ги разпознава. **Обонятелна зона** – заема малка площ по медиалната страна на слепоочния дял (парахипокампова гънка). Тази зона обработва мирисни стимули и ги свързва с емоции чрез лимбичната система (амигдала, хипокамп). **Вкусова зона** – намира се в долната част на задцентралната гънка. Обработва вкусовите дразнения и ги интегрира с обоняние, допир и температура от устната кухина за цялостно усещане за вкус. **Центрове на речта** – разположени са в доминиращата хемисфера и отговарят за различни аспекти на речта: **двигателен център на устната реч** – в задната част на долната челна гънка (зона на Брока). При увреждане – загуба на говор (**двигателна афазия**); **слухов център на устната реч** – в задната част на горната слепоочна гънка (зона на Вернике). При увреждане болният чува думите, но не разбира техния смисъл (**слухова афазия**); **двигателен център на писмената реч** – отговаря за писането. Намира се в задната част на средната челна гънка. При увреждане – загуба на способност за писане (**аграфия**); **зрителен център на писмената реч** – отговаря за четенето. Намира се около края на страничната бразда. При увреждане – невъзможност за разчитане на написаното (**алексия**).

1. Физиология на възбудимите системи

1.1. Дразнимост и възбудимост

Всяка жива тъкан (растителна и животинска) притежава свойството дразнимост – способността да се реагира на външни въздействия, наречени дразнители. Тази реакция има адаптивен характер, при която тъканите, подложени на дразнене, преминават от физиологично състояние на покой в състояние на биологична активност. При растителните и част от животинските тъкани реакцията към действието на дразнителя е локална, т.е. тя се проявява на мястото на действието на дразнителя.

Възбудимостта представлява способността на нервната, мускулната и жлезната тъкани да отговарят на действието на дразнителя така, че в организма се получава генерализиран ефект (движение, промяна в химическия състав и др.).

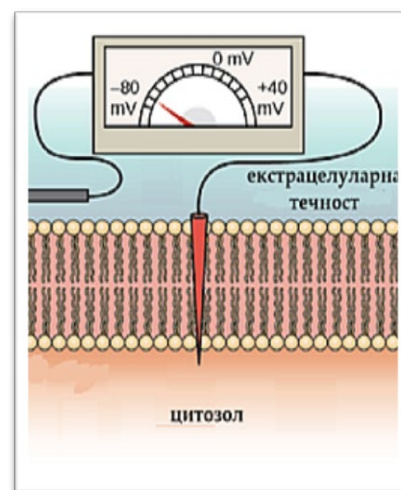
Механизмите на възбуждението са свързани с промени в проницаемостта на клетъчната мембрана (плазмолемата) за различни йони. Затова клетъчната мембрана на възбудимите клетки се нарича възбудима мембрана. Поради избирателната пропускливост на клетъчната мембрана за различните йони и функционирането на натриево-калиевите помпи в нея, се създават условия за получаване на разлика в електрическия потенциал от двете ѝ страни, която се нарича мембранен потенциал (биоелектрически потенциал). Той се обуславя се от наличието на разлика в потенциала между два йонни разтвора (екстрацелуларна и интрацелуларната течности), разделени чрез полупропусклива биомембрана.

1.2. Биоелектрически потенциали

Генерирането и разпространението на нервния импулс както и възникването на мускулното съкращение са обусловени от протичането на биоелектрически процеси във възбудимите системи. В зависимост от физиологичното състояние на нервната и мускулната тъкани съществуват следните биоелектрически потенциали – мембранен потенциал на покой, електротоничен потенциал, локален отговор, акционен потенциал (потенциал на действие) и постсинаптичен (рецепторен) потенциал.

Мембранен потенциал на покой. При физиологично състояние на покой, между външната повърхност на клетките и тяхната протоплазма съществува разлика в потенциала, наречена мембранен потенциал на покой. С помощта на чувствителен галванометър е установено, че вътрешната повърхност на мембраната има отрицателен заряд, а външната – положителен – фиг. 1.

Мембранный потенциал се дължи на електроизолаторните свойства на липопротеиновата мембрана на живата клетка. В зависимост от проницаемостта си, тя оказва съпротивление на преминаващите през нея йони, а с това и на протичащите йонни токове. Мембранный потенциал при възбудимите тъкани се съхранява за дълги периоди от време постоянен, ако клетките им не бъдат активирани посредством действието на различни външни въздействия. При нервните и мускулните клетки той винаги е с отрицателна стойност, като неговата величина е константа за всеки тип клетки. При топлокръвните той е от порядъка на -50 до -100 mV, с изключение на гладкомускулните клетки, при които той е по-нисък (-30 mV).



Фиг. 1. Електрически заряд на клетъчна мембрана

1.3. Промени в мембранный потенциал

При определени условия мембранный потенциал може да се променя (фиг. 2). Израз на тази промяна са явленията деполяризация, реполяризация и хиперполяризация на клетъчната мемб-

Деполяризацията на мембраната представлява намаляването на мембранный потенциал по абсолютна стойност – например от -75 mV на -55 mV . Тя настъпва когато движението на катиони към цитозола превишава движението на катиони в обратната посока.

Хиперполяризация на мембраната е израз на нарастването на мембранный потенциал по абсолютна стойност – например от -75 mV на -90 mV (мембранный потенциал става по-негативен). Хиперполяризация настъпва при по-голям поток на катиони навън от клетката или навлизане на аниони в цитоплазмата.

Причина за промяната на мембранный потенциал е изменение в пропускливостта на клетъчната мембрана. Тези изменения в пропускливостта са свързани с наличието на йонни каналчета в мембраните, които при определени условия (въздействия) се отварят или затварят – фиг. 3.



2.1. Морфoфункционална характеристика на нервната клетка

Дендрит

Сомат

Ядро

Миелинова обвивка

Швантова клетка

Аксон

Прекъсване на Ранвие

Крайно разклонение на аксона

В процеса на еволюцията броят на невроните в нервната система на организмите нараства. При безгръбначните броят им е от десет до няколкостотин, докато в мозъчната кора на човек

техният брой е около 18 милиарда. Невронът се състои от тяло (сома) с цитоплазма, множество къси протоплазмени израстъци (дендрити) и един дълъг цилиндричен израстък, наречен аксон (фиг. 3). В цитоплазмата на нервната клетка се съдържат голямо количество органели – митохондрии, апарат на Голджи, телца на Нисл и др. Телцата на Нисл са изградени от плътно разположен зърнест ендоплазматичен ретикулум заедно с множество от рибозоми и полирибозоми. В ендоплазмения ретикулум се извършва интензивен белтъчен синтез, обезпечаващ образуването на медиатори (невротрансмитери). За разлика от останалите соматични клетки ядрото на зрялата нервна клетка съдържа всички ядрени компоненти, в т.ч. и ядърце. Наличието им е свързано с непрекъснатия синтез на вещества, изграждащи клетъчните израстъци.

При някои нервни влакна мембраната на аксона е обвита от миелинова обвивка. Те се означават като миелинови. Миелинът представлява спирално навита мембрана, изградена от липиди (цереброзид, холестерол, лецитин и др.) и протеини (основен миелинов протеин, миелинов олигодендроцитен гликопротеин и протеолипиден протеин). По дължината на аксона в миелиновата обвивка се образуват канали с диаметър около 30 nm, наречени прекъсвания на Ранвие. Миелинът изпълнява ролята на диелектрик (електроизолатор), а прекъсванията на Ранвие имат „ретранслаторна“ функция – генерират, провеждат и усилват нервния импулс. В централната нервна система миелинът се синтезира от олигодендроцитите, а в периферната нервна система – от швановите клетки. При човека миелинизацията на нервните влакна е продължителен процес, който започва от около четиринадесетата седмица на бремеността и продължава до пубертета.

Аксоните на нервните клетки оформят нервните влакна, чрез което се осъществява предаването на възбудния процес на отдалечено разстояние от мястото на възникването му.

Мембраната на сомата и на дендритите е електроневъзбудима. В тях липсва критично равнище на деполяризация и затова в тях не настъпва разпространение на акционен потенциал. При дразнене в тях възниква локален потенциал, който се разпространява пасивно и е със затихващ характер в съседните участъци на мембраната.

Мембраната на аксона е електровъзбудима. Аксонното хълмче има висока възбудимост и това е причината под действието на локалния потенциал в него да се генерира акционен потенциал. Колкото по-голяма е амплитудата на локалната деполяризация, толкова по-голяма е честотата на генерираните акционни потенциали, които се разпространяват към крайните разклонения на аксона.

2.2. Физиологични свойства на нервната клетка

Основните физиологични свойства на нервните клетки са дразнимост, възбудимост и проводимост.

Дразнимостта е способността на неврона да възприема въздействия от външни за него фактори (дразнители) – химични, механични, термични, осмотични, електрически и др., и да ги преобразува в нервен импулс. Благодарение на това нервната система може да разпознава и да реагира на огромен брой дразнители от външната и от вътрешната среда. Действието на дразнителя се осъществява чрез въздействие върху клетъчната мембрана, която променя своята избирателна пропускливост за K^{+} и Na^{+} .

Възбудимостта свойство на нервното влакно при дразнене да отговаря с генериране на акционен потенциал. Невроните имат много висока лабилност, равняваща се на около 1000 импулса за секунда. Различната възбудимост на отделните нервни влакна се определя от морфологичните и функционалните им характеристики. Наличието на миелинова обвивка повишава възбудимостта на неврона. В хода на възбудния процес настъпват промени във възбудимостта, обусловени от йонната динамика от двете страни на цитоплазмената мембрана. Достигащите до дендритите импулси от съседните клетки предизвикват локални изменения на мембрания им потенциал, което от своя страна променя възбудимостта на мембраната на сомата. Затова дендритите се приемат от някои автори като модулатори на биоелектричните процеси в нервната клетка. Също така при възбуждането си дендритите повлияват и на биоелектричните процеси в съседните клетки чрез електрическото поле, което имат. По този начин те модулират възбудимостта не само на собствената си клетка, но и тази на околните.

Проводимостта на нервното влакно е обусловена от електрическите импулси, които се разпространяват по повърхността на мембраната. При провеждането на възбудния процес има известни различия при миелиновите и амиелиновите нервни влакна (фиг. 4).

В амиелиновото влакно всеки участък от мембраната е равностоеен по отношение на йонната пропускливост. Поради това провеждането на възбудата се реализира чрез генериране на акционен потенциал във всеки възбуден участък от мембраната. Тъй като константата на дължината е от порядъка на 2 – 3 mm, в амиелиновото влакно не е възможно придвижването на възбудата на големи разстояния.

В миелиновите влакна мембраната в различните участъци има различна йонна пропускливост. Тази пропускливост е възможна само в областта на прекъсванията на Ранвие. Йонната динамика се осъществява не в непосредствено съседство (както е при амиелиновите влакна), а между съседните прекъсвания, където отсъства миелин (т.нар. салтаторно провеждане). В прекъсванията на Ранвие клетъчната мембрана има най-много йонни канали и е най-електровъзбудима. Затова деполяризация настъпва само в тях. При това „прескачане“ на възбудния процес се постигат няколко биологично обусловени предимства: а. Значително се повишава скоростта на провеждане на възбудния процес (около 100 – 120 m/s при миелиновите спрямо 1 – 2 m/s при амиелиновите влакна); б. Салтаторното провеждане е много по-икономично по отношение на мембранный йонен транспорт. В миелиновите влакна натриево-калиевата помпа консумира по-малко енергия, тъй като йонната динамика в тях се осъществява в ограничени мембранны участъци (в прекъсванията на Ранвие), а скоростта на затихване на локалния потенциал е по-малка в сравнение с тази на амиелиновите нервни влакна. в. Наличието на миелинова обвивка увеличава надеждността на провеждането на нервния импулс. В случаи на спонтанна или индуцирана локална загуба на проводимост акционният потенциал може да преминава не само върху съседните прекъсвания на Ранвие, но и на по-големи разстояния (през 4–5 прекъсвания).

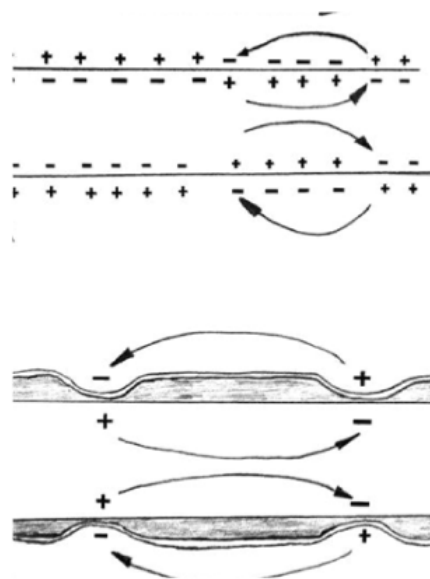
Възникналата в процеса на еволюцията миелинизация на нервните влакна при хомойотермните животни осигурява не само висока скорост на провеждане на възбудата (а следователно и бърза реакция под действието на дразнителите), но и наличие на огромен брой информационни канали за осъществяване на сензорна и моторна активност при малък просвет на проводящите пътища. По такъв начин с еволюционното развитие на организмите става усъвършенстване не само на централните нервни структури, но и на периферните нервни канали, чрез които се осъществява провеждане на информацията.

3. Синапси и видове медиатори

3.1. Характеристика на синапсите

Местата на свързване на нервните клетки помежду им или с ефекторен орган се означават като синапси. Те се намират по окончанията на дендритите и аксона. В зависимост от характера на предизвикания ефект (възбуждане или задържане) синапсите се означават като възбудни или задържни. Съществуват два механизма синаптично предаване – електрически и химичен, респ. съществуват химични и електрически синапси (фиг. 5).

Химичните синапси провеждат импулсите посредством химическо вещество, наречено медиатор (трансмисер). Този механизъм за синаптично предаване на възбудния процес е по-разпространен и е по-съвършено средство за приспособяване и усъвършенстване на нервната тъкан. Чрез химическите синапси се осигурява еднопосочност на предаването на възбудния процес – от пресинаптичната към постсинаптичната клетка, но не и в обратната посока (Фиг. 5 Б1). Освен това те позволяват при предаване на възбуждането от клетка на клетка да се извършва обработка на информацията. Предаването на възбудния процес чрез електрическите синапси се извършва посредством протичане на йонен ток. В някои синапси се наблюдават и двата принципа на предаване на информацията (химически и електрически), като те се наричат смесени.



Фиг. 4. Деполяризация на клетъчната мембрана на амиелиновите (А) и на миелиновите (Б) нервни влакна (по Куланд и Чеснокова, 1973)

3.2. Химически синапс (Фиг. 5 Б)

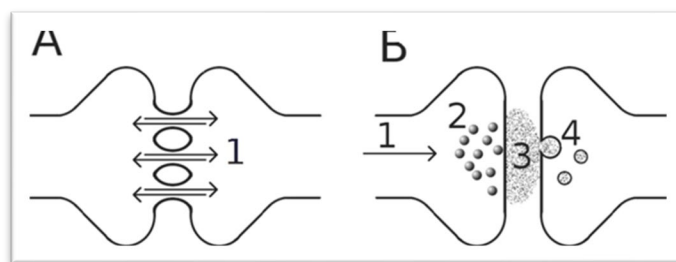
Крайните окончания на аксона завършват с разширение, наречено синаптична колба, с големина от 0,5 до 1 μm . В синаптичната колба се намират множество мехурчета (везикули) с диаметър от 30 до 100 nm, изпълнени с медиатор (Фиг. 22 Б2). Освен тях в синаптичната колба се намират също и митохондрии, обезпечаващи енергийно предаването на възбудния процес. Синаптичната колба е обвита от пресинаптична мембрана. Съседната клетка е обвита от постсинаптична мембрана, като разстоянието между двете мембрани оформя синаптично пространство с ширина около 20 nm (Фиг. 3 Б3). Разстоянието му е достатъчно, за да спре предаването на възбудния процес по електрически път. Частта от постсинаптичната мембрана, намираща се непосредствено срещу колбата, се нарича субсинаптична мембрана. В нея се намират медиаторни рецептори, които имат белтъчна природа. Тяхната пространствена структура спомага за свързването им с медиатора.

Отделянето на медиатора от везикулите се извършва чрез екзоцитоза. При достигането на деполяризацията в дисталния край на аксона в пресинаптичната мембрана се отварят потенциалзависими Ca^{2+} канали.

Тъй като градиентът на калциевите йони е по-голям в междуклетъчното пространство, отколкото в синаптичната колба, те навлизат в синапса и предизвикват освобождаване на складирания във везикулите медиатор. Той дифундира през синаптичната цепка, свързва се с рецептори върху постсинаптичната мембрана и предизвиква промени в нейния мембранен потенциал. Възникването на постсинаптичен потенциал се осъществява чрез различни механизми. В едни случаи рецепторът е част от йонен канал и при взаимодействието му с медиатора настъпват конформационни изменения в него, които предизвикват отваряне или затваряне на канала. В други случаи рецепторът има ензимна природа и при взаимодействие с медиатора се променя неговата активност. Това води до образуване на вторична субстанция (АМФ), която променя проницаемостта на клетъчната мембрана за дадени йони.

Промените в мембранный потенциал на постсинаптичната мембрана са възбуждащи (деполяризация) или задържащи (хиперполяризация) постсинаптични потенциали в зависимост от природата на медиатора. Когато под действието на медиатора се повишава проницаемостта на субсинаптичната мембрана за Na^+ , те навлизат във вътрешността на клетката и предизвикват бърза деполяризация (възбуждащ постсинаптичен потенциал). Тъй като субсинаптичната мембрана е електроневъзбудима, възбудният потенциал се разпространява на малко разстояние и е със затихващ характер. Когато до синапса достигнат дразнения с висока честота, изпреварваща скоростта на затихване, възникващите потенциали в постсинаптичната мембрана се сумират. Сумацията може да бъде времева (при бързо отделяне на порциите медиатор) или пространствена (ако върху сомата и дендритите се намират голям брой близко разположени синапси).

Ако под действието на медиатора се повиши пропускливостта на постсинаптичната мембрана за K^+ и Cl^- , калиевите йони излизат на повърхността, а хлорните навлизат в дълбочина на клетката. Настъпва хиперполяризация, респ. задържащ постсинаптичен потенциал. Той възниква бързо и бързо се преустановява. Подобно на възбуждащия, и за задържащия потенциал са характерни времева и пространствена сумация. При разпространението му в съседни участъци той може да взаимодейства с протичащи наблизко възбуждащи постсинаптични потенциали, като модулира тяхната активност. Ако върху дендритите или сомата попаднат едновременно два възбуждащи потенциала, те се комбинират и ще предизвикат по-голяма поляризация, отколкото всеки самостоятелно. Ако единият е възбуждащ, а другият – задържен, те ще се неутрализират. От пресинаптичните окончания на един неврон могат да се отделят един или повече медиатори. От друга страна, в субсинаптичната мембрана могат да се намират различни медиаторни рецептори. Това определя голямото разнообразие от биологични ефекти, предизвикани от химичното синаптично предаване, и огромните функционални възможности на нервната система и в частност на главния мозък.



Фиг. 5. Схема на електрически (А) и химичен (Б) синапс

3.3. Видове медиатори

Известни са повече от 50 химически вещества, които имат медиаторно действие. Една част от тях са нискомолекулни – ацетилхолин, аминокиселини и биогенни амини. Синтезират се в крайните окончания на аксона на пресинаптичните клетки и се складира във везикулите в синаптичната колба. При предаването на възбудния процес те се изливат в синаптичната цепка в голямо количество. Нискомолекулните медиатори имат бърз и краткотраен физиологичен ефект. Те действат само в границите на един синапс.

Другата основна група медиатори са неuropeптидите. Те са високомолекулни протеини – ендорфини, енкефалини, брадикинин, невротензин и др. Участват в синаптичното предаване между неврони в главния мозък (предимно в стволната част и в междинния мозък), но се образуват също и от някои ендокринни жлези (хипофиза и др.), както и в някои вътрешни органи (в стената на стомаха и тънките черва, в бъбреците, в сърцето). Синтезират се в сомата на неврона от телцата на Нисл. Освен в границите на един синапс, неuropeптидите могат да се транспортират чрез кръвта и да имат ефект на място, отдалечено от образуването си (ендокринно действие).

За осъществяване на последователните етапи на невротрансмисията е необходимо време. Това предизвиква закъснение от порядъка на няколко ms в провеждането на импулсите през химическите синапси, означавано като синаптична задръжка. При продължително функциониране на синапса настъпва умора. Тя се изразява в намаляване на количеството на отделяния медиатор и на амплитудата на постсинаптичния потенциал, както и в увеличаване на синаптичната задръжка.

След осъществяване на ефекта на медиатора върху постсинаптичната мембрана той се инактивира. Инактивацията се осъществява по няколко начина – чрез ензимното му разграждане в субсинаптичната мембрана, чрез ретрограден активен транспорт към синаптичната колба или инактивация от глиалните клетки.

3.4. Електрически синапси (Фиг. 3 А)

В нервната система електрическото синаптично предаване се среща рядко и се наблюдава в достатъчна степен на сигурност само в гигантския синапс на морския рак. През този синапс електрическите импулси се предават еднопосочно. Амиелиновите нервни влакна могат да си предават акционен потенциал посредством електрично поле.

На мястото на синаптичния контакт се намират тънки нишки, които съединяват двете структури на синапса. Най-вероятно това са йонни каналчета, през които протича електрически ток. За разлика от химическите синапси предаването на възбудния процес се извършва двупосочно (Фиг. 3 А1) и с по-голяма скорост. Електрическите синапси могат да предават както възбудни, така и задръжни процеси.

I. Структура на антителата (имуноглобулини)

Антителата (имуноглобулини, **Ig**) са глобуларни гликопротеини, съставени от четири ковалентно свързани полипептидни вериги – две тежки (**H**) и две леки (**L**). Молекулата има ос на симетрия в резултат на еднаквата последователност и пространствена организация на двете двойки вериги. Молекулната маса е приблизително 150 kDa: H вериги – ~50 kDa; L вериги – ~25 kDa. Участъци от приблизително 100 – 110 аминокиселини по протежение на L- и H-веригите формират компактни и изключително стабилни структурни единици, стабилизиращи от вътреверижни дисулфидни връзки и характерно подреждане на β -нагънати листове (β -sheets). Тези структурни единици се означават като имуноглобулинови **домени**. Четирите вериги заедно образуват характерната Y-образна структура, стабилизирана чрез дисулфидни връзки и нековалентни взаимодействия между Ig-домените.

Сходна Ig-подобна доменна организация откриват и при други рецепторни молекули като T – клетъчен рецептор (TCR), CD4, CD8, молекулите на главния комплекс за тъканна съвместимост MHC I и MHC II, както и адхезионни и костимулаторни молекули като ICAM-1, ICAM-2, CD28, B7 и др. Всички белтъци, съдържащи един или повече имуноглобулинови или имуноглобулин-подобни домени, се обединяват в т.нар. имуноглобулиново суперсемејство.

Класове (изотипове) имуноглобулини. При човека имуноглобулините се разделят на пет основни изотипа (класа): IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Класът IgG включва четири подкласа (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4), номерирани според относителното им разпространение в плазмата, като IgG1 е най-изобилен. Изотипът IgA има два подкласа (IgA1 и IgA2).

Тежките вериги се различават между отделните класове имуноглобулини, докато леките вериги могат да бъдат от тип κ или λ , като при човека съотношението им е приблизително 2/3 κ :1/3 λ . Тежките вериги на подкласовете на IgG се обозначават като $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ и $\gamma 4$, а на подкласовете на IgA – като $\alpha 1$ и $\alpha 2$. Класовете IgM, IgE и IgD съдържат съответно μ , ϵ и δ тежки вериги.

Вариабилни и константни домени. Сравнителният анализ на аминокиселинните последователности на тежките и леките вериги показва обща доменна организация. Тежките вериги на различни антитела от един и същи изотип се различават значително по последователност в аминокрайния домен, който се означава като вариабилен домен на тежката верига (**V_H**). Аналогично, при леките вериги вариабилността е концентрирана в първия аминокраен домен – вариабилен домен на леката верига (**V_L**). В рамките на всеки вариабилен домен вариабилността е концентрирана в три хипервариабилни области, наречени райони, определящи комплементарността (complementarity-determining regions CDR1, CDR2 и CDR3). Тези участъци съответстват на бримкови структури, разположени в единия край на домена. В молекулата на антитялото CDR-ите на V_H и V_L заедно формират **антиген-свързващото място**, разположено в областта между двата вариабилни домена.

Вариацията в аминокиселинната последователност на сдвоените V_H и V_L домени е в основата на огромното разнообразие от антиген-свързващи специфичности. Y-образната молекула на IgG притежава два идентични антиген-свързващи участъка, разположени по един в края на всяко рамо. Видът на антигена, който се свързва, зависи от пространствената организация на CDR-ите: малки молекули (хаптени) се свързват в дълбоки джобове; линейни епитопи на белтъци или въглехидрати – в цепнатини или жлебове; конформационни епитопи на нагънати протеини – чрез взаимодействие с обширна контактна повърхност.

Останалата част от тежките и леките вериги съдържа сравнително консервативни аминокиселинни последователности в рамките на един изотип и формира константните домени – **C_H** домени на тежката и **C_L** домени на леката верига. Тежките вериги γ , α и δ съдържат по три C_H домена, докато тежките вериги μ и ϵ съдържат по четири C_H домена.

Fab, Fc и шарнирна област. При използването като модел антитяло IgG, относително неструктуриран сегмент в средата на тежката верига може да бъде разцепен *in vitro* с протеазата папаин, което води до образуването на два типа функционално допълващи се фрагменти. Двата идентични фрагмента, съответстващи на рамената на Y-образната молекула, се означават като **Fab** (fragment antigen binding) и съдържат **антиген-свързващите участъци**. Фрагментът, съответстващ на стъблото, се означава като **Fc** (fragment crystallizable) и осигурява ефекторните функции на антитялото чрез взаимодействие със серумни протеини и Fc-рецептори на клетъчната повърхност. Неструктурираните участъци на тежките вериги, които свързват Fab с Fc, образуват **шарнирната област** на молекулата IgG. Тя придава гъвкавост на молекулата и позволява на двата Fab фрагмента да заемат различни пространствени ориентации, което улеснява едновременно свързване на антигенни детерминанти, разположени на различно разстояние по повърхността на патогените.

Различия в константните (C) региони на тежката верига определят петте основни изотипа (класове) имуноглобулини, които изпълняват различни функции в имунния отговор. Това са имуноглобулин G (**IgG**), имуноглобулин M (**IgM**), имуноглобулин A (**IgA**), имуноглобулин E (**IgE**) и имуноглобулин D (**IgD**). Тежката верига на всеки изотип се обозначава със съответна малка гръцка буква: γ (гама), μ (мю), δ (делта), α (алфа) и ϵ (епсилон). Леките вериги имат само два изотипа – κ (капа) и λ (ламбда). Не е установена функционална разлика между антителата, съдържащи κ или λ леки вериги. Леките вериги от двата изотипа могат да се вдвояват с всички изотипове на тежките вериги. Всяка молекула антитяло съдържа или κ , или λ леки вериги, но никога и двата типа едновременно.

Имуноглобулин G (IgG). IgG е главният серумен имуноглобулин (70–75%) и най-разпространеният имуноглобулинов изотип, като съставлява до 20% от всички плазмени белтъци при здрави индивиди. Той е основният имуноглобулин и в екстраваскуларното пространство. Отличителна характеристика на IgG е способността му да преминава през плацентата – свойство, изразено при подкласовете IgG1, IgG3 и IgG4, но IgG2 преминава значително по-слабо. Плацентарният транспорт IgG не изисква предварително свързване на антиген.

Четири подкласа – IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 – притежават над 90% идентичност в аминокиселинните си последователности, но се различават по биологични свойства, включително ефективност на антигенното свързване, активиране на комплемента, взаимодействие с Fc-рецептори, плацентарен транспорт и време на полуразпад. Тези различия се дължат основно на вариации в константните региони, особено в шарнирната област и C_H2 домена, който участва във взаимодействие с Fc γ рецепторите и с първия компонент на комплемента – C1q.

IgG3 се характеризира с удължена шарнирна област (62 аминокиселини), докато IgG2 има скъсена шарнирна област. Иmunният отговор към разтворими белтъчни антигени обикновено води до продукция на IgG1 – най-изобилния подклас. Отговорите към бактериални капсулни полизахариди често са ограничени до IgG2. Антителата IgG3 са силно провъзпалителни и най-ефективни в активирането на комплемента по класическия път, следвани от IgG1; IgG2 активира комплемента слабо, а IgG4 практически не проявява такава активност.

IgG участва в неутрализацията на микроорганизми и токсини, в опсонизацията при фагоцитоза и в антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност (ADCC), осъществявана главно от NK-клетки чрез Fc γ RIIIa (CD16) рецептор.

Имуноглобулин M (IgM). IgM са пентамерни имуноглобулини с молекулна маса около 900 kDa, изградени от пет мономерни субединици, свързани чрез допълнителна J-верига – ($\mu_2\kappa_2$)₅J или ($\mu_2\lambda_2$)₅J. Тежката μ -верига съдържа допълнителен константен домен (C_H4). J-веригата е малък полипептид (~15 kDa), който свързва C-края на μ -тежките вериги чрез дисулфидни връзки, за да формира стабилен пентамер. В серума IgM се откриват предимно като пентамери, докато върху повърхността на B-лимфоцитите се експресират като мономери – $\mu_2\kappa_2$ или $\mu_2\lambda_2$, където участват в структурата на B-клетъчния рецептор (BCR) заедно със сигналните молекули Ig α и Ig β (CD79a/CD79b).

IgM е третият по количество имуноглобулинов изотип в серума (5 – 10%; 0,2 – 2,8 mg/ml). Това е първият клас антитела, който се синтезира по време на ембрионалното развитие, както и първият, който се продуцира от наивните B-клетки при имунен отговор. IgM са първите антитела, образувани в **първичния имунен отговор**, особено срещу **T-зависими антигени**, преди да настъпи изотипното превключване. Те играят ключова роля и в отговора към **T-независими антигени**, особено бактериални полизахариди.

Значителна част от серумните IgM функционират като естествени изохемаглутинини, насочени срещу въглехидратните антигени на системата АВО, и се образуват без предходна имунизация. Поради пентамерната си структура IgM проявяват силно изразени аглутиниращи свойства. Те са най-ефективните активатори на комплемента по класическия път, като една единствена пентамерна молекула е достатъчна за свързване на C1q, участват в неутрализацията на патогени и в опсонизацията чрез комплемент-медирирани механизми. IgM могат да се свързват с Fc μ рецептори (Fc μ R), експресирани върху различни имунни клетки, и играят важна роля в ранните фази на хуморалния имунен отговор.

Имуноглобулин А (IgA). IgA се представя в серума предимно като мономер ($\alpha_2\kappa_2$ или $\alpha_2\lambda_2$), рядко като димер. В секретите (секреторен IgA, **sIgA**) той е основно в димерна форма – $[(\alpha_2\kappa_2)_2J+SC]$ или $[(\alpha_2\lambda_2)_2J+SC]$, като съдържа допълнителна J-верига и полипептид с пет Ig-подобни домена, наречен **секреторен компонент (SC)**. J – веригата на sIgA стабилизира димера и участва в секреторния транспорт чрез SC. SC представлява част от поли Ig рецептора, който медира транспорта на IgA през епителните клетки към луминалната повърхност и предпазва анти тялото от протеазно разграждане, особено в гастроинтестиналния тракт. IgA е вторият по количество серумен имуноглобулин и основният секреторен Ig в слъзи, слюнка, гастроинтестинални, назални и белодробни секрети, коластра, кърма, пот, както и в секретите на уринарния и гениталния тракт. В майчината кърма секреторният IgA осигурява пасивна защита на новороденото, като предпазва лигавиците от инфекции в ранния постнатален период, без да предизвиква възпаление или увреждане на незрелия епител.

Хората, шимпанзетата, горилите и гибоните притежават два гена за константните домени на тежката α -верига, което позволява синтеза на два подкласа IgA – IgA1 и IgA2. IgA1 съставлява около 80% от общия серумен IgA. Той има удължена шарнирна област, резултат от вмъкване на дублирана пептидна последователност, която съдържа множество O-свързани гликани и две основни N-свързани места за гликозилиране. IgA1 съдържа значително повече сialова киселина в сравнение с IgA2. Поради удължената си шарнирна област, IgA1 е по-податлив на протеолитично разграждане от ензими, продуцирани от *Streptococcus*, *Neisseria* и *Haemophilus*. Този подклас е насочен предимно срещу белтъчни антигени, като повечето лимфоидни тъкани съдържат преобладаващо плазмени клетки, секретирани IgA1.

В IgA2 липсва класическата дисулфидна връзка в C μ 1 домена, който обикновено свързва тежката и леката верига, но асоциацията остава стабилна. Този подклас има скъсена шарнирна област и повече N-свързани места за гликозилиране от IgA1, като леките вериги са нековалентно асоциирани с тежките вериги. IgA2 представлява около 20% от серумния IgA и значителен дял от секреторния IgA, особено в дисталните чревни отдели. IgA2 може да индуцира активиране на миелоидни клетки чрез Fc α RI (CD89). Полизахаридните антигени индуцират по-силен синтез на IgA2 в сравнение с белтъчните антигени. IgA2 по-често индуцира проинфламаторна активация на неутрофили и макрофаги, докато тази активност е по-слабо изявена при IgA1. Подобни функционални различия вероятно се дължат на различия в гликозилирането на двата подкласа.

IgA-секретиращите плазматични клетки са концентрирани по лигавичните повърхности. В тънките черва (в началните две пети) се намират над $2,5 \times 10^{10}$ плазматични клетки, секретирани IgA, което надвишава общия брой плазматични клетки в костния мозък, лимфните възли и далака. Здрав човек отделя ежедневно **5 – 15 g** секреторен IgA в лигавичните секрети.

Имуноглобулин Е (IgE). IgE е мономерен имуноглобулин, съставен от две ϵ -тежки вериги и две κ или λ леки вериги. В серума е представен с най-ниска концентрация сред имуноглобулините – около 0,3 $\mu\text{g/ml}$ при здрави индивиди. IgE има много кратък полуживот в серума (~2 дни), но прикрепен към Fc ϵ RI остава стабилен седмици. Открива се предимно свързан с високоафинитетния Fc ϵ RI рецептор на мастоцити и базофили; активираните еозинофили също експресират Fc ϵ RI, но в по-малка степен. Кръстосаното свързване на клетъчно фиксиран IgE от мултивалентен антиген индуцира бърза дегрануляция на мастоцити и базофили и освобождаване на медиатори (хистамин, протеази, левкотриени, простагландини), които предизвикват реакции на свръхчувствителност тип I. Афинитетът на Fc ϵ RI към Fc-фрагмента на IgE е изключително висок, поради което при липса на специфичен антиген IgE не дисоциира след свързването си с рецептора. Ниските серумни концентрации на IgE са достатъчни да поддържат Fc ϵ RI рецепторите на клетъчната повърхност напълно заети. Така мастоцитите в съединителната тъкан, активираните еозинофили по лигавичните повърхности и циркулиращите базофили се поддържат в състояние на готовност за бърза реакция към патогени и техни антигени.

IgE играе ключова роля в алергичните реакции и участва в защитата срещу големи паразити, особено хелминти, чрез активиране на еозинофили и мастоцити. IgE не активира комплемента.

Имуноглобулин D (IgD). IgD представлява малка част от серумните имуноглобулини (~0,2%; ~30 µg/ml) и се среща предимно като мономер – $\delta_2\lambda_2$ или $\delta_2\kappa_2$. Той се експресира главно върху повърхността на „наивни“ В-клетки като мембранен рецептор, където участва заедно с сигналните молекули Igα и Igβ (CD79a/CD79b) в структурата на В-клетъчния рецептор (BCR).

В серума IgD присъства в ниски концентрации, а точните му функционални роли все още не са напълно изяснени. Съществуват данни, че IgD може да участва в активиране на базофили и мастоцити и да модулира ранните фази на В-клетъчната активация, както и да играе роля в имунната хомеостаза на дихателните пътища.

II. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие.

Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими

Имунната система на човека притежава способността да разпознава практически неограничен брой антигени. Това изключително разнообразие на антигеновата специфичност се постига чрез прецизно координирани генетични механизми, които протичат по време на развитието и последващата активация на В-лимфоцитите. В основата на този процес стои генерирането на имуноглобулиново разнообразие чрез **V(D)J** пренареждане, допълнено от допълнителни механизми на генетична модификация, контролирани от специфични сигнални последователности и специализиран ензимен апарат.

Имуноглобулинови генни локуси. В човешкия геном гените за имуноглобулиновите вериги са организирани в три основни локуса:

IGH (immunoglobulin heavy chain) – локус за тежките вериги, разположен в хромозома 14;

IGK (κ light chain) – локус за κ-леките вериги, разположен в хромозома 2;

IGL (λ light chain) – локус за λ-леките вериги, разположен в хромозома 22.

Всеки от тези локуси съдържа множество вариабилни (**V** – variable), диверсификационни (**D** – diversity; само за тежките вериги) и съединителни (**J** – joining) генни сегменти, всеки със собствена уникална нуклеотидна последователност. В ранните етапи на В-клетъчното развитие сегментите са потенциално достъпни за рекомбинация от двата алела, докато не се установи алелно изключване.

Организация на имуноглобулиновите локуси. Гените, кодиращи вариабилните региони на имуноглобулиновите вериги, са организирани в дискретни модулни сегменти: **V** (variable) – включва множество генни касети, съдържащи лидерна (**L**) последователност и **V** сегмент; **D** (diversity) – диверсификационни сегменти (само при тежките вериги); **J** (joining) – съединителни сегменти.

При формирането на гени за тежките вериги на имуноглобулините се комбинират един **V**, един **D** и един **J** сегмент, докато при леките вериги (κ и λ) участват само **V** и **J** сегменти. Тази модулна организация позволява генерирането на огромно структурно и функционално разнообразие на вариабилните региони чрез комбиниране на ограничен набор налични генни сегменти във функционални гени.

Надолу по веригата от **JH** сегментите в локуса за тежката имуноглобулинова верига са разположени гените за константните региони (**C_μ**, **C_δ**, **C_γ**, **C_ε**, **C_α**), като пред всеки от тях (с изключение на **C_δ**) се намира специфичен **S** (switch) регион. **S_μ** регионът, локализиран между **JH** сегментите и **C_μ**, служи като изходна точка за класовото превключване, което се осъществява чрез рекомбинация между **S_μ** и друг разположен downstream **S** регион.

V(D)J пренареждане. V(D)J пренареждането представлява специализиран тип соматична генетична рекомбинация, протичаща на ниво ДНК в развиващите се В-лимфоцити в костния мозък. Процесът включва случайно и необратимо комбиниране, в строго определена последователност, на един **V**, един **D** и един **J** сегмент за тежките вериги и на един **V** и един **J** сегмент за леките вериги. В резултат на тези рекомбинации за всяка имуноглобулинова верига се формира уникален функционален ген, което води до клонална експресия – всеки В-лимфоцит експресира един-единствен тип В-клетъчен рецептор (BCR), идентичен по антигенна специфичност с бъдещото секретирано анти тяло.

Наивните зрели В-лимфоцити едновременно експресират имуноглобулини от клас IgM и IgD с идентична антигенна специфичност. Това се дължи на факта, че и двата изотипа използват един и същ пренареден V(D)J регион, който определя антиген-свързващата специфичност на В-клетъчния рецептор (BCR). Разликата между IgM и IgD се отнася единствено до константната област на тежката верига (C μ или C δ).

След успешно V(D)J пренареждане и транскрипция на тежковерижния локус се образува първичен транскрипт, съдържащ екзоните за C μ и C δ . Чрез алтернативен сплайсинг на иРНК В-клетката може да включи екзоните за C μ или C δ , без да променя вариабилния регион. По този начин се синтезират IgM и IgD с еднаква антигенна специфичност (идентични вариабилни домени), но с различни ефекторни константни домени. Имуноглобулините IgM и IgD се експресират като мембранно-свързани форми и функционират като В-клетъчни рецептори, участващи в разпознаването на антигена и в регулацията на В-клетъчната активация. Този механизъм позволява функционално разнообразие на BCR без необходимост от допълнителна ДНК рекомбинация.

Алелно изключване и клонална идентичност. След като дадена В-клетка успешно генерира функционален имуноглобулинов ген чрез V(D)J пренареждане, рекомбинацията на останалите алели на съответния локус се потиска – процес, известен като **алелно изключване**. Това гарантира, че всяка В-клетка експресира един-единствен функционален имуноглобулинов рецептор с уникална антигенна специфичност. Така строго регулираният процес на V(D)J пренареждане представлява молекулната основа на клоналната селекция и предотвратява едновременната експресия на рецептори с различна антигенна специфичност в една и съща В-клетка.

Рекомбинационни сигнални последователности и правило 12/23. Всеки V, D и J генен сегмент е фланкиран (ограден) от рекомбинационни сигнални последователности (RSS, recombination signal sequences), които насочват рекомбинационния апарат и определят допустимите рекомбинационни събития. RSS се състоят от три основни елемента: консервативен хептамер (7 нуклеотида), спейсър с дължина 12 или 23 нуклеотида и консервативен нонамер (9 нуклеотида).

Рекомбинацията протича съгласно правилото **12/23**, което изисква рекомбинация само между два сегмента, фланкирани от RSS със спейсъри с различна дължина (12 и 23 нуклеотида). Така се осигурява правилната последователност на V(D)J пренареждането и се предотвратяват некоректни рекомбинации, като например директно V–J свързване при тежковерижните гени, което би заобиколило задължителното включване на D сегмент.

Ензими, участващи във V(D)J пренареждането. V(D)J пренареждането се осъществява от строго регулиран молекулен апарат, който включва както лимфоидно-специфични ензими, определящи уникалността на процеса в развиващите се лимфоцити, така и универсални механизми за репарация на ДНК, функционално използвани за завършване на рекомбинацията (таблица 1).

Лимфоидно-специфичните компоненти инициират и модулират рекомбинационния процес. **RAG1** и **RAG2** образуват активен рекомбиназен комплекс, който разпознава рекомбинационните сигнални последователности (RSS) и индуцира сайт-специфични двойно-верижни разкъсвания на ДНК. **TdT** (терминална дезоксинуклеотидил трансфераза) допринася за съединителното разнообразие чрез добавяне на несъответстващи (N) нуклеотиди в зоните на свързване на V, D и J сегментите. Активността ѝ е най-силно изразена при пренареждането на гените за тежките вериги и е минимална или липсва при леките вериги. **AID** (activation-induced cytidine deaminase) се експресира след антигенна стимулация в герминативните центрове и не участва във V(D)J пренареждането, а в по-късните процеси на антигенова диверсификация.

Завършването на рекомбинацията изисква ангажирането на компоненти на нехомоложното свързване на ДНК краищата (non-homologous end joining, **NHEJ**). Тези универсални репарационни фактори осигуряват разпознаването, стабилизацията, обработката и окончателното лигиране на разкъсаните ДНК краища. Нарушения в който и да е от ключовите елементи на NHEJ водят до дефектно V(D)J пренареждане и клинично се асоциират с тежък комбиниран имунодефицит (SCID).

Лимфоидната специфичност на процесите се определя от **RAG1/2** и **TdT**, докато **NHEJ** апаратът представлява универсален репарационен механизъм, използван контекстуално от лимфоцитите. V(D)J рекомбинацията протича в незрели лимфоцити, докато соматичните хипермутации (**SHM**) и изотипното превключване (**CSR**) са ограничени до активирани В-клетки в периферните лимфоидни органи.

Допълнителни механизми за генериране на разнообразие

- Комбинаторно разнообразие – резултат от различните комбинации на V, D и J генни сегменти и от случайното sdвояване на тежки и леки имуноглобулинови вериги;

- Съединително (junctional) разнообразие – възниква вследствие на изрязване или добавяне на нуклеотиди в зоните на съединяване на V(D)J сегментите, особено в областта на CDR3;
- Соматични хипермутации (SHM) – AID-медиранни точкови мутации във V-регионите на имуноглобулиновите гени след антигенна стимулация, водещи до афинитетно узряване на антителата;
- Изотипно превключване (class switch recombination, CSR) – AID-зависим процес, при който се променя константният регион на тежката верига (IgM → IgG, IgA или IgE) без промяна в антигенната специфичност.

Комбинацията от всички тези механизми позволява на адаптивната имунна система да генерира приблизително 10^{11} различни антителни специфичности, осигурявайки ефективно разпознаване и неутрализиране на изключително широк спектър от патогени.

Таблица 1. Ензими и молекулярни компоненти, участващи в V(D)J рекомбинацията, съединителното разнообразие и изотипното превключване

ензим / компонент		функция	молекулен механизъм	етап / клетъчен контекст
лимфоидни	RAG1 (Recombination Activating Gene 1)	Инициира V(D)J рекомбинацията	Каталитична субединица на RAG комплекса; разпознава RSS и осъществява сайт-специфично двойно-верижно разкъсване на ДНК между кодиращия сегмент и RSS	Незрели В– и Т–лимфоцити (про- и пре-В; CD4 ⁺ CD8 ⁺ Т–кл.), G1 фаза
	RAG2 (Recombination Activating Gene 2)	Регулира и стабилизира RAG1	Некаталитичен кофактор; формира активен RAG1/2 комплекс и ограничава рекомбинацията до подходящия етап от клетъчния цикъл	Незрели В– и Т–лимфоцити, G1 фаза
	TdT (терминална дезоксинуклеотидилтрансфераза)	Генерира съединително (junctional) разнообразие	ДНК-полимераза без матрица; добавя N-нуклеотиди към кодиращите краища; увеличавайки вариабилността, особено в CDR3	Про-В и пре-В клетки; ранни Т-клетъчни прекурсори
	AID (activation-induced cytidine deaminase)	Индуктира соматична хипермутация и изотипно превключване	Дезаминира цитозин до урацил в транскрибирани Ig региони; репарацията води до SHM или двойно-верижни разкъсвания в S(switch) регионите (CSR*)	Активирани периферни В-клетки (герминативни центрове)
универсални репаративни	Ku70 / Ku80	Разпознава и свързва свободните ДНК краища	Хетеродимер, който първи се асоциира с двойно-верижните разкъсвания; защитава краищата и рекрутира DNA-PKcs	V(D)J рекомбинация и CSR
	DNA-PKcs	Координира обработката на ДНК краищата	С Ku70/Ku80 формира DNA-PK; фосфорилира Artemis и други фактори, контролирайки ендонуклеазната обработка	V(D)J рекомбинация и CSR
	Artemis	Обработва кодиращите ДНК краища	Ендонуклеаза, активирана от DNA-PKcs; отваря hairpin-структурите и допринася за формиране на Р-нуклеотиди	особено важна при V(D)J рекомбинация
	XRCC4	Организира лигирането на ДНК краищата	Структурен адаптер; стабилизира ДНК лигаза IV и участва в подравняването на краищата	V(D)J рекомбинация и CSR
	XLF (Cernunnos)	Стабилизира синапсиса на ДНК краищата	Образува филаментни структури с XRCC4; усилва ефективността на лигирането, особено при нестабилни краища	V(D)J рекомбинация и CSR
	ДНК лигаза IV	Завършва рекомбинацията	Катализира образуването на фосфодиестерни връзки между обработените ДНК краища; функционира в комплекс с XRCC4 и XLF	V(D)J рекомбинация и CSR

* CSR – class switch recombination, изотипно превключване

Ареалът на даден организмов таксон е частта от биосферата, в която този таксон съществува трайно чрез своите популации. Ареалът на всеки по-висш таксон включва в границите си ареалите на таксоните с по-низш ранг.

Всеки ареал се характеризира с определена структура, която зависи от разположението на популациите на таксона в него. Нито един ареал не е плътно заселен от популациите на даден вид, а са заети само онези участъци, в които има условия за съществуването му. Поради това в почти всеки ареал се наблюдава мозаичност в разпределението на популациите на таксона, която съответства на разпределението на подходящите биотопи. Обикновено мозаечността е изразена по-добре при стенобионтните форми. Видове, които обитават пресечени райони или живеят в блата, имат добре изразени мозаични ареали. Най-равномерно в своя ареал са разпространени пелагичните организми (поради сходните жизнени условия в много области на Световния океан), видовете в тундрата, тайгата и степите.

Структурата на ареала се характеризира с компактност или фрагментираност. При компактните ареали съществува минимална вътрешна прекъснатост, която е в рамките на мозаичността. Редица ареали освен основна част имат още един или повече твърде отдалечени от нея фрагменти, наречени ексклави. Ареали, които имат висока степен на фрагментираност, се наричат разкъсани или дизюнктивни.

Друга структурна характеристика на ареала е честотата, с която се среща даден таксон в отделните части. Така видовите ареали имат свой център, т.е. район, който е най-плътно заселен от популациите на вида. Навън от него се наблюдава постепенно концентрично разреждане на популациите, а в периферията видът става рядък. При анализ на родов ареал се откроява таксономичен център, в който има най-голямо видово разнообразие. Понякога ареалите имат два или повече таксономични центъра, а тяхното място може да се променя под влияние на различни фактори (климатични и геологични промени).

Ареалите имат реални размери и конфигурация. Няма вид, който да може да се разпространява безпрепятствено и ареалът му да заеме цялата земна повърхност, тъй като съществува комплекс от причини повлияващи неограниченото разселване и ограничаващи разширяването на ареалите.

Ограничаващата роля на климата се проявява чрез температурата и влажността на околната среда в съчетание с други климатични фактори. Особено силно зависими от климата са стено-термните форми. Климатът (главно температурният компонент) оказва решаващо влияние върху разпространението на пойкилотермните животни.

Ограничаваща роля имат механичните прегради като елементи от земната повърхност – морета, океани, провлаци, високопланински вериги, широки и непресъхващи реки, езерата и други континентални водоеми, пустини и др.

Едафичният фактор (комплекс от почвени условия) има ограничаваща роля на върху разпространяването на растения и индиректно, върху животните.

Фактори с биотичен характер (биологични прегради) са препятствия при разселването на организмите, обусловени от други организми. Те проявяват действието си при междуорганизмовите взаимоотношения, като паразитизъм, хищничество, фитофагия, симбиоза, антофилия, комменсализъм, конкуренция и др.

Ролята на човека за ограничаване на ареалите на организмите се проявява особено силно през последните 200 – 300 години. Той може да предизвика намаляване или дори унищожаване на ареалите на много организми чрез свои действия – изсичане на гори, превръщането на големи територии в обработваема площ, промишлено замърсяване на почви и води, засилване на урбанизацията, особено натрупване на вредни вещества в Световния океан, стихийно ловуване и безконтролно използване на естествените ресурси и т.н.

В хода на историческото развитие границите на ареалите се разширяват или стесняват. Всички споменати причини могат да влияят благоприятно върху ареалите и да доведат до разширяването им.

Ареалът може да бъде уточнен и представен върху географска карта, като се вземат под внимание всички установени находища на таксона. Картографирането на ареалите дава възможност те да се съпоставят, както и да се разкриват вътрешните им структури.

Най-прост начин за графично представяне на ареала върху картата е ограждането с плътна линия, заштриховането или оцветяването на района, в който се среща таксона. Този начин обаче не характеризира структурата на ареала и се използва за получаване на обща представа за географското положение. Много по-пълна е картината при точковото нанасяне на местонаходищата на таксона, което дава известна представа за структурата на ареала. За още по-пълно разкриване на структурата на ареалите се изготвят точково-мрежови карти по възприет международен стандарт (т. нар. система UTM – Universal Transverse Markator).

Типизация на ареалите

Най-големи са космополитните ареали. Такива ареали имат таксоните с глобално разпространение, наречени космополити. Един сухоземен таксон за космополит, когато се среща във всички континенти с изключение на Антарктида, Гренландия и някои пустини. Морските космополити са разпространени във всички океани. Космополитни растения са тръстика (*Phragmites australis*), водна леща (*Lemna minor*), коприва (*Urtica dioica*), голям живовлек (*Plantago major*), овчарска торбичка (*Capsella bursa-pastoris*). Сред животните космополитни видове са голяма бяла чапла (*Egretta alba*), сокол скитник (*Falco peregrinus*), домашно врабче (*Passer domesticus*), косатка (*Orcinus orca*), кашалот (*Physeter catodon*), синантропни мухи, дървеници, молци, складови вредители, плъхове и др.

Най-малки размери имат ареалите на ендемичните таксони. Особено малки са ендемичните ареали на островните и пещерните форми, на обитателите на изолирани планински долини или хребети и пр. Ендемичните ареали на по-висши таксономични категории (род, семейство, клас) могат да обхващат по-големи територии, дори континент или биогеографско царство. Например „тревистите“ дървета от род *Xanthorrhoea* са ендемични за Австралия, а лемуриите (сем. *Lemuridae*) са ендемични за Мадагаскарското царство. Понякога ендемизмът се проявява в малко по-широки граници, като ареалът обхваща освен основния природен район на ендемичния таксон, също и част от съседен природен район. В такива случаи ареалът се окачествява като субендемичен. Например субендемичен на Балканския полуостров е люлякът (*Syringa vulgaris*), тъй като се среща и в Южните карпати.

Много от съвременните организми имат разкъсани или дизюнктивни ареали. Те се състоят от две или повече изолирани части, които често са доста раздалечени една от друга. Причините за разкъсването на ареалите са различни, вкл. и дейността на човека. Повечето дизюнктивни ареали имат реликтен характер и са остатъци от силно редуцирани бивши ареали вследствие на климатични и геологични промени на географската среда или поради конкуренция на по-пластични форми.

Типични силно разкъсани ареали са биполярните ареали, обхващащи части от северното и южното полукълбо и прекъснати в тропичните ширини. Такива ареали имат буковите растения (в северното полукълбо – род *Fagus*, а в южното полукълбо – род *Nothofagus*), сардините, ламинариевите кафяви водорасли и др.

Междуконтиненталните дизюнктивни ареали имат участващи разположени на различни континенти, разделени от океани. Причините за обособяването им могат да са: преодоляване на водните пространства и заселване в нов континент, изчезване на сухоземни връзки между континентите, измиране на представителите на таксона в междинните територии и пр. Примери за междуконтинентални дизюнктивни ареали – иглолистните родове *Abies* (Ела) и *Picea* (Смърч), магнолии род *Magnolia*, тапири, алигатори, род *Mustela* (Порове), род *Bison* (*Bison bison* – бизон, *B. bonasus* – зубър), вълци, лисици, рис.

Много разнообразни са дизюнктивните ареали от вътрешноконтинентален тип. В Евразия съществуват таксони, които имат разкъсване в ареалите си, изразено в посока изток-запад (европейско-азиатска дизюнкция) – момина сълза (*Convallaria majalis*), род *Quercus* (Дъб), род *Tilia* (Липа).

Друг тип вътрешноконтинентални дизюнкции имат т. нар. аркто-алпийски и борео-монтанни ареали, които са резултат от кватернерните залежания и са разположени в направление север-юг. Аркто-алпийските дизюнктивни ареали са характерни за Евразия и Северна Америка и имат фрагменти в големите географски ширини на север (Арктика, Субарктика) и във високоп-

ланинските части на юг. Такива ареали имат глациалните реликти като *Dryas octopetala* (осмолистен сребърник) от растенията, *Lepus timidus* (заяк беляк), *Turdus torquatus* (белогуш дрозд). Борео-монтанните ареали са аналогични на аркто-алпийските, но имат по-южен обхват. Състоят се от фрагменти в тайгата на Евразия (а някои и в Северна Америка) и във високите горски зони на планините в Средна и Южна Европа и Южен Сибир. Такъв е ареалът на глациалния реликт *Picoides tridactylus* (трипръст кълвач).

Широко разпространени са високопланинските дизюнктивни ареали, които са резултат от климатични и орографски промени. Организмите имат планински произход и при застудяването на климата част от тях са загинали, а други са мигрирали в низините. При затоплянето те заели високите части и на други планини и по този начин разширили ареалите си. Планински дизюнктивни ареали имат сърната *Capreolus capreolus*, дивата коза *Rupicapra rupicapra*, клекът *Pinus mugo*, еделвайсът *Leontopodium alpinum* и др.

Ареалите на много таксони могат да се типизират в зависимост от принадлежността им към определена климатична зона на Земята. Циркумполярните ареали на северното полукълбо обхващат сушата, морето или крайбрежието близо до северната полярна окръжност – полярна лисица (*Alopex lagopus*), бяла мечка, северен елен и др. Циркумбореалните ареали са кръгови ареали в умерените ширини на северното полукълбо – френско грозде (*Ribes*), лос, росомаха (*Gulo gulo*), ястребова сова (*Surnia ulula*). Пантропичните ареали заемат тропичните зони кръгово и са характерни за т. нар. тропични космополити – палми (сем. *Arecaceae*), рифообразуващи корали (циркумокеански).

Ендемити – определение; палеоендемити и неоендемити

Наличието на определени таксони растения или животни в една-единствена (каквато и да е по размери) част от биосферата се означава като ендемизъм, а самите таксони – като ендемити. Ендемичните таксони биват палеоендемити и неоендемити.

Палеоендемитите са възникнали в древни геологични времена (например през Тerciера) и са доживели до наши дни в рефугии, като съвременния им ареал е ограничен. Често се наричат „живи фосили“, тъй като те са еволюционно стари, оцелели на изолирани места, като острови, планини и пр. Техните някогашни, често много големи ареали са се стеснили значително и сега имат реликтен характер. Причините за това са главно биологичната консервативност на таксоните (стенобионти), а също така геологичните и климатични промени, настъпвали многократно след разцвета на тези таксони. Палеоендемичен ареал имат ехидните и птичечовките, които в настоящето обитават само отделни части от Австралийското царство. Тяхното разпространение в миналото е обхващало и Европа, за което се съди по намерените фосили. Дървото гинко (*Ginkgo biloba*) сега се среща като естествено размножаващ се палеоендемичен вид само в планините на югоизточен Китай, но в началото на кайнозоя видът е обитавал всички континенти. Мамонтовото дърво или секвоя (*Sequoiadendron giganteum*), което сега расте само в Калифорния (планината Сиера Невада) също е палеоендемит, чиито древен ареал е обхващал цялото северно полукълбо.

Неоендемитите са млади форми, възникнали сравнително неотдавна в геологичен смисъл. Формирането им обикновено се е осъществявало в условия на географска изолация на изходните форми, а ареалите им са ограничени от механични прегради. Неоендемитите са представители на еволюиращи и прогресиращи таксони, като имат най-често ранг на подвид и по-рядко на вид. Обитават главно планини или неотдавна отделили се от континентите острови. В Алпите има над 200 неоендемита от растителните родове *Saxifraga*, *Gentiana*, *Dianthus*, *Thymus*, *Rosa*, *Rubus* и др., чиито ареали обхващат само отделни долини. В България като неоендемични растения може да се посочат видове от род *Alchemilla* (Шапиче), които се срещат в планините между 1250 и 2300 м н. в. На Британските острови, които са изгубили неотдавна връзката си с континента, има неоендемични видове риби, полевки, насекоми и някои неоендемични подвидове, като британската катерица, ирландския синигер, шотландската кръсточовка и др.

Реликти – определение; терциерни и ледникови реликти

Реликтите са растителни и животински видове, запазили се до днес като останки от някога широко разпространена флора и фауна. Поради климатични, геологични или други промени на средата, реликтите са останали да съществуват само в едно или няколко местообитания, принадлежащи на бившия им широк ареал (при реликтните ендемити ареалът може да е представен от

едно-единствено находище). В други случаи съществуват реликтни местообитания, които са извън основния район на съвременното разпространение на таксона.

Терциерните реликти са древни таксони, формирали се в условията на топъл и влажен климат, като някои от тях са били широко разпространени. По време на кватернерните залежванията, проявили се силно на територията на Европа, Азия и Северна Америка, те са преживявали неблагоприятните условия в отделни рефугии. Рефугиите, в които са се запазили тези древни реликти са части от бившия им ареал, където условията за съществуване са се променили сравнително слабо. Примери за терциерни реликти са *Vitis vinifera* (лоза), *Nerium oleander* (зокум), *Platanus orientalis* (източен чинар), черна мура (*Pinus heldreichii*), бяла мура (*P. peuce*), черен бор (*P. nigra*), конски кестен (*Aesculus hippocastanum*), странджанският рододендрон (*Rhododendron ponticum*), сивиряк (*Haberlea rhodopensis*) и др.

Кватернерните залежвания и интергласиалните периоди между тях са основната причина за съществуването на ледникови реликти (кватернерни реликти). Част от студенолюбивите северни видове, мигрирали до Централна и Южна Европа по време на залежванията, намерили при затоплянето на климата нормални условия за съществуване във високите части на планините. Рефугиите, в които са оцелели видовете са били в низините, а след оттеглянето на ледовете ледниковите реликти са заели високите части на планините, където климатичните условия са сходни с тези в субарктичната част (или бореалната) на ареала им. Това са аркто-алпийски, борео-монтанни и някои други европейско-сибирски и средноевропейски планински форми с дизюнктивен ареал. Ледникови реликти са *Salix herbacea* (тревиста върба), *S. reticulata* (мрежолестна върба), *Gentiana nivalis* (снежна тинтява), *Juniperus sibirica* (сибирска хвойна), *Vaccinium vitis-idaea* (**червена боровинка**), *Rana temporaria* (планинска жаба), *Triturus alpestris* (алпийски тритон), *Zootoca vivipara* (живораждащ гущер), *Vipera berus* (усойница), *Picoides tridactylus* (трипръст кълвач), *Turdus torquatus* (белогуш дрозд) и др.

Факторите на микроеволюцията, които причиняват индивидуална изменчивост, водят до промяна в честотите на срещане на гени и генотипове в различните популации, т.е. определят динамиката на популациите. Известни са четири основни фактора: *естествен отбор, мутационен натиск, поток от гени и генен дрейф*.

Генен дрейф

Всички *случайни колебания в честотата на срещане на гените в генофонда на малките популации, могат да се означат като генен дрейф*. Дрейф (от английски drift) означава „изместване“.

Ако в дадена популация двата алела на гена A (A и a) се срещат с честота съответно $\hat{p} = 0.40$ и $\hat{q} = 0.60$, честотата на доминантния алел (A) в следващото поколение може да бъде по-малка или по-голяма от 0.40, просто защото сред гаметите, които образуват зиготите на това поколение, алелът A случайно може да се среща по-рядко или по-често от очакваното.

Генният дрейф е напълно случаен процес и представлява частен случай на общото явление, което е известно като „грешки на извадката“ или „вариации в извадката“. Общият принцип е, че размерът на „грешките“, които се получават при формирането на извадката, е обратно пропорционален на големината на извадката. Тоест колкото тя е по-малка, толкова по-големи са ефектите. При организмите този принцип означава, че колкото броят на кръстосващите се индивиди в популацията е по-малък, толкова по-вероятно е промените в алелните честоти, които се дължат на генния дрейф да са по-големи. Тоест ефективността на генния дрейф се определя преди всичко от ефективната репродуктивна величина на популацията.

Когато се знае броят на родителите, участвали в създаването на следващото поколение, и алелните честоти, е възможно да се изчисли вероятността за получаване на определена алелна честота в следващото поколение. За да се направи това е необходимо да се знае какъв е *вариансът на алелните честоти* в следващото поколение, който е мярка за вариациите, които биха могли да бъдат намерени сред различните по размер извадки (Айала и Кигер, 1987). Ако в генофонда на популацията се отчитат два алела с честота $\hat{p}$ и $\hat{q}$, а броят на родителите е N_e (така, че броят на алелите в извадката, използвана да даде следващото поколение, е $2N_e$), вариансът (s^2) на алелната честота в следващото поколение може да се изчисли по формулата:

$$s^2 = \frac{\hat{p} \cdot \hat{q}}{2N_e}$$

Това уравнение показва *обратната зависимост между размера на ефективната репродуктивна величина (N_e) и очакваните отклонения в алелните честоти*. Тоест устойчивостта на генотипната структура на популацията зависи от нейната ефективна численост.

Под влияние на генния дрейф, различията между малките, изолирани една от друга популации ще нарастват. Едновременно с това вътре във всяка една от тях ще се увеличава честотата на близкородствените кръстосвания, а това ще води до хомозиготизация. Чрез математически анализ е доказано, че честотата на хетерозиготите в популацията ще намалява вследствие на генния дрейф, като стойността (k), с която тази генотипна честота ще намалява за едно поколение може да се изчисли с формулата:

$$k = \frac{1}{2N_e}$$

Например: Ако $N_e = 50$, то за едно поколение, честотата на хетерозиготите може да намалее вследствие на генния дрейф с $1/2 \cdot 50 = 1/100 = 1\%$. При ефективна численост $N_e = 500$ това снижаване ще бъде с 0.1%, а при $N_e = 5\,000$ – ще бъде 0.01% (много ниска стойност).

Колебанията в алелните честоти вследствие на генния дрейф са чисто случайни. Този процес обаче, след известен брой поколения придобива „насоченост“, тъй като честотата на редките алели във всяко следващо поколение ще намалява с по-голяма вероятност, докато се стигне до загубата им (честота 0), а честотата на често срещаните алели ще се увеличава във всяко следващо поколение, докато се стигне до фиксирането им (честота 1). Процесът на изменение на

алелните честоти вследствие на генния дрейф ще зависи от два фактора – ефективната репродуктивна величина и продължителността на процеса, измерена посредством броя на поколенията.

Крайни случаи на генен дрейф се наблюдават, когато нова популация се основава само от няколко индивида (Айала и Кигер, 1987). Това било наречено от Ернст Маер ефект на родоначалника (англ. founder effect). Популациите на много от видовете, които обитават океанските острови, въпреки че могат да се състоят от милиони индивиди, са потомци на един или няколко колонизатори, дошли там отдавна при случайното си разселване. Подобно явление се наблюдава и в езера, изолирани гори и други екологични изолати. Поради „случайността“ на извадката, алелните честоти в различните локуси на няколкото колонизатори, и на популацията, от която идват, по всяка вероятност се различават. Това може да има трайни последици върху еволюцията на подобни изолирани популации.

Случайни промени в алелните честоти, подобно на случайните промени, които се дължат на ефекта на родоначалника, настъпват и при преминаване на популациите през стеснения (англ. bottleneck effect). При неблагоприятни климатични или други условия на средата, популациите могат силно да стеснят числеността си, поради измиране на голяма част от индивидите. Такива популации по-късно могат да възстановят обичайния си размер, но случайният дрейф може значително да промени техните алелни честоти по време на стеснението, а следователно и в следващите поколения.

Мутационен натиск

Мутациите са ненасочени, случайни изменения на генетичния материал, които възникват спонтанно или под влияние на определени физични, химични или биологични фактори (Алтухов, 2003). Спонтанният мутационен процес е главен източник на нови алели в генофонда на популацията, което води до увеличаване на генетичното разнообразие в популацията. Мутационният процес е не само източник на генно разнообразие, но може да оказва влияние и върху генетичната структура на популацията.

Нека да предположим, че в даден локус има два алела – A_1 и A_2 , и че мутирането от $A_1 \rightarrow A_2$ се осъществява със скорост „ u “ – на гамета за поколение. Ако в даден момент честотата на A_1 е $\hat{p}_0$, в следващото поколение една част (u) от всички A_1 – алели се превръща в A_2 чрез мутиране. След мутирането честотата на A_1 (т.е. $\hat{p}_1$) ще бъде:

$$\hat{p}_1 = \hat{p}_0 - u \cdot \hat{p}_0 = \hat{p}_0(1 - u)$$

След n – брой поколения, честотата на алелите A_1 ще бъде:

$$\hat{p}_n = \hat{p}_0(1 - u)^n$$

това уравнение може да се използва за дългосрочно прогнозиране на съответната алелна честота при еднопосочен мутационен процес (осъществяване на прави мутации). Много често обаче генните мутации са обратими и алелът A_2 може да мутира обратно към A_1 . Нека да допуснем, че алелът A_1 мутира както вече беше посочено до A_2 със скорост „ u “, а алелът A_2 мутира до A_1 със скорост „ v “. Ако в определен момент честотите на двата алела A_1 и A_2 са съответно $\hat{p}_0$ и $\hat{q}_0$, след едно поколение честотата на алела A_1 ще бъде:

$$\hat{p}_1 = \hat{p}_0 - u\hat{p}_0 + v\hat{q}_0$$

Това е така, защото част от алелите A_1 ($u \cdot \hat{p}_0$) се променят в A_2 , но в същото време част от алелите A_2 ($v \cdot \hat{q}_0$) се променят в A_1 . Ако с $\Delta \hat{p}$ означим промяната в честотата на алела A_1 за едно поколение, тогава:

$$\Delta \hat{p} = \hat{p}_1 - \hat{p}_0$$

Ако заместим стойността на $\hat{p}_1$ от по-горе, получаваме:

$$\Delta \hat{p} = (\hat{p}_0 - u\hat{p}_0 + v\hat{q}_0) - \hat{p}_0 = v\hat{q}_0 - u\hat{p}_0$$

По този начин, знаейки скоростта на правите и обратни мутации, и алелните честоти, можем да изчислим какво ще бъде изменението в честотата на единия или другия алел за едно поколение. **Тази промяна в съотношението между алелните честоти, вследствие на мутациите, се нарича мутационен натиск.** Мутационният натиск променя генофонда и генотипната структура на популацията до момента, в който настъпи равновесие между правите и обратни мутации, т.е. $\Delta \hat{p} = 0$. Ако означим равновесните алелни честоти с $\hat{p}$ и $\hat{q}$, $\Delta \hat{p} = 0$, когато:

$$u\hat{p} = v\hat{q}$$

Този израз показва, че алелните честоти ще бъдат в равновесие, когато броят на алелите A_1 , които мутират в A_2 , е равен на броя на алелите A_2 , които мутират в A_1 .

Скоростта, с която мутационният натиск променя съотношението между алелите в популацията, стремейки се да установи равновесие, зависи както от стойностите на алелните честоти във всяко поколение, така и от различията в скоростта на правото и обратно мутиране.

Мутирането е много бавен процес, който сам по себе си променя генетичния състав на популациите с много малка скорост. *Ако мутирането беше единственият процес за генетична промяна, еволюцията би се осъществявала с невероятно малка скорост.* Еволюционното значение на мутационния процес се изразява не толкова в изменението на алелните честоти, колкото в създаването на разнообразие от алели и възникването на нови гени, т.е. в създаването на материал за действие на отбора.

Поток от гени

Различните популации на даден вид сравнително рядко могат да бъдат изцяло изолирани една от друга. Между повечето от тях се осъществяват миграции. ***Поток от гени настъпва, когато някои индивиди се придвижват от една популация на вида в друга и се кръстосват с индивидите в нея*** (Айала и Кигер, 1987). Този фактор не променя алелните честоти за целия вид, но може да ги промени локално, когато алелните честоти на преселниците са различни от алелните честоти в генофонда на местната популация. Нека да приемем, че индивиди от околните популации на даден вид мигрират с определена скорост в дадена местна популация на същия вид, където се кръстосват с местните обитатели. Ако означим частта на преселниците с „ m “, в следващото поколение $(1 - m)$ от гените ще произхождат от местните обитатели, а m – от мигрантите. Ако приемем, че в околните популации определен алел A_1 има средна честота – P , а в генофонда на местната популация честотата му е $\hat{p}_0$, то в следващото поколение честотата на A_1 в местната популация ще бъде:

$$\hat{p}_1 = (1 - m)\hat{p}_0 + mP = \hat{p}_0 - m(\hat{p}_0 - P)$$

Изменението на алелната честота ($\Delta\hat{p}$) ще бъде:

$$\Delta\hat{p} = \hat{p}_1 - \hat{p}_0$$

Като заместим стойността на $\hat{p}_1$ с изведената по-горе, получаваме:

$$\Delta\hat{p} = \hat{p}_0 - m(\hat{p}_0 - P) - \hat{p}_0 = -m(\hat{p}_0 - P)$$

Това показва, че $\Delta\hat{p}$ е толкова по-голямо, колкото по-големи са частта на преселниците и разликата между двете алелни честоти. $\Delta\hat{p} = 0$ само ако $m = 0$, или $\hat{p}_0 - P = 0$.

Следователно, ако миграциите не спрат ($m = 0$), алелната честота ще продължи да се променя, докато не настъпи изравняване на алелната честота между местната и околните популации (т.е. $\hat{p}_0 - P = 0$). Разликата между алелните честоти на местната и околните популации след n -брой поколения на миграции ще се определи по формулата:

$$\hat{p}_n - P = (1 - m)^n \cdot (\hat{p}_0 - P)$$

Ако началните алелни честоти ($\hat{p}_0$ и P) са известни, тази формула позволява да се изчисли ефектът от n на брой поколения на миграции, извършваща се с дадена скорост:

$$\hat{p}_n = (1 - m)^n \cdot (\hat{p}_0 - P) + P$$

Чрез мигриране индивидите избират оптималните условия за съществуване в един или друг момент. Миграциите осигуряват цялостта на вида и разпространението по ареала на най-ценните в селективно отношение мутации. Те способстват за регулиране на числеността на популациите. Чрез миграции индивидите заемат нови местообитания. Този фактор на микроеволюцията е тясно свързан с отбора.

Естествен отбор

Естественят отбор е процесът, който спомага за приспособимостта на организмите и регулира разстройващите влияния на останалите процеси (Айала и Кигер, 1987). В този смисъл естественят отбор представлява най-критичният процес на еволюцията, тъй като единствено

той има отношение към адаптивната и високоорганизирана природа на живите същества. С действието на естествения отбор се обяснява също и част от голямото разнообразие на организмите, тъй като този фактор спомага за тяхното приспособяване към различните условия на съществуване. **Под естествен отбор се разбира закономерното по-удачно възпроизвеждане на едни генотипове в сравнение с други или това е избирателното възпроизвеждане на алтернативни генетични особености.** Естественият отбор може да се дължи на избирателната преживяемост или на избирателната плодовитост, или на двете заедно. Факторите на средата при посредничеството на отбора повлияват генотипната структура на популациите по такъв начин, че в тях съществуват най-приспособените фенотипове. Различават се *движещ, стабилизиращ и разграждащ* отбор (Попов, 1999).

Движещият отбор е известен още като направляващ отбор. Той води до прогресивно насочено изменение на генотипната структура на популацията. Осъществява се тогава, когато популацията се приспособява към нова среда, или когато средата на обитание бавно се променя и с това води до промяна и на обитаващата я популация. Този тип отбор може да се илюстрира с явлението индустриален меланизъм.

Стабилизиращият отбор действа тогава, когато дадената популация се е приспособила много добре към средата, която обитава, а самата среда остава стабилна дълъг период от време. В този случай действието на отбора е насочено към елиминиране на неприспособените към тази среда крайни стойности. В една такава приспособена популация, крайните стойности ще възникват непрекъснато под действието на мутационния натиск, потока от гени и разпадането при рекомбинацията. Стабилизиращият отбор в този случай ще има тенденция не към утвърждаване на едно или друго изменение, настъпило в популацията, а към запазване на популацията неизменна. Разликата между стабилизиращия и движещия отбор е тази, че стабилизиращият отбор елиминира изобщо крайните стойности, като запазва средната стойност непроменена, а движещият отбор елиминира едните крайни варианти, като неприспособени към изменящите се условия на средата, с което постепенно измества белега по посока на другите крайни варианти. В природата стабилизиращият отбор се среща често, но трудно се установява, защото не променя средната стойност на белега, която характеризира дадената популация, а само намалява степента на дисперсия около нея, а с това ограничава и изменчивостта в популацията.

Дизруптивният отбор действа противоположно на стабилизиращия отбор. Той се означава още като разрушаващ или разграждащ. Този тип отбор запазва крайните варианти, а елиминира междинните стойности, включително и средната. В резултат на това, ако дадена популация е полиморфна, то полиморфизмът се запазва и засилва, а една мономорфна популация може да се превърне в полиморфна. Тоест дизруптивният отбор може да служи като източник на популационен полиморфизъм. Допуска се, че в природните популации дизруптивният отбор действа в случаите, когато добре диференцираните полиморфни типове имат по-висока селективна ценност в сравнение с недобре диференцираните, и когато една полиморфна популация заема разнообразен терен.

Различните типове отбор реализират своето действие при различни ситуации и променят генотипната структура на популациите по различен начин.

Дарвинова приспособимост (приспособимост)

Параметърът, който се използва за отчитане действието на естествения отбор е *Дарвиновата приспособимост* (наричана понякога селективна стойност или адаптивна стойност). **Дарвиновата приспособимост** (w) – това е *относителната вероятност за размножаване на даден генотип*. Тоест *приспособимостта измерва репродуктивната способност на генотипа* и може да варира в граници $0 \div 1$.

Естественият отбор действа чрез избирателно възпроизвеждане на индивидите от различни генотипни класове, в съответствие с това приспособимостта често се изразява като относителна, а не като абсолютна мярка на възпроизводителната способност. Приспособимостта на генотиповете с най-висока възпроизводителна способност се означава като 1.

Друг параметър, който се използва за отчитане действието на отбора е **коэффициентът на отбор** (s), който измерва намаляването на приспособимостта на даден генотип. Между коэффициентна на отбор и дарвиновата приспособимост съществува следната зависимост:

$$s = 1 - w \Rightarrow w = 1 - s$$

Коефициентът на отбор може да варира в граници $0 \div 1$. Когато коефициентът $s = 0$ това означава липса на отбор, а когато $s = 1$ – пълно елиминиране на съответния генотип.

Действието на естествения отбор и приспособимостта на генотиповете се определят от всички онези особености в живота на един индивид, които могат да окажат влияние върху неговия репродуктивен успех. Тези особености се наричат *съставки на приспособимостта*. Главните съставки на приспособимостта са преживяемостта и плодовитостта. Различията в приспособимостта могат да се дължат на една, или няколко съставки на приспособимостта. При отчитане действието на естествения отбор, това, което е от значение, е общата приспособимост, но не и включените в нея съставки.

Понятие за среда и фактори на средата (екологични фактори)

Среда на обитаване е онази част от околната среда, която обкръжава организма и въздейства пряко или косвено върху най-важните му функции като растеж, развитие, цъфтеж, опрашване, оплождане, размножаване и др. Средата на обитаване на всеки организъм включва множество компоненти с органичен или неорганичен произход. Всеки вид има своя собствена среда. За паразитите това е организъмът на гостоприемника, докато за някои сапрофити, които се хранят с гниещи органични вещества, такава среда може да бъде мъртвото органично вещество.

Едно от най-важните свойства на живите организми е приспособяването им (адаптация) към условията на околната среда и регулирането на жизнената им дейност в съответствие с периодичните и непериодичните промени в нея.

Съвкупността от жизнено важните и незаменими за всеки организъм елементи на средата се нарича *условия за съществуване*, а отделните компоненти на средата за съществуване, които оказват пряко или косвено влияние върху организмите, се наричат *екологични фактори*.

Съществуват редица класификации на екологичните фактори, в основата на които са предложени различни критерии. Най-широко разпространение е получила класификацията, предложена от Наумов (1963), използвана и от Даждо (1975), Каменов (1988) и др. В зависимост от произхода и механизма на въздействие са обособени три основни групи екологични фактори:

1. Абиотични фактори са целият комплекс от елементи на неживата природа, които оказват пряко или косвено влияние върху организмите. Според Радкевич (1983) това е сборно понятие, което включва съвкупността от условията на неорганичната материя, въздействащи върху организмите и техните общества. Те включват: *климатични* или *атмосферни фактори*, към които се отнасят светлината и лъчистата енергия на Слънцето, температурата, влажността на въздуха, валежите и снежната покривка, атмосферното налягане, вятърът, газовият състав на въздуха, стратификацията на атмосферата и движението на въздушните маси (вятър); *едафични* (почвени) фактори, които определят физичните свойства, механичния и химичния състав на почвата; *геоморфологични* (орозграфски) фактори, които определят особеностите и характера на релефа; *хидрологични фактори*, които определят особеностите на водната среда.

2. Биотични фактори са всички форми на вътревидови и междувидови взаимоотношения между живите организми. Едни от тях могат да служат за храна, други се явяват среда на обитаване, трети участват в размножаването и пренасянето на семената на растенията. Има и такива, които оказват химично въздействие (алелопатия) или механично въздействие.

3. Антропогенни фактори са всички дейности на човека, които пряко или косвено са свързани с изменения в условията на околната среда. През последните десетилетия, антропогенните фактори са се превърнали в изключително мощна сила, която нарушава крехкото равновесие между отделните компоненти на биосферата. По силата си на въздействие могат да се равняват дори на геологичните процеси, които променят средата в продължение на хиляди, дори милиони години, а антропогенните го правят изключително бързо.

В зависимост от изменчивостта и приспособителната реакция на организмите Каменов (1988) отделя две основни групи фактори на средата: *устойчиви*, които не оказват влияние върху географското разпространение и числеността на популациите (такива са: земното притегляне, състава на атмосферата, хидросферата и литосферата, релефа и др.), и *неустойчиви* – изменящи се фактори, които биват *периодични* и *непериодични*. Първите са свързани с въртенето на Земята около оста ѝ и около Слънцето и обуславят периодичните изменения на времето и климата. Те обуславят денонощния и годишния ход на метеорологичните елементи, а самите организми са се приспособили към тази периодичност. Към периодичните фактори се отнасят слънчевата радиация, фотопериодизмът, приливите и отливите и др.

Към непериодичните фактори се отнасят абиотичните фактори, които са свързани с нахлуването на атмосферни фронтове, циклони и антициклони и свързаните с тях резки изменения на времето (облачност, вятър, валежи, температура и др.), биотични фактори (нападение от болести, неприятел и паразити, нападение от хищници) и антропогенни фактори (изсичане на горите, неправилно земеделие, аварии в АЕЦ, ядрени взривове и много други). Антропогенните фактори

често внасят трайни изменения в условията на околната среда. Важна особеност е, че тяхното въздействие върху биосферата може да бъде положително или отрицателно. Положителни са въздействията, свързани например с дриране на заблатени участъци, изграждане на полезащитни горски пояси и залесяване, разсейване на облаци и мъгли, борба срещу градушките, мразовете и други неблагоприятни явления на времето и климата. Отрицателните въздействия най-често са свързани с внасянето на съществени изменения в микроклимата, а оттук – и в останалите компоненти на биосферата. Те са най-опасните въздействия за живите организми.

Непериодично изменящите се фактори обикновено не оказват съществено влияние върху сезонните биологични цикли. Тяхното влияние се ограничава главно върху числеността и равномерното разпределение на популациите върху дадена територия. При голяма честота и продължителност те могат да доведат до трайни изменения и в периодичността на сезонните явления. Такъв е случаят със замърсяването на атмосферата и увеличената концентрация на т.нар. „парникови газове“, довели до трайни изменения на климата през последните две десетилетия в глобален и регионален мащаб.

В зависимост от характера на въздействие върху организмите екологичните фактори могат да се разделят на *пряко* или *непосредствено въздействащи* (светлина, топлина, влага и др.) и *косвено въздействащи* (надморска височина, релеф, наклон и изложение на склона и др.). Това влияние може да бъде различно както за отделните видове, така и за един и същи вид, но през отделни периоди и етапи от неговото развитие. Независимо от това могат да се отделят и общи закономерности в характера на въздействието на екологичните фактори върху организмите.

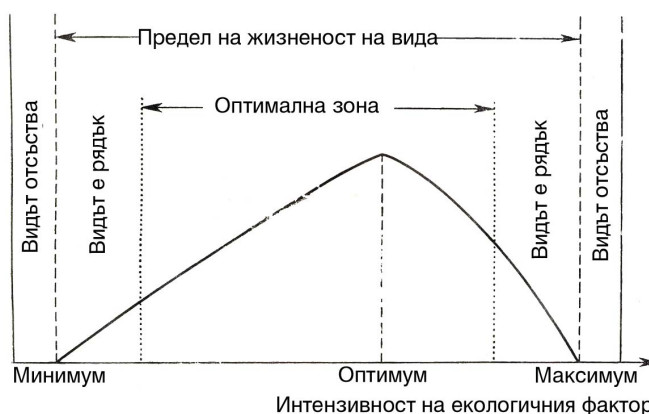
Общи закономерности при действието на факторите на средата върху организмите. Основната за взаимодействие между живата и неживата материя, което в най-голяма степен определя и жизнената дейност на организма – растеж, развитие, цъфтеж, опрашване, оплождане, размножаване и др., е динамичното равновесие между него и обкръжаващата го среда, което се нарича хомеостаза.

Въздействието на отделните екологични фактори силно зависи от тяхното количествено изражение – интензивност (степен на въздействие), продължителност, честота и диапазон на действие (амплитуда), формулирано като закон от Клементс и Шелфорд (1913), наречен **Закон за оптимума** (фиг. 1).

Една от основните характеристики за въздействие на отделните фактори е амплитудата – разликата между максималната и минималната стойност, която определя размаха или границите на вариране на екологичния фактор. За жизнената дейност на всеки организъм са характерни три кардинални точки – минимумът и максимумът, които определят критичните стойности за живота му, извън пределите на които той загива, и *биологичният оптимум* – най-благоприятните за вида стойности на фактора, при който физиологичните процеси и развитието са най-добри. Само в зона оптимум настъпва размножаване.

С отдалечаване от оптимума и приближаване към крайните точки (минимум и максимум), жизнените процеси в организмите отслабват, те изпитват все по-нарастващ стрес, който определя зоната на угнетяване или *песимума*. Заедно с оптималната зона те определят степента на поносимост на видовете към даден фактор, а амплитудата на вариране на фактора – от неговия минимум до максимума, определя границите на толерантност или устойчивост на вида. Тесният диапазон на толерантност показва адаптация на организма към конкретни стойности на даден фактор като например сухоустойчивост, устойчивост към студ и др.

Способността на организмите да се адаптират към колебанията на един фактор или комплекс от фактори определя тяхната *екологична пластичност* (валентност, бионтност). Колкото по-широк е диапазонът, в границите на който видът може да съществува, толкова по-висока еколо-



Фиг. 1. Интензивност на жизнените функции на организма, в зависимост от колебанието на екологичния фактор (по Дажо, 1975).

гична пластичност притежава и толкова по-добра е неговата адаптация към резки изменения в условията на обкръжаващата го среда, и обратно – ограничени възможности за приспособяване към такива колебания имат екологически слабо пластичните или непластичните видове (Odum & Barrett, 2004).

В зависимост от екологичната пластичност всички организми се делят на две групи – *еврибионти* (eugros – широк) и *стенобионти* (stenos – малки, тесни) (фиг. 2).

Видове, които могат да съществуват при сравнително малки отклонения на екологичните фактори от оптималната зона и в сравнително тесни граници на толерантност или устойчивост на вида, се наричат *стенобионти* или тясно специализирани. Тези видове притежават *ниска* екологична пластичност.

Организмите, които могат да съществуват при сравнително голям диапазон на вариране на екологичните фактори и притежават висока екологична пластичност, се наричат *еврибионти* или широкоспециализирани. Тези видове притежават *висока* екологична пластичност.

Затова еврибионтността и стенобионтността характеризират отношението и степента на адаптация на организмите към средата и отделните фактори. За тази цел към названието на съответния фактор се използват приставките *еври-* или *стено-*. Видовете, които дълго време са се развивали при сравнително постоянни условия на външната среда, впоследствие губят екологичната си пластичност и придобиват чертите на стенобионтност и обратно – в условията на голям диапазон на вариране на екологичните фактори те повишават своята екологична пластичност и стават еврибионти. Както подчертават Odum & Barrett (2004), стенобионтността на някои растителни и животински видове позволява тяхното използване в качеството им на екологични индикатори.

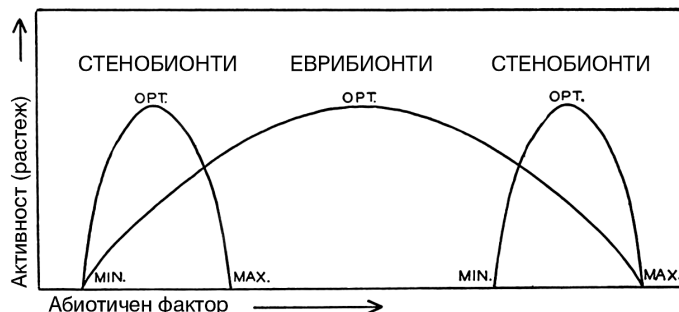
Всички екологични фактори са тясно свързани и въздействат комплексно върху организмите. Тяхното действие се основава на следните основни биологични закони (по Каменов, 1988):

Закон за равнозначност или незаменяемост на основните фактори за живота. Същността на този закон се състои в това, че нито един от жизнено необходимите фактори (въздух, светлина, топлина, влага), не може да бъде нито изключен, нито заменен с друг. Всички те са необходими за живота.

Закон за неравнозначност или неравноценност на факторите на средата. Съгласно този закон, по своето действие върху организмите факторите на средата се делят на основни или незаменими – които оказват непосредствено и силно влияние върху организмите, и без които популацията не може да съществува (светлина, топлина, влага, биогенни елементи, съдържание на незаменими макро- и микроелементи в почвата), и второстепенни – които имат косвена роля, като усилват или отслабват действието на основните фактори. Към тях се отнасят облачността, вятърът, атмосферното налягане, нивото на подпочвените води, прозрачността на водата и др.

Закон за минимума или лимитиращия (ограничаващия) фактор. Съгласно него при неизменящи се други условия оптималното развитие и максималната продуктивност на организмите се определя от този фактор, който се намира в минимум или в излишък. Факторите на средата, които са най-отдалечени от оптимума, затрудняват в най-голяма степен съществуването на вида. Той е заплашен даже и тогава, когато при оптимално съчетаване на всички останали фактори един от тях излезе извън границите на толерантност или устойчивост на вида (максимум и минимум). Към ограничаващите фактори се отнасят особеностите на климата – недостиг на влага или преовлажняване; късни пролетни и ранни есенни мразове и др. Например лимитиращ фактор в полусухите и сухите райони е влагата. В същото време тя се явява лимитиращ фактор и в заблатените и преовлажнените територии.

Закон за оптимума или съвкупното действие на факторите. Съгласно този закон всички фактори са взаимосвързани и действат в комплекс, но най-добро развитие и най-висока продуктивност се обезпечава само при оптималното съчетаване на всички екологични фактори.



Фиг. 2. Екологична пластичност на видовете (по Odum & Barrett (2004), с изменения).

Закон за критичните периоди. Съгласно него през отделни периоди и етапи от развитието си организмите са особено чувствителни към количественото значение на факторите на средата и особено към основните фактори – светлина, топлина и влага. За по-голяма част от висшите растения, например, критичен по отношение на влагата е периодът около цъфтежа. По отношение на температурата критичен към резки понижения в температурата на въздуха е целият период на образуване на репродуктивните органи (образуване на съцветия, цъфтеж, образуване на завръз, зреене). При животните неблагоприятното въздействие се проявява най-силно през периода на размножаване и хибернация.

Закон за относителната независимост на адаптация на организмите, съгласно който организмите могат да притежават висока адаптация към един екологичен фактор, но ограничени възможности към други фактори на средата; Тук е в сила и *правилото за екологичната индивидуалност*, съгласно което всеки вид притежава свои специфични адаптивни възможности. По-широко разпространение са получили организмите с по-широк обхват на поносимост към голям брой екологични фактор.

Организмите съществуват в диалектическо единство с непрекъснато променящите се условия на жизнената среда благодарение на своите приспособителни механизми или адаптивна реакция. Тяхна основна цел е постоянството на вътрешната среда в съответствие с промените на външната среда (хомеостаза), т.е. динамичното равновесие на структурата и процесите на организма при изменящите се условия на средата.

Екосистема – същност и дефиниция

Всяко съобщество от организми се намира в диалектическо единство и връзка с неорганичната среда – биотопа. Връзката на биоценозата с биотопа има материално-енергетичен характер. Всяка съвкупност от биоценоза и биотоп, в която може да се осъществява кръговрат на веществата и енергията, се нарича екосистема. Одум (1971) дефинира екосистемата като: „всяко единство между живите организми от определен участък и техните взаимодействия с физичната среда, което е организирано така, че потокът на енергията да създава точно определена трофична структура, видово разнообразие и кръговрат на веществата в тази система, се нарича екосистема“.

Екосистемата е основната функционална единица в екологията, доколкото в нея влизат организми и нежива среда, компоненти, взаимно влияещи един на друг и необходими за поддържане на живота в тази форма, в която съществува на Земята. Тя фактически представлява относително самостоятелна структурна единица, в която съобществото на организмите е енергетично свързано с неорганичната среда чрез биогенния кръговрат, който е цялостен и метаболитно затворен. Този процес на трансформация и пренос на материя се осъществява от взаимодействащите си екологични групи на биопроизводителите (продуценти), биопотребителите (консументи) и биоразградителите (редуценти). Продуцентите са автотрофни организми, които съществуват за сметка на неорганичните елементи на средата и произвеждат органична материя. Консументите са хетеротрофни организми, използващи готово органично вещество като източник на енергия. Редуцентите живеят за сметка на мъртвото органично вещество, което разлагат и минерализират. Най-голямо разнообразие в кръговрата на неорганичните елементи внасят консументите, които са представени изключително от животни. Благодарение на тях се ускорява кръговратът на неорганичните елементи в екосистемата и придвижването на веществата в други екосистеми. Това дава основание да се твърди, че и най-голямата екосистема на Земята няма напълно затворен кръговрат на веществата.

Границите на екосистемите трудно могат да бъдат определени, тъй като голяма част от подвижните видове влизат едновременно в състава на няколко биоценози. Сложните междувидови взаимоотношения, определящи функционалната цялост на екосистемите, се отличават с относителна свобода на структурните зависимости между отделните компоненти. В зависимост от динамиката на числеността и биологичната активност на отделните популации, се изменя както посоката, така и интензивността на потока на веществата и енергията.

Организацията на живата материя под формата на екосистеми е едно от необходимите условия за съществуване на живота. Разнообразието на живите организми осигурява тази степен на интензификация на кръговрата, която е необходима за равновесието и неограниченото съществуване на биогенните елементи на Земята.

Трофична структура на екосистемите

Функционалната структура на екосистемата представлява преди всичко хранителни взаимоотношения между организмите и средата. Всяко съобщество може да се представи като хранителна мрежа, която представлява схемата на трофичните връзки между видовете, влизащи в състава му. Хранителната мрежа се състои от няколко хранителни вериги, всяка от които се явява отделен неин канал. Хранителните вериги отразяват пътя на преминаване на хранителните вещества и енергията през различните трофични нива. Всички звена във веригата са взаимно свързани. Опростената схема на една хранителна верига включва трите основни групи организми: продуценти, консументи от различен порядък и редуценти. Те образуват трофичните звена на хранителната верига, през които се извършва предаването на хранителните вещества. Успоредно с предаването на храната се извършва и предаване на енергията, която преминава през различни енергетични нива.

Първото трофично ниво се заема от автотрофните организми – продуценти (П). Това са фотосинтезиращи растения, способни да образуват органични вещества, богати на енергия. Първичните продуценти са важни за всички екосистеми, защото всички останали компоненти на екосистемата зависят пряко или косвено от запаса на енергия, натрупан в тях. Второто трофично

ниво е представено от хетеротрофни организми – консументи. Тревопасните животни се означават като първични консументи (K1), а хранещите се с тях животни образуват третото ниво и се означават като вторични консументи (K2) или първични хищници. Четвъртото ниво се образува от третичните консументи (K3) или вторични хищници – хищни животни, хранещи се с първичните хищници. След отмиране на индивидите мъртвата материя се разгражда от редуцентите (P).

Съществуват различни типове хранителни вериги. Първият вид е хранителната верига на хищниците, която започва от автотрофните растения, след което енергията и веществата преминават към консументите от различен порядък – фитофаги (например насекоми), зоофаги (например пойни птици), които служат за храна на по-едри от тях грабливи птици (консументи от трети порядък). Тази хранителна верига се характеризира с това, че хранителните вещества и енергията се предават последователно през все по-нарастващи по големина консументи.

Хранителната верига на паразитите започва с растителен или животински организъм (гостоприемник), след което хранителните вещества и енергията направо преминават в паразитите, които също могат да бъдат от няколко порядъка.

При хранителната верига на сапрофагите растителните и животински органични отпадъци направо се използват като източник на вещества и енергия от сапрофагите, след които следва последното звено на хранителната верига – редуцентите.

Тези типове хранителни вериги не се срещат в чист вид в природата, тъй като един вид може едновременно да заема няколко нива в една хранителна верига или да участва в състава на няколко хранителни вериги. По такъв начин в екосистемата възникват сложни хранителни взаимоотношения, представляващи единни комплекси от много хранителни вериги, наречени хранителни мрежи. Това са хранителни вериги, свързани помежду си от общи хранителни звена. Колкото по-сложни са хранителните взаимоотношения между отделните видове в биоценозата, толкова по-сложна е хранителната мрежа и по-устойчиво е съответното съобщество.

Предаването на енергията в екосистемата става от нискостоящо към високостоящо равнище, в съответствие с първия и втория закон на термодинамиката (със загуба на топлина). При всеки преход на храната от едно трофично звено на друго се губи голяма част от съдържащата се в нея енергия (80 – 90%). Това ограничава броя на възможните трофични звена в хранителната верига до 4 – 5. Колкото тя е по-къса, толкова по-голямо е количеството на достъпната енергия за участващите в нея организми и обратно. В резултат на това намалява и броят на организмите, които могат да се поддържат от тази енергия, т.е. намалява числеността, а се увеличават размерите на отделните индивиди. По-големите размери са свързани с по-нисък интензитет на обменните процеси и следователно с по-малко количество необходима енергия.

Дължината на хранителните вериги зависи от:

- 1) количеството на достъпната енергия, която зависи от ефективността на функциониране на продуцентите;
- 2) ресурсите на местообитанието – наблюдават се случаи на високи стойности на първична продукция и къси хранителни вериги и такива, при които има недостатъчно първична продукция и дълги вериги.
- 3) видовото и функционалното разнообразие на биоценозите;
- 4) създалите се на тази основа регулаторни механизми.

Хранителната структура е най-чувствителното звено в екосистемата и лесно може да бъде нарушена, особено в бедни биоценози. В простите биоценози, изградени от малък брой видове, хранителните вериги са от линеен тип и трофичната структура може много лесно да бъде нарушена при отпадане на един от тях, докато в сложните биоценози хранителните вериги са от тип хранителна мрежа и отпадането на един вид не оказва съществено влияние върху функционалната им устойчивост, тъй като той може да бъде заменен от друг, равностоеен в екологично отношение.

В резултат на протичането на енергия по хранителните вериги всяко съобщество придобива определена трофична структура, която често се използва за характеристика на типа екосистема – горска, езерна, речна, тревна. Трофичната структура е фундаментално свойство на всички съобщества и екосистеми, благодарение на което то се намира в равновесие със средата и участва по определен начин в кръговрата на веществата и използването на слънчевата енергия. При хронични стресови въздействия върху екосистемите, трофичната структура може да се промени до известна степен съобразно с приспособленията на биотичните компоненти към стресовия фактор. Създава се ново равновесно състояние, което не е така устойчиво. При поява на този стресов фактор може да се стигне до деградация на съобществата.

Екологични пирамиди

Трофичната структура обикновено се изгражда в графичен вид под форма на екологична пирамида, тъй като хранителните взаимоотношения на организмите в екосистемата са подчинени на определени количествени закономерности. При построяването на пирамидата чрез правоъгълници се изобразяват хранителните равнища. В основата се разполага продуцентите, над тях първичните консументи, а над тях съответно вторичните и третичните консументи.

Тъй като предаването на хранителните вещества и енергията в хранителните вериги се извършва със значителни загуби, съгласно принципите на термодинамиката, то всяко следващо трофично звено ще съдържа по-малко биомаса и енергия от предходното. От тук следва, че и броят на организмите трябва да намалява в горните нива на хранителните вериги. Когато пирамидата е най-голяма в основата си и постепенно намалява, тя се нарича права пирамида. Когато в основата се пирамидата е по-малка от следващото хранително равнище, тя се нарича обърната пирамида.

Екологичните пирамиди отразяват количествено отношението между биологичните компоненти в екосистемите или в отделни звена на трофичната верига – хищник-жертва и т.н. В зависимост от използваните параметри за характеристика на тези количествени отношения, екологичните пирамиди биват три основни типа:

1) **Пирамиди на числеността** – отразяват броя на индивидите във всяко звено на хранителната верига (числеността на различни функционални биологични компоненти). Според нея броят на индивидите във всяко следващо ниво на хранителната верига е по-малък от този в предходните, а размерите им нарастват обратно пропорционално на броя им. Пирамидата на числеността на популацията може да се обръща или частично да се обръща, т.е. основата може да бъде по-малка, отколкото един или няколко върхни етажа. По този начин се получават по-малки размери на продуцентите и по-големи размери на консументите. Формите на пирамидите на числеността са различни за различните съобщества в зависимост от това малки (планктонни, тревни) съобщества или големи (горски) са размерите на популациите. Пирамидите на числеността общо взето не дават реално представа за функционалната роля на отделните трофични нива и на елементите, които ги формират (популации или части от популации).

2) **Пирамиди на биомасата** – отразяват съотношението на биомасата на организмите, заемащи отделните трофични нива в хранителната верига, в тегловни единици (обща суха биомаса, калорийност или друга мярка на съотношение между общото количество живо вещество за функционалните компоненти). Пирамидите на биомасата по-добре отразяват ролята и съотношението на отделните функционални групи. Съгласно посочената закономерност в повечето сухоземни екосистеми количеството на биомасата във всяко предходно звено на хранителната верига е по-голямо от следващото. В сухоземните хранителни вериги, завършващи с микроорганизми обаче, тази закономерност не е валидна. Тя не се спазва и във водните екосистеми, особено в моретата и океаните, където пирамидата на биомасата е обърната, т.е. основата на пирамидата е по-малка, тъй като първоначалните нива на хранителната верига съдържат по-малко биомаса от следващите. Това обаче не е причина за нарушаване на устойчивостта на водните екосистеми и е възможно поради изключително високата продуктивност на основния продуцент в тях – фитопланктона, поради което той, по-малък по биомаса, може да изхрани следващите нива с по-голяма биомаса. Освен това поради увеличаване на продължителността на живот на видовете, заемащи горните нива на хранителните вериги във водните екосистеми, в тях има тенденция към задържане на биомаса.

3) **Пирамиди на енергията** – отразяват потока на енергия или продуктивността на последователните трофични нива. Установено е, че при използване на данните за числеността се надценява функционалната роля на малките организми в една екосистема, а при използването на данните за биомасата – ролята на едрите организми. Числеността и биомасата във функционалната екология не са подходящи за оценката на ролята на силно различаващи се по отношението интензивност на метаболизма/размери на организмите. Пирамидите на енергията отразяват скоростта, количеството на потока и загубата на енергия от едно трофично ниво към друго. Те не се влияят от други закономерности и винаги имат правилна форма съгласно втори закон на термодинамиката – имат широка основа и се стесняват към върха. Чрез тях могат да се съпоставят различни екосистеми и да се оцени функционалната роля на едни и същи или на различни популации в тях. Може да се изчислят не само точните количества енергия в отделните звена, но и усвояването и загубата ѝ при преходите.

Поток на енергията в екосистемите

За разлика от веществата, които се движат в затворен кръг, енергията се движи еднократно. При преминаването ѝ от едно хранително ниво на друго, тя постепенно се изразходва. Високата степен на вътрешна подреденост на биологичните системи и нейното поддържане са свързани със значителен разход на енергия, поради което в последното хранително звено на екосистемата достига незначително количество от погълнатата от първото звено енергия. Основна роля в процеса на преноса на енергия в екосистемата играят автотрофите и по-точно количеството биомаса, което те създават и което ще се консумира от останалите трофични нива. Приема се, че до Земята достига около 43% от слънчевата енергия и едва 1% от нея се усвоява от автотрофите. Половината от свързаната при фотосинтезата енергия се изразходва за дишане на растенията, а останалата половина постъпва в хранителната верига. Около 80 – 90% от свързаната енергия на дадено трофично ниво се разсейва под форма на топлина и на следващото ниво постъпват едва 10 – 20%.

Макар и незначително, количеството на енергията, използвана в биогенния кръговрат на веществата, е достатъчно за синтеза на огромно количество биомаса. Цялото количество биомаса, произведено за една година от всички екосистеми на биосферата, се нарича обща биомаса. От количеството на първичната продуктивност зависи ефективността на преноса на енергия от едно звено в друго. За да се прогнозира характерът на движение на енергията в дадена екосистема, трябва да се знаят три различни ефективности на преноса ѝ:

1) **ефективност на консумиране** – процентът на сумарна продукция на едно трофично ниво, който действително се консумира от следващото трофично ниво. За фитофагите (първични консументи) това е количеството енергия, произведено за единица време във вид на чиста продукция от продуцентите, което постъпва в храносмилателния тракт на растителноядните животни. За вторичните консументи това е количеството биомаса, произведено от фитофагите, което се поглъща от хищниците. Останалата енергия се губи или под формата на топлина, или отива директно при редуцентите след смъртта на фитофагите. Счита се, че ефективността на консумиране като цяло е ниска при фитофагите и хищниците.

2) **ефективност на асимилация** – процентът енергия от храната, попадаща в храносмилателния тракт на консументите от дадено трофично ниво, преработена в достъпна и усвояема форма, нужна за растеж или за извършване на работа. Останалата част се губи под формата на екскременти и попада при редуцентите. Установено е, че ефективността на асимилация е ниска при фитофагите и детритофагите, но висока при хищниците, тъй като животинската храна се преработва и асимилира по-бързо и по-лесно в сравнение с растителната.

3) **ефективност на продуциране** – процентът на асимилирана енергия, включена в произведената биомаса. Останалата енергия, попадаща в съобществото, се губи като топлина и за дишане. Ефективността на продуциране е различна и зависи също и от систематичното положение на организмите. Например за безгръбначните е висока (30 – 40%), тъй като те изразходват сравнително малко енергия и по-голямата част отива за образуване на биомаса. При гръбначните животни с непостоянна температура ефективността е около 10%, а при тези с постоянна температура – едва 1 – 2%, защото голяма част от енергията отива за поддържане на телесната температура. За микроорганизмите е характерна висока ефективност на продуциране, тъй като те имат къс жизнен цикъл, малки размери и бързо обновяване на популацията.

Пренасянето на енергията в екосистемата има каскаден характер, а пренасянето на веществата – кръгов (цикличен). В противен случай се създава впечатлението, че биологичните процеси и по-точно кръговратът на веществата могат да изчерпят енергетичните възможности на екологичните системи, в това число и на биосферата.

Кризата със загубата на биоразнообразие е причинена от нарастването на броя на човешкото население, всеобщата бедност и неравното потребление на ресурсите. Според общоприетата класификацията на IUCN (2022) основните заплахи за биологичното разнообразие на Земята са: унищожение, фрагментация и деградация на местообитанията на видовете; предизвикани от човека промени в климата; инвазивни видове; генетично замърсяване; свръхексплоатация на естествени природни ресурси; замърсяване на околната среда и разпространение на болести и епидемии.

Унищожение, фрагментация и деградация на местообитанията на видовете

Загубата на местообитания е основната заплаха за изчезването на видове. Понятието „загуба на местообитания“ включва тяхното пряко разрушаване, но също и щетите, нанесени върху местообитанията чрез замърсяване и/или фрагментация. Когато едно местообитание е деградирало или разрушено, растенията и животните и другите организми, живеещи там, няма къде да отидат и обикновено измират (Примак и др., 2018).

Най-много видове изчезват вследствие на изсичането на горите. В резултат от раздробяването на местообитанията, земеделието, сечите и другите човешки дейности, в много от страните стават твърде малко функционално запазените гори – непокътнати блокове от относително слабо повлияни от човека гори, достатъчно големи, за да поддържат всички аспекти на биоразнообразието. В България унищожаването на горите е започнало още преди Средновековието, като особено интензивно е било по време на Османското владичество. След Освобождението през 1878 г. унищожението на горите е продължило, което довело и до невиджана ерозия.

Други фактори, които водят до загуба на местообитания са миннодобивната индустрия, урбанизацията и пренаселването, замърсяването на въздуха, водите и почвата и глобалните климатични промени. По-едрият по размер организми и тези, които живеят в горите или океаните, са най-чувствителни към изчезването на местообитания. Намалването на видовете в екосистемите води до разрушаване на трофичните мрежи, прави ги по-нестабилни, чувствителни към външни промени и често пъти доминирани от един вид. Това създава по-голяма възможност за поява на каламитети или сринове в популациите на оцелелите видове. Най-застрашените екосистеми в момента са сладководните.

Предизвикани от човека промени в климата

Промените в климата са огромна заплаха за биоразнообразието поради многопосочното си действие. То води до пряка промяна на физическите параметри на средата на обитание на живите организми (Kannan & James, 2009). Промените в климата влияят и косвено като спомагат за преодоляването на екологични и географски бариери за различни организми, които са патогенни или инвазивни и разрушават екологичното равновесие в екосистемите, в които нахлуват.

Свръхексплоатация на естествени природни ресурси

В историята на човечеството има много примери, когато прекалената експлоатация на растителни и животински видове е довела до тяхното измиране, а впоследствие и до значими и негативни промени за бита на хората. Преексплоатацията на природните ресурси продължава и днес тя не засяга само сушата, но и океана. Около 25% от световния риболов свръхексплоатира рибните ресурси до невъзможност за възстановяване на популациите в размери, гарантиращи устойчивото им ползване (Цонев, 2020). За много морски видове пряката експлоатация е по-малко важна, отколкото непреките ефекти от комерсиалния риболов. Много морски гръбначни и безгръбначни животни се хващат случайно като *приулов* (или страничен улов) при риболовните дейности и се убиват или увреждат при преработката. Приблизително 25% от улова при риболовните операции се изхвърля обратно в морето (Примак и др., 2018). От друга страна, незаконната международна търговия с диви растения и животни за най-различни комерсиални цели е с огромни мащаби водеща до изчезването на подвидове и видове от дивата природа (Цонев, 2020).

Ловът винаги е бил силен фактор в България, за намаляване и изчезване на видове от Средновековието до наши дни. Особено активна става ловната преса след Освобождението и в нача-

лото на XX век. За някои видове, с нисък репродуктивен потенциал, промяната на местообитанията наред с активното ловуване особено в първата половина на XX век води до драстично намаляване на популациите им, от което те не могат да се възстановят и изчезват от фауната на България през втората половина на XX век. Заедно с мерките по увеличаване на дивечовите запаси, започва и войната с хищниците. Популацията на вълка (*Canis lupus*) е доведена до критичен минимум. В страната се срещат около 150 – 200 вълци. Чакалът (*Canis aureus*), който дотогава се среща само в Странджа и е обявен за защитен вид, поради липсата на неговия основен враг, започва експанзия и се разпространява не само в България, но и в цяла Югоизточна Европа и сега се налага контрол на популацията му. Най-пагубният аспект на войната срещу хищниците има започналата през 60^{те} години на XX век кампания по масово използване на отровни (стрихнинови) примамки за вълци и др. хищници. Това довежда до изтравяне на хищните и мършоядните видове птици. Особено силно пострадват популациите на лешоядите, като черния лешояд (*Aegypius monachus*), белоглавият лешояд (*Gyps fulvus*) и египетският лешояд (*Neophron percnopterus*). Символът на българската природозащита – брадатыят лешояд (*Gypaetus barbatus*) напълно изчезва от фауната на България. Много от хищните птици, като гарвана (*Corvus corax*) и др., почти изчезват и им трябват десетилетия, за да възстановят поне частично популациите си.

Инвазивни видове

Съзнателното или несъзнателно въвеждане в природата на инвазивни чужди видове на места извън техните естествени ареали на разпространение е също сериозна заплаха за биоразнообразието.

Някои от най-опасните инвазивни видове са плъховете, зеленият краб (*Carcinus maenas*), мидата зебра (*Dreissena polymorpha*), червенобузата костенурка (*Trachemys scripta*) и др.

Примери за опасни инвазивни видове има и в Европа, в нашата страна – внесеният като ценно медоносно растение американски храст аморфа (*Amorpha fruticosa*), който се е превърнал в истинска напасть по поречието на р. Дунав и на други места в страната, като променя структурата на крайречните гори. Някои интродуцирани от човека в нови райони видове са агресивни, а някои от тях са доказано инвазивни. Например мидата зебра (*Dreissena polymorpha*) е била разпространена случайно в България, като е попаднала във водоемите с баластната вода от трюмовете на корабите. Същото важи и за морският охлюв рапана (*Rapana venosa*), който е пренесен от Японско море у нас през 50-те години на миналия век. Поради отсъствието на естествени врагове (морски звезди) и при наличието на богата хранителна база в Черно море, този хищник започва системно да унищожава мидените полета и така намалява рязко филтрационния капацитет на придънната екосистема, което води до чувствително нарастване на фитопланктона и натрупването на мъртва органика със съответните промени в кислородния режим в крайбрежната зона. След като се разбра, че рапана може да се използва и като храна за хората, след 1990 г. рапана в Черно море става комерсиален вид и днес е постигнала един относително устойчив баланс с черната мида (*Mytilus galloprovincialis*) – главен филтратор в крайбрежните морски води. По-късно обаче други двама пришълци – ктенофората *Mnemiopsis leidyi* (от 1990 г.) и *Beroe ovata* (след 1997 г.) нанасят огромни щети на черноморския риболов, тъй като консумират зоопланктон, яйца и ларви на риби и така оказват негативно влияние върху попълването на рибните запаси. От 1997 г. в Черно море, с появата на *B. ovata*, количеството на *M. leidyi* започва да се понижава (Примак и др., 2018).

Генетично замърсяване

Ендемичните видове могат да бъдат заплашени от изчезване заради т.нар. генетично замърсяване, т.е. неконтролирана хибридизация с близкородствени на тях и по-масови видове, интрогресия и генетично „замърсяване“. Това води до хомогенизиране или промяна на редките генотипове, особено на ендемични и малочислени видове, които имат широко разпространени или съзнателно размножавани и разселвани от хората близки родственици (Rhymer & Simberloff, 1996). В България такава тенденция е регистрирана при местния подвид на колхидския фазан (*Phasianus colchicus colchicus*), чийто генотип е практически претопен, след като в края на XIX в. започва целенасочено разселване на азиатски подвидове фазани в страната, главно пръстенчат фазан (*Phasianus colchicus torquatus*) (Боев & Герасимов 2007).

Във все по-сериозен проблем се превръщат генетично модифицираните организми (ГМО), които имат генетичен материал, променен чрез генно инженерство с използване на рекомбинантни ДНК технологии. ГМО културите са източник на генетично замърсяване и то не само на

дивите форми, но и на културните сортове, получени по пътя на традиционната хибридизация (Zaid, 1999). Генетичното замърсяване може да доведе до унищожаване на уникални генотипове, с което се създава и потенциален риск за сигурността на хранителните ни ресурси. Ще изчезне уникален генетичен материал, което би се отразило на способността ни да продължим да кръс-тосваме културни сортове и породи с цел получаване на устойчиви на болести и паразити форми.

Замърсяване на околната среда и разпространение на болести и епидемии

Най-разпространената и повсеместна форма на деградация на околната среда е замърсяването, обикновено предизвикано от пестициди и торове от земеделските площи (Примак и др., 2018). Така например прекомерното използване на изкуствени торове води до изкуствено насищане на почвата с различни биогени и промяна на видовата структура на почвената микрофлора (Цонев, 2020).

Нарастващото разпространение на болести в резултат от човешката дейност и взаимодействието между хората е главна заплаха за много застрашени видове и екосистеми. Причиняващите заболявания организми (бактерии, гъби и протисти) могат да оказват голямо негативно въздействие върху уязвими видове и дори върху структурата на цели екосистеми. Човешката дейност може да увеличи случаите на болестни преносители, каквито са например определени насекоми.

Защитени природни територии в Република България

Защитените природни територии имат особено важно значение за защитата на природата, опазване на биологичното разнообразие и за развитието на науката и културата в обществото. По същество основната цел на обособяването им се свежда до ограничаването на отрицателното антропогенно въздействие в тях, за да се съхрани в по-голяма степен природата (Цонев, 2020). Основният юридически инструмент, чрез който се обявяват, регламентират и управляват защитените територии в страната е Закона за защитените територии (ЗЗТ) от 1998 г. В закона е написано, че предназначението на защитените територии е „опазване на биологичното разнообразие в екосистемите и на естествените процеси, протичащи в тях, както и на характерни или забележителни обекти на неживата природа и пейзажи“ (Пенчев, 2019).

Категоризация на защитените природни територии. Те биват шест категории:

- (1) национални паркове
- (2) природни паркове
- (3) резервати
- (4) поддържани резервати
- (5) защитени местности
- (6) природни забележителности

Тази категоризация се извършва от Министерство на околната среда и водите (МОСВ). Установява се специфична административна процедура по обявяване на защитените природни територии. Те се обявяват със заповед на министъра на околната среда и водите, която се публикува в Държавен вестник. Следващата стъпка е разработване и утвърждаване на планове за управление на защитени природни територии. За национални и природни паркове планове за управление се утвърждават от Министерски съвет, а за всички останали видове защитени територии от Министерство на околната среда и водите (Пенчев, 2019).

Предназначението и режима на опазване и ползване на категориите защитени природни територии са определени както следва:

Национални паркове

За национални паркове се обявяват територии, в чийто граници не попадат населени места и селищни образувания и които включват естествени екосистеми с голямо разнообразие на растителни и животински видове и местообитания, с характерни и забележителни ландшафти и обекти на неживата природа (Георгиев, 2004; 2010; Цонев, 2020).

Националните паркове се управляват с цел: поддържане на разнообразието на екосистемите и защита на дивата природа; опазване и поддържане на биологичното разнообразие в екосистемите; предоставяне на възможности за развитие на научни, образователни и рекреационни дейности; създаването на предпоставки за развитието на туризъм, екологосъобразен поминък на населението и други дейности, съобразени със статута.

Природни паркове

За природни паркове се обявяват територии, включващи разнообразни екосистеми с многообразие на растителни и животински видове и на техните местообитания, с характерни и забележителни ландшафти и обекти на неживата природа (Георгиев, 2004; 2010; Цонев, 2020).

Природните паркове се управляват с цел поддържане на разнообразието от екосистеми и опазване на биологичното разнообразие в тях; предоставяне на възможности за научни, образователни и рекреационни дейности и устойчиво ползване на възстановимите природни ресурси при запазване на традиционните форми на поминък, както и осигуряване на условия за туризъм и отдих.

В природните паркове се допуска наличие на селища и курорти, както и дейности, които не замърсяват околната среда. Защитени територии от други категории, попадащи в границите им, запазват статута си.

Резервати (строги)

За резервати се обявяват образци от естествени екосистеми, включващи характерни и/или забележителни диви растителни и животински видове и местообитанията им (Цонев, 2020).

Резерватите се управляват с цел: запазване на естественият им характер; научна и образователна дейност и/или екологичен мониторинг; опазване на генетични ресурси; запазване на естествени местообитания и на популациите на защитени редки, ендемични и реликтни видове; развитие на мрежата от представителни за страната ни и Европа екосистеми и застрашени местообитания.

В строгите резервати се забраняват всякакви дейности с изключение на охраната им, посещенията с научна цел, преминаването на хора по маркирани пътеки, включително с образователна цел и събирането на семенен материал, диви растения и животни с научна цел или за възстановяването им на други места в количества, начини и време, изключващи нарушения в екосистемите, потушаване на пожари и санитарни мероприятия в горите, увредени вследствие на природни бедствия и каламитети.

Посещенията се осъществяват с разрешение на МОСВ. Санитарните мероприятия се извършват с разрешение от Министерството на околната среда и водите, издадено след положително научно становище от Българската академия на науките и положително решение на Националния съвет по биологичното разнообразие.

Поддържани резервати

За такива се обявяват екосистеми, които включват редки и/или застрашени диви растителни и животински видове и местообитанията им (Цонев, 2020).

Поддържаните резервати се управляват с цел: поддържане на природния им характер; научни и образователни цели и екологичен мониторинг; възстановяване на популации на растителни и животински видове и местообитанията им; опазване на генетичните ресурси.

В поддържаните резервати се забраняват всякакви дейности с изключение на тяхната охрана; посещения с научна цел; преминаване на хора по маркирани пътеки; събиране на семенен материал, на диви растения и животни с научна цел или за възстановяване на други места и провеждането на поддържащи, направляващи, регулиращи или възстановителни мерки, потушаване на пожари и санитарни мероприятия в горите, увредени вследствие на природни бедствия и каламитети.

Защитени местности

За защитени местности се обявяват територии с характерни или забележителни ландшафти, включително такива, които са резултат от хармонично съжителство на човека и природата, а също така и местообитания на застрашени, редки или уязвими растителни и животински видове и местообитания (Цонев, 2020).

Управляват се с цел: запазване на компонентите на ландшафта; опазване, поддържане или възстановяване на условия в местообитанията, отговарящи на изискванията на видовете и съобществата, обект на защита; предоставяне на възможности за научни изследвания, образователна дейност и екологичен мониторинг; предоставяне на възможности за туризъм и за духовно обогатяване.

В защитените местности се забраняват всички дейности, които противоречат на изискванията за опазване на конкретните обекти, предмет на защита.

Природни забележителности

За такива се обявяват характерни или забележителни обекти на неживата природа, като скални форми, скални разкрития с научна стойност, земни пирамиди, пещери, понори, водопади, находища на вкаменелости и минерали, пясъчни дюни и други, които са с изключителна стойност, поради присъщата им рядкост, представителност, естетичност или които имат значение за науката и културата (Цонев, 2020).

Управляват се с цел запазване на техните естествени особености и се обявяват с прилежащата им територия, необходима за опазването им.

В природните забележителности се забраняват всички дейности, които могат да нарушат тяхното естествено състояние или да намалят естетичната им стойност, като възникнали промени се допускат мерки с разрешение на МОСВ и съгласието на собствениците им.

Към момента в България има 3 национални и 11 природни парка, 90 резервата 55, от които са строги и 35 са поддържани. Броят на защитените местности и природните забележителности се променя значително по-често.

Специалност

„Екология и опазване
на околната среда“

КОНСПЕКТ ЗА ДЪРЖАВЕН ИЗПИТ

СПЕЦИАЛНОСТ „ЕКОЛОГИЯ И ОПАЗВАНЕ НА ОКОЛНАТА СРЕДА“
ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНО-КВАЛИФИКАЦИОННА СТЕПЕН
„БАКАЛАВЪР“
ПРОФЕСИОНАЛНА КВАЛИФИКАЦИЯ „ЕКОЛОГ“

1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори.
2. Структурна организация на еукариотната клетка. Едномембранни клетъчни органели – структура и функция.
3. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Оплождане. Етапи на ембрионалното развитие при животните.
4. Генетика на пола. Детерминиране на пола при мъжка и женска хетерогаметност. Половосвързана наследственост.
5. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете).
6. Ферментации – алкохолна, млечнокисела, мравченокисела, масленокисела, пропионовокисела. Представители, биохимизъм, приложение.
7. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.
8. Вегетативни органи при растенията – функция, морфологична и анатомична характеристика. Метаморфози на вегетативните органи.
9. Обща характеристика и класификация на талусни и кормусни растения. Представители с консервационен статус в Българската флора.
10. Растителни пигменти – физични и химични свойства, физиологична роля.
11. Тип *Platyhelminthes* (Плоски червеи) – обща характеристика. Устройство на тялото и жизнени цикли на представители от клас *Trematoda* и клас *Cestoda*.
12. Адаптации за живот във водна среда при надклас *Pisces* (Риби). Класификация на надклас *Pisces*.
13. Биологичен контрол – същност. Екологични основи на биологичния контрол, категории биоагенти. Методи и подходи за използване на ентомофаги и акарофаги.
14. Главни местообитания в хидросферата. Основни жизнени форми при хидробионтите: планктон, нектон и бентос.
15. Биоми на сушата – физикогеографски и екологични характеристики. Характерни представители на растителните и животински съобщества.
16. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората.
17. Физиология на дишането при човека. Външно дишане. Обеми и капацитети на белите дробове. Газова обмяна. Регулация на дишането. Адаптационни промени под влияние на външни фактори.
18. Популации – същност, особености, свойства и динамика.
19. Фактори, променящи генотипната структура на популациите – генен дрейф, мутационен натиск, поток от гени и естествен отбор.
20. Биоценози. Положителни и отрицателни взаимоотношения в биоценозите.
21. Екосистема – същност, трофична структура и поток на енергията, екологични пирамиди.

22. Заплахи за биологичното разнообразие в България.
23. Закон за биологичното разнообразие в България.
24. Категории защитени територии в България.
25. Мониторинг – основни понятия и класификация. Организация на екологичния мониторинг в България. Национална система за мониторинг на биологичното разнообразие.
26. Мониторинг на води. Физикохимични методи. Биологичен мониторинг. Биотични индекси. Рамкова Директива за Води 2000/60/ЕС. Биологични елементи за качество.
27. Замяряване на водите с твърди отпадъци, детергенти и нефтопродукти.
28. Качествени параметри на отпадъчните води. Биологично пречистване в естествени условия. ИВЗ-процеси.
29. Управление на качеството на водите в България.
30. Биотехнологични методи за пречистване на отпадни води. Интензивни методи за аеробно и анаеробно пречистване на отпадни води – състав на активната утайка. Фактори влияещи върху хода на процеса, технологични особености.
31. Биотехнологични методи за пречистване на твърди отпадъци. Теоретични основи и технологични особености на процеса компостиране.
32. Замяряване на въздуха: регионални и глобални проблеми. Градско замяряване. Особенности на оценката на замяряване на атмосферния въздух.
33. Процеси на акумулация, биоаккумуляция и биоманефикация. Синергизъм и антагонизъм в действието на токсичните вещества.
34. Класификация на почвите в България. Разпространение на типовете почви на територията на страната.
35. Есетровите риби в България – биологична характеристика, консервационен статус и стопанско значение
36. Основни етапи при разработване на система за управление на околната среда. Обща характеристика.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белкинова, Д., Гечева, Г., Чешмеджиев, С., Димитрова-Дюлгерова, И., Младенов, Р., Маринов, М., Тенева, И., Стоянов, П., Иванов, П., Михов, С., Пехливанов, Л., Варадинова, Е., Карагъзова, Ц., Василев, М., Апостолу, А., Велков, Б., Павлова, М. 2013. Биологичен анализ и екологична оценка на типовете повърхностни води в България. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
2. Бечев, Д. 2010. Морфология и систематика на насекомите. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
3. Богоев, В., А. Кенарова. 2009. Основи на екологията. Изд. Пенсофт, София.
4. Влахов, С. 2006, Микробиология. Акад. изд. „Проф. М. Дринов“, София.
5. Воденичаров, Д. 2000. Систематика на растенията. Част I. Прокариотни водорасли и талусни растения. Пенсофт, София. 6. Георгиев, Д., А. Велчева, Г. Гечева, С. Петрова, И. Моллов. 2011. Замърсяване на водите и въздействие върху екосистемите. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
6. Груев, Бл., Б. Кузманов. 1999. Обща биогеография. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
7. Джамбазов Б., Бацалова Т. 2010. Практически занятия по клетъчна биология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
8. Димитрова, И., Коев, К., Нинова, Д. 2003. Ръководство по Анатомия и морфология на растенията. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
9. Донеv, А., А. Стоянова, П. Бояджиев. 2009. Ръководство за лабораторни упражнения по зоология на безгръбначните. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
10. Драганов, М., Попов, Н. 2010. Клетъчна биология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
11. Дякова, Д. 2002. Пречистване на флуиди. НБУ, София.
12. Зайков, А. 2008. Аквакултура: принципи и технологии. Кабри, София.
13. Закон за биологичното разнообразие. Обн. ДВ, бр. 77 от 09.08.2002 год.
14. Закон за защитените територии. Обн. ДВ, бр. 133 от 11.11.1998 год.
15. Закон за опазване на околната среда и водите (Обн. ДВ, бр. 91 от 25.09.2002 год.).
16. Закон за опазване на околната среда. Обн. ДВ, бр. 91 от 25.09.2002 год.
17. Закон за чистотата на атмосферния въздух (Обн. ДВ, бр. 45 от 28.05.1996 год.).
18. Иванова, Е. 2003. Генетика във въпроси и отговори. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
19. Иванова, Е., Стайкова, Т., Андреев, Е. 2011. Генетика с биологични основи на поведението и психогенетика. Пловдив. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
20. Илиева, Л. 1999. Управление на околната среда. „Тилия“, София.
21. Кирчева, М., 2002, Екологични биотехнологии, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
22. Косекова, Г., Митев, В., Алексеев, А., Николов, Т. 2010. Лекции по биохимия, 2-ро преработено издание, Централна медицинска библиотека, София.
23. Костадинова, П., И. Велчева, К. Кузмова. 2004. Основи на екологията. Изд. на АУ Пловдив, Пловдив.
24. Любенова, М. 2004. Фитоекология. Акад. изд. „М. Дринов“, София.
25. Минков, И. 1992. Молекулярна биология. УИ „Св. Кл. Охридски“, София.
26. Митев, Д. 2010. Зоология на гръбначните животни. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
27. Младенов, Р., Тенева, И. 2011. Фикология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
28. Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова-Дюлгерова, И., Белкинова, Д., Тенева, И., Радуква, Т., Стоянов, П. 2017. Фармацевтична ботаника. Част 2, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
29. Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова-Дюлгерова, И., Белкинова, Д., Тенева, И., Радуква, Т., Стоянов, П. 2018. Фармацевтична ботаника. Част 1, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
30. Моисеенко, Т. 2009. Водная экотоксикология. Наука, Москва.
31. Национален план за опазване на биологичното разнообразие“. 2000. МОСВ, София.
32. Национална програма за биомониторинг на България. 1999. (Ред. Д. Пеев, С. Герасимов), Гей Либрис, София.
33. Николова, Н. 2008, Замърсяване и мониторинг на атмосферния въздух. PenSoft, София.
34. Николова, М. 2011, Анатомия на човека – Пловдив, „Макрос“ ООД.
35. Павлов, Д., Димитров, М. 2010. Ботаника. Изд. къща при ЛТУ, София.

36. Пирьова, Б., Начев, Н. 2006. Физиология на човека. Изд. Арсов, София.
37. Подсистема: Контрол на качеството на въздуха. Достъпен на:
<http://eea.government.bg/bg/cds/riew-pd/air-01.html> (21.03.2012 г.).
38. Попов, Н., Томова, Е., Джамбазов, Б. 2008. Цитология, хистология и ембриология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
39. Попов, П., Ирикова, Т., 2003. Обща генетика. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
40. Попова, М., Чешмеджиев, И., Терзийски, Д. 2012. Систематика на растенията. Акад. изд. на Аграрния университет, Пловдив.
41. Русев, Б. 1993. Основи на сапробиологията. Софийски университет, София.
42. Тачев, Ат. 2010. Физиология на човека и животните, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
43. Тенева, И. 2025. Фикология. Второ преработено и допълнено издание. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
44. Терзийски, Д., Попова, М., Чешмеджиев, И. 2012. Анатомия и морфология на растенията. Акад. изд. на АУ – Пловдив, Пловдив.
45. Узунов, Й., Ковачев, С. 2002. Хидробиология. Pensoft, София-Москва.
46. Чучков Х., Йотовски П. 2011. Цитология, обща хистология, обща ембриология. УИ „Св. Климент Охридски“, София.
47. Яхубян, Г. Основи на молекулярната биология. 2025, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
48. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A. 2009. Essential Cell Biology, 3rd Edition. Garland Science.
49. Gurevitch, J., Scheiner, S. M., Fox, G. A. 2006. The Ecology of Plants. Second Edition – Sinauer Associates, Inc., USA.
50. Leninger, A., Nelson, DL., Cox, MM., 2008, Leninger Principles of Biochemistry, 5th ed., Plagrave Macmillan, USA.
51. Lodish, H., A. Berk, Ch. Kaiser, M. Krieger, M. Scott, A. Bretscher, H. Ploegh, P. Matsudaira, 2007, Molecular Cell Biology, Sixth edition, W. H. Freeman Publ., 973 p. ISBN-10: 0716776014
52. Tropp, B. 2008. Molecular Biology: Genes to Proteins, Third Edition, Jones and Bartlett Publ. Inc, Sundbury, MA, USA.

Растенията, животните и висшите протисти са **еукариоти**. Бактериите и цианобактериите са **прокариоти**. Основните характеристики на прокариотната клетка са следните: (1) Липсва морфологически обособено ядро, генетичният материал е локализиран в нуклеоид, който не е ограничен от ядрена мембрана; (2) Слаба компартментализация; липсват мембранни органели като митохондрии, хлоропласти, апарат на Голджи, ендоплазматичен ретикулум; (3) Клетъчната мембрана не съдържа стероли, като холестерол; (4) Рибозомите са 70S, с 30S и 50S субединици; (5) Прокариотната клетка е хаплоидна; дели се чрез проста фузия.

Прокариотите се разделят на две големи таксономични групи – Еубактерии и Архебактерии. **Еубактериите** (същински бактерии) съдържат пептидогликан (муреин) в клетъчната си стена. Основен компонент на муреина е мурамовата киселина. Клетъчните стени на някои **архебактерии** съдържат псевдомуреин, в който липсва мурамова киселина. В прокариотната клетка са установени редица структури: клетъчна стена, цитоплазмена мембрана, цитоплазма, рибозоми, нуклеоид, капсула и слизести слоеве, фимбрии, пили, флагелуми, ендоспори.

Клетъчна стена

Всички прокариотни клетки с изключение на родове *Mycoplasma* и *Thermoplasma* (архебактерии без клетъчна стена) притежават стена. Клетъчната стена е един от най-съществените компоненти на прокариотната клетка по няколко причини: (1) стената е здрава, придава форма на клетката и я предпазва от осмотичен лизис; (2) клетъчната стена участва в патогенезата при редица патогенни бактерии; (3) стената защитава клетката от токсични субстанции; (4) стената е място за действие на някои антибиотици.

През 1884 г. Кристиан Грам разработва оцветителен метод, по който бактериите се разделят на две групи. Грам-положителните бактерии (Грам⁺) се оцветяват в синьо-виолетово, а Грам-отрицателните (Грам⁻) в розово-червено. Оцветяването по Грам корелира със съществени структурни особености на бактериите и е важен таксономичен признак. Грам⁺ и Грам⁻ бактерии се различават помежду си, преди всичко по устройството на клетъчните стени.

Основен компонент на клетъчната стена е хетерополимерът **пептидогликан** (муреин). Пептидогликанът се състои от полизахариден скелет и странична верига съдържаща D- и L-аминокиселини. Скелетът на веригите е съставен от редуващи се остатъци на N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамова киселина, свързани с β -1,4-гликозидни връзки. N-ацетилмурамова киселина представлява N-ацетилглюкозаминлактат. С карбоксилната група на лактилния остатък на N-ацетилмурамовата киселина е свързана къса пептидна верига, включваща аминокиселините L-аланин, D-глутаминова киселина, *meso*-диаминопимелинова киселина (*meso*-DAP) и D-аланин. При повечето Грам⁺ бактерии, *meso*-DAP е заместена от L-лизин. Три от аминокиселините (D-глутаминова киселина, *meso*-DAP и D-аланин) не се срещат в природните белтъци.

Страничните вериги на пептидогликана са свързани чрез пептидни връзки, които варират. Диаминокиселините (*meso*-DAP и L-лизин) изпълняват важна роля в междумолекулното свързване, тъй като образуват пептидни връзки и с двете си аминогрупи. При Грам⁻ бактерии карбоксилната група на терминалния D-аланин е свързана директно с аминогрупата на *meso*-DAP. Грам⁺ бактерии осъществяват напречното свързване чрез пептиден мост, съставен от 1 до 5 аминокиселинни остатъка (най-често пентаглицинов мост). В резултат на напречното свързване, пептидогликанът добива структурата на мрежа, която здрава и поддържа формата на клетката. Мурамовата киселина, D-аминокиселините и *meso*-DAP не се синтезират от бозайниците.

Клетъчна стена при Грам-положителни бактерии. Грам⁺ бактерии са обвити от плътна, хомогенна клетъчна стена съставена предимно от многослоен пептидогликан с дебелина 20 – 80 nm. Стената съдържа също голямо количество **тейхоеви киселини** – полимери на глицерол или рибитол, свързани с фосфатни групи. Към глицероловите или рибитоловите групи се присъединяват аминокиселини (най-често аланин) или захари (глюкоза). Тейхоевите киселини се свързват с пептидогликана или с липидите на цитоплазмената мембрана; този случай се наричат липотейхоеви киселини. Тейхоевите киселини са отрицателно заредени и концентрират метални йони около

молекулите си; достигат до повърхността на пептидогликана и придават на клетъчната стена отрицателен заряд. Тези молекули са от значение и за поддържане структурата на клетъчната стена.

Клетъчна стена при Грам-отрицателни бактерии. Грам-отрицателната клетъчна стена има комплексна структура. Тя включва тънък (1 – 3 nm) пептидогликан, съставен от 1 или 2 слоя, обкръжен от **външна мембрана**. Пространството между цитоплазмената и външната мембрана се нарича периплазмено пространство (периплазма). Пептидогликанът при Грам⁻ бактерии се намира в периплазменото пространство. Размерите на периплазмата варират при различните Грам⁻ бактерии, най-често от 30 до 70 nm. Периплазмата съдържа редица протеини – предимно хидролитични ензими (**екзоензими**) и транспортни белтъци. Само при някои Грам⁺ бактерии се установява подобна тясна цепнатина между цитоплазмената мембрана и пептидогликана, поради което за периплазма се говори предимно при Грам⁻ бактерии.

Външната мембрана на стената е съставена от белтъци, липиди и липополизахариди. Липополизахаридите са най-съществените компоненти на външната мембрана и са съставени от три части: липид А, сърцевинен полизахарид и О-странична верига. Липополизахаридът (LPS) е проучен детайлно при род *Salmonella*. Липид А се състои от два фосфорилирани остатъка на глюкозамин, естерифизирани с дълговерижни мастни киселини. Сърцевинният полизахарид е прикрепен към липид А. При *Salmonella* е изграден от 10 захарни остатъци, повечето със специфична структура. Сърцевинният полизахарид съдържа заредени захари и фосфатни групи и допринася за отрицателния заряд на бактериалната повърхност. О-страничната верига или **О антигенът** е къса, повтаряща се последователност от захарни остатъци, някои от които са специфични.

Липополизахаридът предпазва патогенните Грам⁻ бактерии от имунната защита на гостоприемника. О-страничната верига се нарича **О антиген**, защото предизвиква имунен отговор. Много Грам⁻ бактерии са в състояние бързо да променят състава на странични вериги, като по този начин преодоляват защитните механизми на гостоприемника. Липид А често е токсичен; в резултат на това LPS може действа като **ендотоксин**. Външната мембрана има по-голяма пропускливост от цитоплазмената, поради наличието на поринови канали, съставени от три молекули, наречени порини. През каналите преминават молекули с размери 600 – 700 Da.

Цитоплазмена мембрана

Цитоплазмената мембрана е най-динамичната структура в прокариотната клетка. Тя е определяща за контакта на клетката с обкръжаващата я среда. Мембраната е **селективна полупропусклива бариера**, която регулира както постъпването на вещества в клетката, така и извеждането им от клетката в средата. Бактериалната мембрана позволява свободно движение на вода и незаредени молекули с маса около 100 Da. По-големи молекули и заредени субстанции се придвижват само с участие на специални мембранни транспортни процеси и **транспортни системи**. Прокариотите са лишени от вътреклетъчни органели, поради което в мембраната са локализирани редица важни метаболитни процеси: **аеробно дишане, фотосинтеза и синтез на АТР**. Освен транспортни протеини, медиращи постъпването на вещества в клетката прокариотната мембрана съдържа **рецепторни молекули – сензорни протеини**, които определят концентрацията на молекулите в средата и изпращат сигнали в цитоплазмата. Чрез тях, клетката може да установи и отговори на химични сигнали от обкръжаващата я среда. Мембраната съдържа **ензими**, участващи в синтеза клетъчната стена, формирането на септа в делящи се клетки, мембрания синтез, репликацията на ДНК, фиксацията на CO₂ и окислението на амоняк.

Бактериалните мембрани са съставени от около 40% фосфолипиди и 60% белтъци. Фосфолипидите са амфипатични молекули с полярни, хидрофилни глицеролови „глави“, свързани чрез естерни връзки с две неполярни, хидрофобни мастнокиселинни „опашки“. Тези свойства на липидите им позволяват да формират бислой в мембраната, в който са диспергирани различни структурни и ензимни протеини, които изпълняват повечето мембранни функции. Бактериалните мембрани се различават от клетъчните мембрани на еукариотите по това, че съдържат **наситени** или **мононенаситени** мастни киселини и нормално **не съдържат стероли**, като холестерол. Редица бактериални мембрани, обаче съдържат пентациклични стерол-подобни молекули наречени **хопаноиди**, които стабилизират мембраната.

Мембраните при архебактериите са различни, което е свързано с адаптирането им към екстремални местообитания. Мембраните формират бислой, но липидите са наситени, разклонени, повтарящи се изопреноидни субединици, свързани с глицерола чрез етерни връзки.

Независимо, че прокариотите нямат мембранни органели, като митохондрии и хлоропласти, някои бактерии притежават **вътреклетъчни мембранни структури**. Често цитоплазме-

ната мембрана образува **вгъвания**, които заемат голяма част от вътреклетъчното пространство при фототрофните и нитрифициращите бактерии. При нитрифициращите бактерии (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*) вътрешните мембранни структури осигуряват по-голяма повърхност във връзка с интензивното дишане. Мембранните системи при фототрофните бактерии съдържат пигменти, поглъщащи светлина (бактериохлорофил и каротеноиди), а също компоненти на фотосинтетичната електрон-транспортна верига и фосфорилиращата система.

Друга мембранна структура при бактериите е **мезозомата**. Мезозомите са инвагинации на цитоплазмената мембрана под формата на везикули, тубули или ламели. Въпреки, че мезозомите се свързват с различни функции (напр. координация на репликацията на ДНК, формиране на септа при деленето на клетката) много бактериолози смятат, че те са артефакти, получени по време на химическата фиксация на бактериите за електронна микроскопия.

Цитоплазма и включения

Цитоплазмата е съдържанието на клетката, ограничено от цитоплазмената мембрана. Цитоплазмената фракция, която има хомогена консистенция и съдържа растворими РНК, ензими, продукти и субстрати на метаболитни реакции се нарича **цитозол**. Друга част от цитоплазмата е представена от структурни елементи: рибозоми, нуклеоид и включения. Включенията в цитоплазмата са органични и неорганични, и най-често са резервни вещества. Някои от включенията нямат собствена мембрана и лежат в цитоплазмения матрикс, напр. гликоген, цианофицин. Други включения имат обвивка, която е еднослойна и може да се състои само от протеини или да бъде мембранна структура, съставена от протеини и фосфолипиди. Включения с мембрана са поли- β -хидроксibuтират, карбоксизоми, газови вакуоли.

Органичните включения обикновено са резервен източник на въглерод и енергия. **Гликогенът** е разклонен полимер на глюкозата. Глюкозните остатъци са свързани в дълги вериги с α -1,4-връзки; в местата на разклоненията, връзките са α -1,6. Гликогенът е диспергиран равномерно цитоплазмения матрикс под формата на малки гранули и може да се наблюдава само с електронен микроскоп. Гликогенът, наричан още животинска скорбяла, се синтезира от *Escherichia coli*, *Salmonella* и други ентеробактерии, някои видове *Bacillus*, дрожди.

Поли- β -хидроксibuтиратът е полиестер, разтворим в хлороформ, съставен от приблизително 60 остатъка на β -хидроксимаслена киселина, свързани с естерни връзки. Полихидроксibuтиратът се натрупва във включения, които могат да достигнат до 80% от сухата маса на клетката. Наричат се суданофилни, т.к. се оцветяват с багрилото суданово черно и могат да се наблюдават със светлинен микроскоп. Поли- β -хидроксимаслена киселина синтезират видове на род *Pseudomonas*, *Bacillus megaterium*, анаеробни фототрофни бактерии.

Гликогенът и поли- β -хидроксibuтиратът са двете основни съединения, които бактериите използват като резервни източници на въглерод и енергия. Обикновено, бактериите синтезират само гликоген или поли- β -хидроксibuтират, но някои пурпурни серни бактерии образуват и двете.

Скорбяла като резервен източник на въглерод и енергия, образуват бактериите от род *Neisseria* и *Acetobacter pasteurianum*. **Гранулеза** (скорбялоподобно вещество) се съдържа в голямо количество в клетките на видове от род *Clostridium*. **Масни вещества** под формата на липидни капки образуват и използват като резервен източник на въглерод и енергия, много бактерии, дрожди и други гъби. Микобактериите могат да съдържат до 40% восъци.

Цианофицинови гранули образуват цианобактерите. Състоят се от полипептид, изграден от аминокиселините аргинин и аспартат в еквимоларни количества. Цианофициновите гранули служат като резервен азотен източник, който цианобактериите използват при недостиг в средата.

Газови вакуоли (аерозоми) са установени при бактерии, обитаващи водна среда (цианобактерии, фототрофни бактерии, *Thiothrix*, *Halobacterium*). Представяват агрегати от газови везикули. Стената на везикулите се състои от протеинови субединици, свързани така, че образуват твърд затворен цилиндър, който е кух и непроницаем за вода, но свободно пропуска атмосферните газове. Чрез газовите вакуоли бактериите „плуват“ близо или на повърхността на водоема и могат да променят разположението си в зависимост от наличието на субстрати, кислород, светлина.

Карбоксизоми съдържат клетките на някои автотрофни бактерии (нитрифициращи, фототрофни бактерии, цианобактерии). Имат форма на многостенник с диаметър 90 – 100 nm, обвит с еднослойна белтъчна обвивка. Карбоксизомите съдържат ензима рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза, който е ключов за фиксацията на CO_2 в цикъла на Калвин.

Неорганичните включения са два основни типа: полифосфатни и серни гранули. Много бактерии съхраняват фосфати като **полифосфатни** или **волутинови** гранули. Полифосфатните естери служат като фосфатно депо и източник на енергия. Полифосфатните гранули се наричат още „**метахроматинови**“ т.к. проявяват свойството метахромазия – оцветяване в цвят, различен от този обогатяващия разтвор. Полифосфати образуват някои млечнокисели бактерии (*Lactobacillus bulgaricus*), *Corynebacterium diphtheriae*, дрожди и др.

Серни гранули образуват редица фототрофни бактерии (пурпурни и зелени серни бактерии), които използват H_2S като електронен донор в процеса фотосинтеза. Сярата, получена при окислението на H_2S се натрупва в периплазмата или в специални цитоплазмени гранули. При отсъствие на H_2S , натрупаната в клетката сярa се окислява до сулфат.

Нуклеоид. Генетичният материал на прокариотите е представен от молекула (молекули) ДНК, разположена в компактна структура, локализирана в ограничен участък на цитоплазмата, без собствена ядрена мембрана (за разлика от еукариотите). ДНК молекулата включва няколко хиляди гена, разположени линейно и се нарича **хромозома**. В химично отношение хромозомата се състои от около 60% ДНК, 30% РНК и 10% белтъци. Обикновено прокариотите съдържат една двуверижна пръстеновидна ДНК, но някои бактерии съдържат линейна ДНК хромозома, а други, като *Vibrio cholerae* и *Borrelia burgdorferi* (съответно причинителите на холера и лаймска болест), имат повече от една хромозома. Нуклеоидът е компактно образование. Стабилизираща роля в организацията му изпълняват специфични белтъци, които участват в „упаковането“ на ДНК.

Рибозомите са структурите, в които се извършва белтъчният синтез. Прокариотните рибозоми имат коефициент на седиментация 70S. Те са съставени от две субединици – 30S и 50S. По размери и някои други особености бактериалните рибозоми са сходни с рибозомите на митохондриите и хлоропластите. Малката субединица (30S) съдържа 16S рРНК и в повечето случаи по една молекула от 21 вида белтъци. Голямата субединица (50S) се състои от два типа рРНК (23S и 5S) и около 35 молекули различни белтъци, представени в едно копие. Бактериалната клетка съдържа от 5000 до 50 000 рибозоми.

Капсула и слизест слой

Върху клетъчната стена на много бактерии се отлагат слоеве с високо водно съдържание. **Капсулата** е добре организиран слой, който е тясно свързан с клетката и не се отмива лесно. **Слизестият слой** е дифузна зона от неорганизиран материал, който лесно се отделя.

Капсулата и слизестите слоеве обикновено се състоят от **полизахариди** и/или **пептиди**. **Капсулните полизахариди** освен глюкоза съдържат аминокиселини, рамноза, уронови киселини, 2-кето-3-дезоксигалактонова киселина и органични киселини, като пирогроздена и оцетна. Полизахаридни капсули са установени при *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*. При *Bacillus anthracis* капсулата е белтъчна и се състои от поли-D-глутаминова киселина.

Редица компоненти на капсулата се отделят в средата под формата на **слуз**. Обилно образуване на слуз се наблюдава при култивиране на среди, съдържащи захароза. Хетероферментативната млечнокисела бактерия *Leuconostoc mesenteroides* бързо превръща разтвор, съдържащ тръстиков захар в декстран (слуз). Това превръщане протича извън клетката и се катализира от извънклетъчна хексозилтрансфераза–декстранзахараза. Декстранът се състои от остатъци на α -D-глюкоза, свързани с 1,6 връзки, т.е. 1,6- α -глюкан.

Капсулата не е необходима за бактериалния растеж и репродукция, но дава известно преимущество. (1) Придава на някои патогенни микроорганизми резистентност към фагоцитоза. Например, *Bacillus anthracis* „избягва“ поглъщане от фагоцитите, т. к. лизозомните ензими на фагоцитите не могат да инициират хидролиза на поли-D-глутаминовата капсула. (2) Капсулата е с високо водно съдържание и предпазва клетката от изсушаване. (3) Капсулата изключва бактериофаги и повечето хидрофобни токсични материали, като детергенти. (4) Капсулата и слизестите слоеве често медиат прикрепяне на клетките към твърди повърхности във водна среда или повърхността на тъканите на гостоприемника. (5) Капсулни материали (например декстран) се синтезират при усвояване на захари и представляват резерви на въглехидрати за метаболизма.

Фимбрии, пили, флагелуми

Фимбриите и **пилите** са фини, къси израстъци на повърхността на прокариотната клетка, които нямат отношение към подвижността и са по-тънки от флагелумите. Клетката може да бъде покрита с до 1000 **фимбрии**, видими само с електронен микроскоп. Фимбриите са характерни

предимно за Грам-отрицателни бактерии; най-често участват в прикрепянето на бактериите към повърхности, субстрати или други клетки. **Пилите** (F или sex пили) са подобни израстъци; от 1 до 10 на клетка. Пилите са детерминирани от половия фактор (F плазмида) или други конюгативни плаزمиди и са необходими за бактериалната конюгация. Някои бактериални вируси се прикрепят специфично към рецептори върху пили и стартират репродуктивния си цикъл

Повечето бактерии се придвижват с **флагелуми**. Броят и разположението на флагелумите имат таксономично значение. Разграничават се 4 типа клетки: монотрихи, лофотрихи, амфитрихи, перитрихи.

Бактериалният флагелум е съставен от три части – филament (нишка), базално тяло и кука, свързваща нишката с базалното тяло. **Нишката** е кух, ригиден цилиндър, изграден от субединици на белтъка флагелин. **Куката** е съставена от различни протеинови субединици. **Базалното тяло** е най-сложната част от флагелума. При *E. coli* и повечето Грам⁻ бактерии, е съставено от четири пръстена, свързани с централна ос. Най-външните L- и P пръстени се свързват съответно с липополизахаридния и пептидогликановия слой. Вътрешният M пръстен контактува с плазмената мембрана, а S пръстенът е разположен над него. Грам⁺ бактерии имат само два пръстена – вътрешен, свързан с цитоплазмената мембрана и външен, свързан с пептидогликана. Флагелумите се движат в резултат на взаимодействието между S- и M пръстените. Оста на базалното тяло се разполага между куката и края на M пръстена, който свободно се върти в цитоплазмената мембрана, а S пръстенът е прикрепен и е неподвижен. Потокът от протони между двата пръстена или между базалното тяло и обкръжаващите го мембранни белтъци генерира протондвижеща сила, която задвижва флагелумите. P- и L пръстените при Грам⁻ действат като опора на въртящата се ос.

Бактериални ендоспори

Редица Грам⁺ бактерии могат да формират специални резистентни, инертни структури, наречени **ендоспори**. Ендоспорите се развиват във вегетативните клетки на бактерии от родове *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*. Спорите са високо-резистентни към стресови фактори на средата, като топлина, ултравиолетови лъчи, химични дезинфектанти и изсушаване и са начин за преживяване на условия на средата с критична влажност и хранителни вещества. Ендоспорите често преживяват обработка при 100°C в продължение на 30 – 60 min.

Спорите могат да се разполагат централно, субтерминално или терминално в майчината клетка (спорангиум). Понякога спорите са с по-голям диаметър и причиняват издуване на спорангиума. Структурата на спората е комплексна. Спорите често са обкръжени от тънка обвивка, наречена **екзоспориум**. **Обвивката на спората** (екзина), която лежи под екзоспориума е съставена от няколко протеинови слоя; тя е непроницаема и отговорна за резистентността към химични вещества. **Кортексът**, който може да заеме повече от половината от обема на спората, се разполага под обвивката. Той се състои от пептидогликан, който е с по-малко напречни връзки отколкото във вегетативната клетка. **Стената на спората** (интина) е навътре от кортексът и обкръжава протопласта или сърцевината. Сърцевината на спората съдържа нормални клетъчни структури, като рибозоми и нуклеоид. Повече от 15% от сухото вещество на спората представлява дипиколинова киселина, свързана с калциеви йони. Калциевият дипиколинат стабилизира споровите нуклеинови киселини. Дехидратацията на протопласта също е от значение за терморезистентността. В процеса на спорообразуване водата се отстранява осмотично от протопласта, което го защитава от температурно и радиационно повреждане.

Спорогенезата (спорулацията) нормално започва при спиране на растежа, вследствие изчерпване на хранителните вещества. Тя е комплексен процес и може да бъде разделен на 7 етапа. (I) – формира се аксиален филament от ядрен материал; (II) – цитоплазмената мембрана се вгъва навътре, затваря част от ДНК и формира септа; (III) – мембраната продължава да расте и поглъща незрялата спора, като по този начин я обвива във втора мембрана; (IV) – образува се кортексът между двете мембрани; натрупват се калциеви йони и дипиколинова киселина; (V) – около кортексът се формира протеиновата обвивка; (VI) – формира се зрялата спора: завършва синтеза на споровата обвивка; увеличава се терморезистентността и пречупването; (VII) – литични ензими разрушават спорангиума и спорите се освобождават. Процесът на спорулация при *Bacillus megaterium* продължава около 10 часа.

Трансформацията на спящите спори във вегетативни клетки също е комплексен процес и протича в 3 етапа: (1) активация, (2) герминация (покълване), (3) прорастване.

Еукариотната клетка представлява високоорганизирана биологична система, чиято структурна организация отразява сложността на функциите, които тя изпълнява. За разлика от прокариотните клетки, еукариотите се характеризират с ясно изразена вътрешна компартментализация, при която различни биохимични процеси са пространствено разделени в специализирани мембранно-ограничени органели. Еукариотната клетка съдържа добре развита ендомембранна система, която включва ендоплазмения ретикулум, апарата на Голджи, лизозомите и различните видове везикули.

Ендоплазменият ретикулум (ЕР) представлява най-обширната и комплексна мембранна система в еукариотната клетка. Изграден е от система от плоски цистерни, каналчета (тубули) и вакуоли (везикули), които се простират из цялата цитоплазма. Тази мембранна система е пряко свързана с външната мембрана на ядрената обвивка. Вътрешното пространство на ретикулума, известно като лумен, представлява отделен компартмент, чиито химичен състав и условия се различават съществено от тези на цитозола.

Разграничават се два основни типа ендоплазмен ретикулум – грануларен (грапав, груб, зърнест, ергастоплазма, алфа-цитомембрани) и агрануларен (гладък, бета-цитомембрани) ендоплазмен ретикулум. Гранулираният ендоплазмен ретикулум се характеризира с наличието на рибозоми, прикрепени към цитозолната страна на мембраната, което му придава характерния „зърнест“ вид при електронно-микроскопско наблюдение. Прикрепването на рибозомите е функционално и временно, като то се осъществява само по време на синтеза на протеини, предназначени за секреция, за вграждане в мембраните или за насочване към определени органели като лизозомите. Мембраните на грануларния ендоплазмен ретикулум обикновено образуват паралелно подредени цистерни, което осигурява голяма повърхност за синтез на протеини и първоначално нагъване на полипептидните вериги в лумена. Мембраната на тези цистерни е с дебелина 5 – 6 nm, с високо глицерофосфатидно (90 – 95%) и в частност лецитинно (55%) съдържание.

Луменът на зърнестия ендоплазмен ретикулум представлява специфична вътрешна среда, в която новосинтезираните полипептидни вериги навлизат още по време на синтеза им. Вътре в лумена те претърпяват първоначално нагъване, образуване на дисулфидни връзки и начални етапи на посттранслационни модификации. В лумена на органела се намират във висока концентрация молекулни чаперони и ензими, които са пряко свързани с тези функции и осигуряват контрол на качеството на синтезираните протеини.

Гладкият ендоплазмен ретикулум се различава структурно от грануларния по липсата на прикрепени рибозоми и преобладаващите тубулни мембранни структури. Тези тубули образуват сложна, триизмерна мрежа, която може да заема значителна част от цитоплазмата, особено в клетки със силно развит липиден метаболизъм. Протеини като ретикулоните са отговорни за поддържането на тубуларната форма на гладкия ЕР, докато други протеинови комплекси осигуряват плоската геометрия на цистерните в гранулирания сектор. Протеинови комплекси като Sec61 транслоконният комплекс, рибозомни рецептори (p180, RRBp1) и TRAP-комплексът, формират плътни мембранни зони, които фиксират рибозомите, ограничават мембранната деформация и насърчават ламеларната организация.

Ендоплазменият ретикулум не е статична структура, а динамичен органел, който непрекъснато променя своята организация в зависимост от физиологичното състояние и функционалните нужди на клетката. Например, тубулите могат да се трансформират в цистерни и обратно. Съотношението между грапавия и гладкия ендоплазмен ретикулум варира значително в различните типове клетки. Клетките, които синтезират и секретират големи количества протеини (например клетките на панкреаса или слюнчените жлези), притежават силно развит грапав ендоплазмен ретикулум. Ендоплазменият ретикулум изпълнява основна роля в синтеза, модификацията, транспорта и регулацията на широк спектър от биомолекули. Неговите функции са тясно свързани с разделянето му на функционални домейни, които осигуряват специфични условия за осъществяването на различни клетъчни процеси.

Една от основните функции на ендоплазмения ретикулум е участието му в синтеза на протеини. Протеините, предназначени за секреция, както и тези, които ще бъдат интегрирани в мем-

браните или лумена на ендоплазмения ретикулум, апарата на Голджи, лизозомите или плазмемната мембрана, първоначално се насочват към ЕР. Към тази група спадат и протеините на ядрената обвивка и мембранните протеини на пероксизомите. Насочването на рибозомата към ЕР става чрез сигнална секвенция, разположена в N-края на нарастващата полипептидна верига. Тези сигнални последователности обикновено са с дължина между 15 и 40 аминокиселини и съдържат хидрофобен участък от около 7 – 12 аминокиселинни остатъка. Сигналната секвенция се отстранява протеолитично по време на въвеждането на протеина в лумена на ЕР. Интегралните мембранни протеини се задържат в липидния бислой чрез хидрофобни последователности. Тези мембранно-пресичащи участъци обикновено са α -спирали, съставени от около 20 – 25 хидрофобни аминокиселини.

При бозайниците, по-голямата част от протеини се внасят в ендоплазмения ретикулум ко-транслационно. За разлика от тях, протеините, които остават в цитозола или се насочват към митохондриите, хлоропластите, вътрешността на ядрото или матрикса на пероксизомите, се синтезират върху свободни рибозоми и се освобождават в цитозола след завършване на транслацията. След навлизането си в лумена на ендоплазмения ретикулум, протеините претърпяват пост-транслационни модификации, които са от съществено значение за тяхното правилно функциониране. Сред тези процеси са отстраняването на сигналната секвенция, образуването на дисулфидни връзки, началната гликозилизация и правилното пространствено нагъване на полипептидните вериги. Ендоплазменият ретикулум разполага със система за контрол на качеството, която разпознава неправилно нагънатите или дефектни протеини и ги насочва към деградация. Неправилно нагънатите протеини се прехвърлят към трансмембранен комплекс с убиквитин-лигазна активност, пренасят се обратно в цитозола, където се полиубиквитинират и впоследствие се разграждат в протеазомата.

Ендоплазменият ретикулум играе основна роля и в синтеза на липиди. Поради силно хидрофобния си характер, мембранните липиди не могат да се синтезират свободно във водната среда на цитозола, а се образуват в тясна асоциация с вече съществуващи клетъчни мембрани. Мембраните на гладкия ендоплазмен ретикулум са основното място за биосинтез на фосфолипиди, холестерол и други липидни компоненти, които са необходими за изграждането на плазмалемата и мембраните на вътреклетъчните органели. Синтезираните липиди се вграждат директно в мембраната на ретикулума и впоследствие се транспортират към други мембранни системи чрез транспортни мехурчета или чрез директен трансфер в контактни зони между органелите.

Важна функция на гладкия ендоплазмен ретикулум е участието му в детоксикацията на вредни вещества. Ензимите, разположени в неговите мембрани, катализират детоксикацията на мастноразтворими лекарства и токсични метаболити, превръщайки ги във водоразтворими съединения, които могат лесно да бъдат изведени от организма. По този начин ендоплазменият ретикулум играе защитна роля и допринася за поддържането на вътрешната среда на клетката. Агрануларният ендоплазмен ретикулум има съществено значение и за регулацията на вътреклетъчната хомеостаза на калциевите йони. Той служи като основно място за съхранение на калциеви йони и участва в бързото им освобождаване и обратно натрупване в отговор на клетъчни сигнали. В лумена на гладкия ЕР се поддържа концентрация на калций, която е хиляди пъти по-висока от тази в цитозола. Това се постига чрез множество калциеви помпи разположени в мембраната.

Апаратът на Голджи е съставен от близко разположени една до друга плоски мембранни цистерни и асоциираните с тях везикули. Броят на цистерните обикновено варира между пет и десет, като техният размер, форма и брой зависят от типа клетка и от интензивността на секреторната ѝ активност. Цистерните са леко извити, с разширени краища, от които често се отделят транспортни везикули. Мембраните им са гладки и лишени от рибозоми, което улеснява разграничаването на апарата на Голджи от ендоплазмения ретикулум.

Отличителна характеристика на комплекса на Голджи е неговата ясно изразена полярност, както в структурно, така и във функционално отношение. Той е организиран в четири морфологично и функционално различни области: *cis*-край (полюс), медиална част, *trans*-край (полюс) и *trans*-Голджи мрежа.

От страната, обърната към ендоплазмения ретикулум, се намира т.нар. *cis*-полюс, който представлява входната зона на органела. *Cis*-областта е изградена от мрежа от мембрани и везикули, които приемат транспортните мехурчета, идващи от ендоплазмения ретикулум. Тази зона често се означава като *cis*-Голджи мрежа и изпълнява ролята на първоначален приемен и сортиращ център. Мембраните в тази област са тясно свързани с мембранната система на ендоплазме-

ния ретикулум и представляват преходна зона между двата органела. Медиалната част на апарата на Голджи е изградена от средните цистерни. Мембранный състав на средните цистерни се различава както от този на *cis*-, така и от този на *trans*-края, което отразява последователния характер на процесите, протичащи в апарата на Голджи. От противоположната страна се намира *trans*-полюсът на апарата на Голджи, който е ориентиран към плазмената мембрана и другите клетъчни органели. *Trans*-края преминава в *trans*-Голджи мрежа – сложна система от мембранны тубули и везикули, която осъществява крайното сортиране и експортиране на протеините. Тук мембраните са по-динамични в сравнение с тези на средните цистерни. Транс-Голджи мрежата е структурно приспособена за интензивно образуване на везикули, които транспортират молекули към различни клетъчни дестинации.

В непосредствена близост до апарата на Голджи обикновено се наблюдава голямо количество транспортни везикули с различен размер и електронна плътност. Тези везикули са неразделна част от структурата на органела и участват в обмена на мембранен и луменен материал както между отделните цистерни, така и между апарата на Голджи и други клетъчни компартменти.

Структурната организация на апарата на Голджи е тясно свързана с цитоскелета на клетката. Микротубулите играят съществена роля за позиционирането на органела, който при повечето животински клетки е разположен в близост до клетъчното ядро и центрозома. Това централно разположение улеснява ефективния транспорт на везикули между ендоплазмения ретикулум, апарата на Голджи и плазмената мембрана. В растителните клетки апаратът на Голджи има някои структурни особености. Вместо един голям комплекс, както често се наблюдава при животинските клетки, той е представен от множество отделни диктиозоми, разпръснати из цитоплазмата.

Една от основните функции на апарата на Голджи е модификацията на протеините (пост-транслационен процесинг), които идват от ендоплазмения ретикулум. Новосинтезираните протеини често съдържат въглехидратни вериги, добавени в ретикулума, които в апарата на Голджи претърпяват допълнителни промени. Тези промени включват отстраняване на определени захарни остатъци и добавяне на нови, което води до образуването на зрели гликопротеини. Процесът на гликозилиране е строго регулиран и специфичен за отделните цистерни на апарата на Голджи. Тук се осъществява крайната модификация на N-свързаните олигозахариди, които се добавят към протеините в ендоплазмения ретикулум. Процесингът на N-свързаните олигозахариди на лизозомните протеини се различава съществено от този на секретиранияте протеини или тези на плазмената мембрана. Вместо отстраняване на манозни остатъци, протеините, предназначени за лизозомите, претърпяват фосфорилиране на манозни остатъци. В апарата на Голджи се осъществява и O-свързано гликозилиране – добавяне на въглехидрати към страничните вериги на серинови и треонинови остатъци. За разлика от N-свързаното гликозилиране, тук захарните остатъци се добавят последователно един по един. При бозайниците апаратът на Голджи съдържа над 250 различни ензима, които катализират добавянето и модифицирането на захарни остатъци в гликопротеините.

Освен участието си в посттранслационния процесинг на протеини, апаратът на Голджи играе ключова роля и в липидния метаболизъм, по-специално в синтеза на гликолипиди и сфингомиелин. Глицерофосфолипидите, холестеролът и церамидът се синтезират в ендоплазмения ретикулум. Впоследствие в апарата на Голджи от церамид се образуват сфингомиелин и различни гликолипиди.

Сортирането на протеини и липиди е една от най-важните функции на апарата на Голджи. След като бъдат модифицирани, протеините и липидите трябва да бъдат насочени към тяхното крайно местоположение. Това се осъществява главно в *trans*-Голджи мрежата, където се разпознават въз основа на специфични сигнални последователности или химични модификации. Най-добре охарактеризираният механизъм за сортиране на протеини в апарата на Голджи е селективният транспорт на протеини към лизозомите. Лизозомните протеини се маркират чрез маноза-6-фосфат, които се образуват в резултат на модификация на техните N-свързани олигозахариди скоро след навлизането им в апарата на Голджи. Тези маноза-6-фосфатни остатъци се разпознават от специфични трансмембранны рецептори в *trans*-Голджи мрежата. Цитозолните домени на тези рецептори насочват комплекса към везикули, предназначени за късните ендозоми, които по-късно съзряват в лизозоми.

Апаратът на Голджи играе съществена роля в секрецията на клетъчни продукти. Той участва както в непрекъснатата секреция, при която молекулите непрекъснато се доставят до плазмената мембрана, така и в регулираната секреция, характерна за специализирани клетки като ендокринни и нервни. В тези клетки апаратът на Голджи участва в образуването на секреторни

гранули, в които хормони, ензими или невротрансмитери се концентрират и съхраняват до получаване на подходящ сигнал за освобождаване.

В растителните клетки, апаратът на Голджи изпълнява допълнителни функции, свързани със синтеза и транспорта на сложните полизахариди на клетъчната стена. Клетъчната стена на растенията е изградена от три основни типа полизахариди. Целулозата, която е преобладаващият компонент, представлява линеен полимер от глюкозни остатъци и се синтезира директно на клетъчната повърхност от ензими, локализирани в плазмената мембрана. Останалите полизахариди на клетъчната стена, като хемицелулози и пектини, са сложни, разклонени молекули, които се синтезират в апарата на Голджи и след това се транспортират във везикули до клетъчната повърхност. Синтезът на полизахаридите на клетъчната стена е толкова интензивен, че до 80% от метаболитната активност на апарата на Голджи в растителните клетки може да бъде насочена към производството на полизахариди. Апаратът на Голджи има значение и за поддържането на полярността на клетките, особено при епителните клетки. Чрез прецизното насочване на мембранни и секреторни компоненти към определени области на плазмената мембрана той допринася за функционалната асиметрия на клетките и за правилната организация на тъканите.

Лизозомите представляват специализирани едномембранни органели, които функционират като основен храносмилателен апарат на еукариотната клетка. Формата и размерът им варират значително в зависимост от вида на материалите, които подлежат на разграждане. Обикновено те се наблюдават като сферични или овални везикули с диаметър между 0.1 и 1.2 μm . Те съдържат приблизително 60 различни ензими (нуклеази, протеази, глюкозидази, липази, фосфатази, сулфатази, фосфолипази), разграждащи практически всички основни типове биологични макромолекули – протеини, нуклеинови киселини, въглехидрати и липиди. Концентрацията и съставът на ензимите могат да варират в зависимост от типа клетка и от функционалното състояние на лизозомата. Мембраната на лизозомите има специфичен липиден и протеинов състав, различен от този на други вътреклетъчни мембрани. Тя е богата на гликопротеини, известни като LAMP (lysosome-associated membrane proteins). Олигозахаридните вериги на тези протеини са разположени от страната на лумена, образувайки защитен гликокаликс, който предпазва мембранните липиди и протеини от действието на лизозомните ензими.

Повечето лизозомни ензими представляват кисели хидролази. Те проявяват оптимална активност при кисело рН (приблизително 4.6), което е характерно за вътрешната среда на лизозомите, но са неактивни при неутралното рН (около 7.2), характерно за цитозола. Поддържането на киселото рН в лизозомите се осъществява чрез активно натрупване на протони (H^+) във вътрешността им. Това се постига посредством протонна помпа (V-тип АТРазе), локализирана в лизозомната мембрана, която използва енергия от хидролизата на АТФ, за да транспортира протони от цитозола в лизозомата. В резултат на този активен транспорт концентрацията на протони в лизозомите е приблизително сто пъти по-висока в сравнение с тази в цитозола, което е от решаващо значение за нормалната им функция. Освен протонни помпи, мембраната съдържа и специфични транспортни протеини, които позволяват на крайните продукти от храносмилането, като аминокиселини, монозахариди и нуклеотиди, да преминават обратно в цитозола, където могат да бъдат използвани от клетката.

Една от основните функции на лизозомите е разграждането на вещества, постъпили в клетката от извънклетъчната среда чрез ендоцитоза. Тази функция на лизозомите е тясно свързана не само с тяхната роля в клетката, но и с механизма на тяхното образуване. Лизозомите се формират в резултат на сливане на транспортни везикули, получени от *trans*-Голджи мрежата, с късни ендозоми, които съдържат молекули, поети чрез ендоцитоза от плазмената мембрана. Особено значение лизозомите имат в процесите на клетъчна защита и имунен отговор. В специализирани клетки на имунната система, като макрофаги и неутрофили, лизозомите участват в разграждането на погълнати микроорганизми и чужди частици. След фагоцитоза патогените се подлагат на лизозомно разграждане, което води до тяхното унищожаване.

Освен разграждането на молекули, постъпили в клетката чрез ендоцитоза, лизозомите са отговорни и за автофагията – процес, чрез който клетката разгражда собствените си компоненти. Автофагията позволява отстраняването на увредени органели, неправилно нагънати протеини и остарели структури, като по този начин се поддържа функционалната цялост на клетката. Първият етап на автофагията включва обграждане на малка част от цитоплазмата или на цитоплазмен органел (например митохондрий) от мембрана, произхождаща от ендоплазменния ретикулум. Така се формира двумембранна везикула, наречена автофагозома. Впоследствие автофагозомата

се слива с лизозома, при което съдържанието ѝ се подлага на ензимно разграждане. Автофагията е строго регулиран процес, който се активира по време на ембрионалното развитие и в отговор на клетъчен стрес. Процесът играе ключова роля в онтогенезата (например при метаморфозата на насекомите), където е необходимо значително преструктуриране на тъканите. Освен това автофагията се активира при дефицит на хранителни вещества, като позволява на клетките да разграждат несъществени макромолекули и да рециклират техните градивни елементи за поддържане на жизненоважни метаболитни процеси.

Друга важна функция на лизозомите е участието им в програмираната клетъчна смърт. При определени условия лизозомната мембрана може да стане частично пропусклива, което да доведе до освобождаване на хидролитични ензими в цитозола. Това може да инициира каскади от събития, които допринасят за апоптозата или за други форми на клетъчна смърт. Чрез своята дейност лизозомите гарантират както енергийна и метаболитна ефективност, така и защита на клетката от натрупване на увредени или потенциално опасни структури.

Вакуолите представляват специализирани, ограничени с мембрана органели, които са част от ендомембранната система на еукариотната клетка. Въпреки че могат да се срещат и в животински клетки, те са най-добре развити и функционално най-значими в растителните клетки, където често заемат по-голямата част от клетъчния обем. Структурно вакуолата в растителните клетки е отделена от цитозола чрез единична мембрана, наречена тонопласт. Тонопластът е селективно пропусклив и притежава уникален набор от транспортни протеини и йонни помпи, които позволяват на вакуолата да поддържа вътрешна среда, коренно различна от тази на обкръжаващата я цитоплазма. Вътрешността на органела е изпълнена с клетъчен сок – воден разтвор, съдържащ неорганични йони, захари, аминокиселини, органични киселини и различни вторични метаболити.

Една от основните функции на вакуолите е поддържането на тургорното налягане в растителната клетка. Чрез натрупване на разтворими вещества вакуолата осигурява приток на вода, което води до повишаване на вътрешното налягане и придава механична здравина на клетката. Тургорното налягане е от съществено значение за поддържането на формата на растителните клетки и за растежа на тъканите. Вакуолите изпълняват важни функции и в съхранението на вещества. Те служат като депа за резервни хранителни вещества, като захари, органични киселини и аминокиселини, които могат да бъдат използвани при нужда. Друга съществена функция на вакуолите е участието им в детоксикацията и изолирането на потенциално вредни вещества. Те могат да натрупват тежки метали, токсични йони и метаболитни отпадни продукти, като по този начин ги изолират от чувствителните клетъчни структури. Вакуолите имат и функция, сходна с тази на лизозомите, особено в растителните клетки. Те съдържат хидролитични ензими и участват във вътреклетъчното разграждане на макромолекули, стари органели и увредени клетъчни компоненти. Те често съдържат пигменти като антоциани, които придават характерни цветове на цветове, плодове и листа.

При животните образуването на половите клетки започва в ранните етапи на зародишното им развитие като претърпяват последователни промени на диференциране и специализация. Процесът на образуване на женските и мъжки полови клетки се означава като *гаметогенеза*. В развитието и образуването им има сходства, но и характерни и специфични особености. Затова процесът на образуването на мъжките полови клетки (сперматозоиди) се означава като сперматогенеза (spermatogenesis), а на женските полови клетки (яйцеклетки) – овогенеза (oogenesis). При животните, с малки изключения, развитието на сперматозоидите се извършва в мъжките полови жлези – семенници (тестиси), а на яйцеклетките, в женските полови жлези – яйчници.

Етапите на *сперматогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза); зреене (мейоза); окончателно оформяне. Етапите на *овогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза) и зреене (мейоза).

Етап на размножаване. Сперматогенезата и овогенезата започват през ембриогенезата, след детерминиране на пола на първичните полови клетки (гоноцити). В резултат на това те се превръщат в първични мъжки полови клетки – сперматогонии ($2n$, $2c$) или първични женски полови клетки – овогонии ($2n$, $2c$). В половите жлези, и при двата процеса, започват активни митотични деления, които продължават и в след ембрионалния период. Броят на сперматогониите и овогонии се увеличава многократно. Само при висшите гръбначни животни вкл. и човека, размножаването на овогонии спира през определен етап от зародишното им развитие.

Етап на растеж и зреене. Започва процесът мейоза, който включва две последователни деления. Първото мейотично деление е редукционно, броят на хромозомите от диплоиден ($2n$) намалява на половина – хаплоиден (n). Временно количеството на молекулите ДНК в ядрото на клетките остава диплоидно ($2c$). През второто мейотично деление двете молекули ДНК, във всяка хромозома, се редуцират до хаплоидно количество (c). Двете мейотични деления преминават в следните последователни етапи – профаза, метафаза, анафаза и телофаза. В края на мейозата се получават хаплоидни дъщерни клетки (n , c).

Преди да встъпят в мейоза някои от сперматогониите или овогонии претърпяват процес на подготовка с генетични процеси в ядрото – удвояване броя на молекулите ДНК, синтез на различни видове РНК и в цитоплазмата – синтез на някои структурни белтъци. Сперматогониите се превръщат в сперматоцити от I ред ($2n$, $4c$), а овогонии – в овоцити от I ред ($2n$, $4c$). *Започва етап на растеж*, който включва дългата и сложна профаза на мейоза I, която е сходна и при двата процеса. Хроматиновият материал в ядрото се спирализира и дехидратира. Промени са разделени на пет последователни фази: лептотен I, зиготен I, пахитен I, диплотен I и диакинез I. С напредване на процеса се оформят хромозомните двойки – биваленти (хомологните хромозоми в бивалента са от бащина и майчина линия). Извършва се конюгация. Изгражда се синаптонемален комплекс от биомембрани. През пахитен I всеки бивалент (хромозомна двойка) е представен от две хромозоми ($2n$), всяка с по две сестрински хроматиди (две мол. ДНК, $2c$). Всеки бивалент съдържа $2n$, $4c$ и се означава като „тетрада“. През пахитен I се извършва и процеса *crossing-over*. В определени участъци от хромозомите се разменя генетичен материал между несестринските хроматиди в бивалентите. Получават се нови генетични рекомбинации. До края на профаза I хромозомите са окончателно спирализирани, скъсени и морфологично оформени. Хомологните хроматиди, като „тетради“, се преместват към периферията на ядрото. Ядрцето, ядрената мембрана изчезват, изгражда се делителното вретено. Сперматоцитите от I ред нарастват 1-2 пъти спрямо размерите на сперматогониите, докато овоцитите I ред нарастват от няколко десетки до стотици пъти, спрямо размерите на овогонии. Това се дължи на формирането и натрупването на хранителни вещества (жълтък) в цитоплазмата на овоцитите от I ред, което започва в края на пахитен I и завършва до края на диплотен I. Процесът е известен като *вителогенеза*. Съставът и количеството на хранителните вещества (жълтък) варира в определени граници, характерни за вида животно. Това определя вида на яйцеклетката и особеностите на ембрионалното развитие.

Етап на зреене. Включва времето от края на диакинез I до края на второто мейотично деление. При сперматогенезата и овогенезата, процесите са много сходни. Мейоза I продължава последователно през метафаза I, анафаза I и телофаза I. Генетичния материал се разделя равномерно,

като от всяка тетрада, в дъщерните клетки, се разпределя по една от двете хромозоми, всяка представена с по две хроматиди, две молекули ДНК ($n, 2c$). В края на мейоза I от един сперматоцит от I ред се образуват два сперматоцита II ред ($n, 2c$), а от един овоцит I ред се образува една голяма клетка – овоцит II ($n, 2c$), и една малка – първо полярно телце ($n, 2c$). За разлика от генетичния материал, който се разпределя равномерно в дъщерните клетки, цитоплазмата и жълтъка в овоцитите I ред се разпределят неравномерно. Почти цялото количество на цитоплазмата и жълтъка се разпределя към овоцит II ред, а към полярното телце – много малко цитоплазма, използван за структуриране на клетката.

Етапът на зреење продължава с мейоза II, която е сходна при двата процеса, без подготовка и нови синтетични процеси. Профаза II е кратка и атипична, с дехидратиране и спирализация на генетичния материал, като преминава през, подобни на мейоза I, пет последователни фази: лептотен II, зиготен II, пахитен II, диплотен II и диакенез II. През пахитен II вместо „тетради“ се образуват „диади“ . Всяка хромозома е представена от две хроматиди ($n, 2c$). Следват метафаза II, анафаза II и телофаза II, като към двата полюса на делителното вретено се насочва всяка от двете хроматиди на хромозомите. В края на мейоза II, при сперматогенезата, от един сперматоцит II ред се образуват два равностойни хаплоидни сперматиди (n, c). В края на мейоза II, при овогенезата, от един овоцит II ред се образува една голяма клетка – яйцеклетка и една малка – второ полярно телце с равномерно разпределение на генетичния материал (n, c). Заедно с това яйцеклетката поема всичко от жълтъка и почти цялата цитоплазма, а полярното телце само малко цитоплазма. Първото полярно телце може да претърпи също мейоза II и в края от него да се образуват две хаплоидни полярни телца. Поради ограничената жизненост на яйцеклетките в яйчните овогенезата спира през различни етапи за отделните видове животни. Овогенезата завършва само след навлизането на сперматозоид в яйцеклетката при оплождането. При липса на оплождане яйцеклетката загива.

Обобщено, в края на мейозата, при сперматогенезата от сперматоцит от I ред се образуват четири равностойни хаплоидни сперматиди (n, c), докато при овогенезата, от един овоцит I ред се образува една голяма хаплоидна яйцеклетка (n, c) и едно (три) малки полярни телца (n, c).

Окончателно формиране. Този етап е характерен само при сперматогенезата, по време на който се структурират морфологичните части на сперматозоидите (спермиогенеза). От всеки сперматид се оформя по един сперматозоид. В сперматидите на животните се описват сходни промени, които се разделят на четири последователни фази: фаза на комплекс на Голджи; фаза на „шапчица“; фаза на акрозома (акрозомен апарат); фаза на зреење.

Видове сперматозоиди. При животните има два типа сперматозоиди: афлагелатен тип, без флагелум; флагелатен тип, с флагелум или опашка. Сперматозоидите с флагелум са по-често срещани, и се откриват у представители от Porifera до Vertebrata, включително и човека. Флагелатният тип сперматозоиди имат общ принцип на устройство – глава, шийка и опашка. Характеризират се с редица особености на ултраструктурната организация на всяка морфологична част, което определя сперматозоидите като високоспециализирани и видовоспецифични клетки.

В главата на сперматозоида се намират акрозомен апарат (акрозома) и ядро (хаплоидно, малки размери, силно обезводнено, плътно пакетирани хроматин) и малко цитоплазма. В акрозомен апарат се съдържат хидролитични ензими (при оплождане разрушават вторичните яйчни обвивки на яйцеклетките). При бозайниците основните ензими са: *хиалуронидаза* – разгражда хиалуроновата киселина, която слепва фоликулните клетки в *corona radiata*; *акрозин* – разрушава *zona pellucida* по време на оплождането.

В шийката има две центриоли – проксимална центриола (при оплождане навлиза в яйцеклетката, структурира първото делително вретено на зиготата) и дистална центриола (като базално телце участва в структурирането на аксонемата на опашката).

Опашката на сперматозоида се разделя на междинна, средна и крайна част, като по дължината и се намира осев комплекс (аксонема), който е двигателен център на опашката, митохондрии – в междинната част около аксонемата, с енергийна функция. По цялата дължина сперматозоида е покрит с малко цитоплазма и клетъчна мембрана.

Видове яйцеклетки. Разпределят се въз основа на две класификации: 1. В зависимост от количеството на жълтъка в цитоплазмата: безжълтъчни (алецитални, напр. чернодробен метил, човек); малкожълтъчни (олиголецитални, напр. мещести); умереножълтъчни (мезолецитални, напр. Безопашати земноводни) и многожълтъчни (полилецитални, напр. риби, влечуги, птици, насекоми). 2. В зависимост от количеството и разпределението на жълтъка в обема на яйцеклет-

ката: хомолецитални – с малко жълтък, равномерно разпределен (напр. мещести); хетеролецитални – мезолецитални, неравномерно разпределен жълтък, анимален полюс без жълтък и вегитативен полюс с жълтък (напр. жаби); телолецитални – полилецитални, жълтък изпълващ цялата клетка, ядрото се намира на самия анимален полюс, под оолемата (напр. риби, влечуги, птици); центролецитални – полилецитални, жълтък в центъра на клетката, който прекъсва от цитоплазма без жълтък, т. нар. цитоплазмени мостчета (напр. насекоми). По правило ядрото в яйцеклетките се намира в място, където жълтък липсва или е в малко количество.

Оплождане. Процесът на сливане на хаплоидните сперматозоид и яйцеклетка, при което се получава диплоидна зигота, с обогатен генетичен материал се нарича оплождане. Осемняването е процес на изхвърляне, придвижване и депониране на сперматозоидите в женския копулативен орган или разположението им в непосредствена близост до яйцеклетката, извън женските полови пътища, във външна, водна среда. Осемняването бива два вида: *моноспермия* – допуска се един сперматозоид, който извършва оплождането; *полиспермия* – допускат се повече сперматозоиди, но само първия извършва оплождане, като внася хаплоидния си набор хромозоми. Другите сперматозоиди се разрушават и материалите им се използват през ембрионалното развитие. Условието за оплождане се определят от начина на осемняване. При външно оплождане, във външна водна среда, е необходимо да има: подходящи условия на средата; синхрон в поведението на индивидите от двата пола на един вид; половите клетки да се изхвърлят по едно и също време и в близост. При вътрешно оплождане е необходимо да има: синхрон в поведението на индивидите от двата пола на един и същи вид; специални механизми за внасяне на сперматозоидите в женските полови пътища. Към условията за оплождане се включват и действието на специални високо специфични химични вещества (гамони), отделяни от половите клетки, както и спермална течност с определен състав и качество, характерни за вида животно.

Най-общо механизма на оплождането се разделя на три последователни етапа: 1. *Акрозомна реакция* – сперматозоида преодолява яйчните обвивки, с помощта на хидролитичните ензими в акрозомата. 2. *Кортикална реакция* – образуват се допълнителни прегради над оолемата, които възпрепятстват полиспермия. В тяхното структуриране участва изнесеното, чрез екзоцитоза, съдържание на кортикалните гранули от яйцеклетката, което е провокирано от навлезлият сперматозоид. *Нуклеарна фаза* – сливането на сперматозидното ядро и ядрото на яйцеклетката. Най-често в яйцеклетката навлиза главичката на сперматозоида и проксималната центриола. Образува се мъжки пронуклеус. Яйцеклетката, активирана от навлезлия сперматозоид, бързо завършва мейозата, отделя второто полярно телце и останалия в нея хаплоиден набор се превръща в женски пронуклеус. Следва сливане на мъжкия и женски пронуклеус (майчини и бащини хромозоми) в едно общо диплоидно ядро – синкарион. Образува се диплоидна зигота.

Зародишно развитие. Етапи на зародишното развитие. Индивидуалното развитие (онтогенеза) при животните започва с активирането на яйцеклетката към развитие, чрез навлязъл сперматозоид или по друг начин (чрез партеногенеза, т. нар. „девствено“ начало). С първото делене активираната яйцеклетка започва етапът на зародишното развитие (ембриогенеза), който завършва с излюпването или раждането на новия индивид. *Най-общо ембрионалното развитие се извършва чрез следните последователни етапи: набраздяване (бластулация), гаструлация и органогенеза.*

Набраздяване (бластулация, дробене). В рамките на 9 – 10 деления, активираната към развитие яйцеклетка, извършва последователни митотични деления, през интерфазите на които няма етап на растеж. Зародишът не нараства. С всяко следващо делене клетките се увеличават по брой и намаляват по размери. Означават се като бластомери. В края на етапа, зародишът придобива специфична структура наречена бластула, в която често се отваря празнина – брastoцел, изпълнена с течност, отделена от бластомерите. Делителните плоскости от всяко следващо делене се разполагат във взаимно перпендикулярни равнини. Особеностите на набраздяването се определят от типа на яйцеклетката, както и от условията на средата, в която се развива зародиша. По правило жълтъкът забавя скоростта на делене или напълно спира деленето, в мястото, където се намира. Това се отразява върху структурата и типа на бластулата, определя особеностите на ембриогенезата. Дробене може да се извърши по *детерминативен и регулативен тип*, в зависимост от това дали бластомерите са диференцирани твърде рано за развитие на определена част от тялото на зародиша (още при 1-во, 2-ро делене) или твърде късно (след 16 клетъчен стадий), съответно. При липса на бластомер при детерминативния тип се развива дефектен зародиш, а при регулативния тип се развива нормален зародиш.

Видове набраздяване. Набраздяването се разделя на два вида: пълно (тотално, холобластично) и непълно (повърхностно, меробластично). *Пълно (тотално) набраздяване* има при алецитални, олиголецитални, хомолецитални, мезолецитални и хетеролецитални яйцеклетки. Жълтъкът при тях липсва или е в малко или умерено количество. Делителните плоскости преминават през обема на яйцеклетката, като разположението им зависи от разпределението на жълтъка в обема на яйцеклетката. Пълното дробене бива: *равномерно* (еквално) при хомолецитални яйцеклетки – бластомерите са с много сходни, еднакви размери; *неравномерно* (инеквално) при хетеролецитални яйцеклетки – бластомерите са с различни размери и биват: микромери (малки клетки, без жълтък), мезомери (средни клетки, с умерено количество жълтък) и макромери (големи, с много жълтък). Бластулите съответно са: еквална и инеквална целобластула. Пълното дробене бива още: радиално, спирално, двустранно, двусемитрично, анархистично, асинхронно. Всеки вид се характеризира с особености, в резултат на което се формират и разнообразни бластули. *Непълно (повърхностно, меробластично) набраздяване* е характерно за полилециталните яйцеклетки. Разделя се на два вида – дискоидално и повърхностно (суперфициално). *Дискоидално набраздяване* се наблюдава при телолециталните яйцеклетки (главоноги, риби, влечуги, птици и др.). Делителните плоскости преминават само в анималния полюс на яйцеклетката, където се намира ядрото. През първите четири деления се образуват *клетъчни сегменти* – без клетъчни мембрани между съседни клетки. По-късно се развиват в бластомери. Бластулата се нарича дискобластула – част от бластомерите отделят ензими за разграждане на жълтъка в усвоима форма, и се наричат вителофаги. *Повърхностно (суперфициално) набраздяване* има при центролециталните яйцеклетки на насекомите. Делителните плоскости касаят само централно разположеното ядро и цитоплазмата около него. Формира се симпластна структура – *синцитиум*. Ядрата преминават през цитоплазмените мостчета, достигат до периферията, под оолемата, делят се още няколко пъти и се превръщат се в бластомери. Формира се бластула наречена перибластула с периферна бластодерма от слоеве бластомери, жълтък в центъра, с малко останали ядра и с функция на вителофаги – разграждат жълтъка в усвоима форма за зародиша.

Гаструлация. Между деленията, през интерфазите има етап на растеж. Зародишът расте. Бластомерите нарастват и вече се означават като клетки, между които настъпват качествени различия по отношение на физиологията, темпа на развитие и тяхната активност. Клетките се пренареждат и диференцират. Обособяват се зародишните листове (слоеве). Първоначално се развиват външен зародишен лист наречен *ектодерма* (ektos – външен) и вътрешен – *ентодерма* (entos – вътрешен). По-късно между тях се образува и трети зародишен лист – *мезодерма* (mesos – среден) (при трипластните животни). Структурата, която се формира се нарича гастрала, а празнината в нея – гастрокел. *Ектодермата и ендодермата*, най-общо, могат да се структурират по четири начина, чрез: *инвагинация* (потъване); *имиграция*; *епибolia* (обрастване); *деламинация* (разцепване).

Мезодермата може да се развие от клетки на: ектодермата – ектомезодерма; ендодермата – ендомезодерма; от двата слоя едновременно – ектоендомезодерма. Структурира се като *мезенхим* – амебовидни клетки с неправилна форма, разположени в голямо количество аморфно междуклетъчното вещество. В повечето случаи се образува и по-сложно устроена мезодерма – *мезотел* (послойно подреждане на клетки заграждащи празнина). Образуват се торбовидни издувания (целомни, мезодермални торбички), водещи началото си от ендодермални клетки. От тях се залагат разновидности на съединителна и мускулна тъкани. Образува се най-общо по три начина: *телобластичен, ентероцелен и солидно клетъчно обрастване* (врастване) (при Vertebrata, с залагане на мезодермални торбички, сомити, сегменти).

Органогенеза. През този етап се залагат и обособяват тъканите и органите на отделните системи при животните, които постепенно започват да функционират. Основните осевы структури, които определят плана на развитие на тялото при гръбначните животни са: първично черво (архентерон); гръбна струна (chorda dorsalis или notochorda) и нервна тръба (tubus neuralis). *Първичното* черво се структурира най-рано от ендодермата и се разполага откъм коремната страна на зародиша. По-късно се развива в епителните структурни части на храносмилателна система и жлезите ѝ (слюнни жлези, черен дроб, панкреас) и залага зачатъци на органи от дихателната система – трахеята и белите дробове (или хрилете). *Хордата* се разполага над и по дължината на първичното черво, има ендо-мезодермален произход. При повечето гръбначни животни се заменя от костна и хрущялна тъкан, при бозайниците, остатъци от нея се запазват като nucleus pulposus (меката част на междупрепшленните дискове). *Нервна тръба* се образува от ектодермата

по т. нар. епителен път. Процесът на образуване на нервната тръба се нарича *неврулация*. Последователните етапи на затварянето ѝ са: *нервна пластинка* (нервна плоча); *нервна бразда*; *нервна тръба*. От нервната тръба се образува цялата нервна система.

Появата и развитието на органите и системите се инициира като се подчинява на процесите на ембрионалната индукция. Появата на един орган инициира появата на следващ. Така например структурирането на гръбната струна инициира сегментиране на мезодермалните торбички и развитие на нервна тръба. По правило, през ебриогенезата, предния край винаги изпреварва развитието на задния край. Така, веднага след затварянето на нервната тръба, в предния край на ембриона, се инициира бързо разширение и развитие на първите три мозъчни мехурчета. Поставя се начало на структурирането частите на главния мозък. По-късно се затваря задната част на нервната тръба, от която се развива гръбначен мозък.

При повечето гръбначни животни ембриогенезата се подпомага с образуването на допълнителни зародишни обвивки. *Жълтъчна торбичка*, която обгръща жълтъка при риби, влечуги и птици и е първият хемопоеитичен огран за зародиша. *Зародишните обвивки при гръбначните животни са: амнион, хорион и алантоис*. Те се структурират от извънзародишни слоеве. *Амнионът* е амниотична празнина с течност (околоплодни води), осигуряваща влажна среда за развитието, защита от механични и други вредни агенти за зародиша, има и регулаторна роля. *Хорионът* се развива като обща обвивка на зародиша. Има защитна и газообменна функция за зародиша, а при птици спомага за пренасяне на калциев карбонат от варовитата черупка на яйцето към зародиша, за изграждането на скелета. *Алантоисът*, при влечуги и птици, е сляпо завършващ колбасовиден израстък, с функция на пикочен мехур, участва и в газообмена. При плацентните бозайници алантоисът образува съдовете в пъпната връв и с това участва в обмяната на вещества между плода и плацентата. В края на ембриогенезата зародишните обвивки се разрушават. При плацентни бозайници и човека се образува временен орган, наречен *плацента*, осигуряващ връзката между майчиния организъм и ембриона (плода). Функциите са: газообменна, трофична (хранителна), защитна (барьерна), секреторна, хормонална (човешки хорионгонадотропен хормон, прогестерон, за поддържане на бременността). Структурира се от две части – майчина (лигавицата на матката) и детска (хорион с хориални власинки, въси). Плацентите, при различните видове бозайници, варират по разположението на хориалните въси и изградената връзка между майчиният и детският организъм. При човека плацентата е с най-пряка връзка. Върховете на хориалните въси се потопени в майчината кръв, разположена кръвоносните синуси в лигавицата на матката. Единствената преграда между майчината кръв и детския организъм е стената на хориалните въси.

1. Детерминиране на пола

Признакът **пол** при организмите е генетично детерминиран и тенденцията дали ще се развие мъжки или женски пол е генетично заложен в оплодената яйцеклетка.

Полът представлява съвкупност от белези, по които се различават индивидите от даден вид, които имат способност да образуват различни полови клетки. Съществуването на полови диморфизъм е пряко свързано с половото размножаване, при което в един нов организъм се комбинират наследствени качества с майчин и бащин произход.

Детерминирането на пола, наречено още първично определяне на пола, представлява онзи ранен механизъм, с помощта на който дадени фактори водят до появата на женски или мъжки пол.

Диференцирането на пола е свързано с формиране на белезите и свойствата, характерни за съответния пол в хода на онтогенезата и включва съвкупността от процесите, които в различните етапи на индивидуалното развитие довеждат до излявата на един от двата пола с характерния им комплекс от белези.

Детерминирането на пола може да се осъществи в различен момент на размножителния цикъл. В природата са установени три типа определяне на пола: прогамно, сингамно и епигамно.

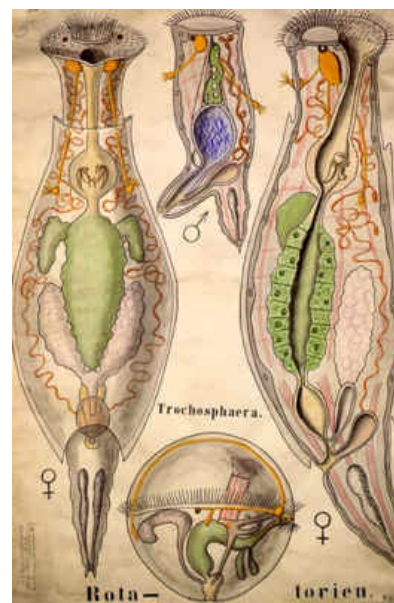
Прогамно детерминиране се осъществява преди оплождането на яйцеклетката. Наблюдава се при някои организми, например представители на р. *Rotatoria*. В хода на овогенезата, количеството на цитоплазмата се разпределя неравномерно. Формират се по-големи и по-малки по размер яйцеклетки. След оплождането от по-големите се развиват зиготи, които дават началото на женски индивиди, а от по-малките се образуват зиготи, от които произлизат мъжки индивиди (Фигура 1).

Сингамно детерминиране на пола се осъществява по време на оплождането, при сливането на ядрата на двете гамети. Това е най-разпространеният начин на детерминиране на пола, осъществява включително и при човека. Среща се сингамно детерминиране на пола при мъжка и женска хетерогаметност, в зависимост от това, кой пол образува различаващи се гамети.

Епигамно детерминиране на пола се осъществява след оплождането, по време на индивидуалното развитие, в резултат от взаимодействието на организма с околната среда. Такаъв тип на определяне на пола се наблюдава се при зеления морски червей *Bonellia viridis*, при който мъжките паразитират в половата система на женските. От оплодените яйца се излюпват недиференцирани ларви. Ако свободноживеещите ларви се прикрепят към подводен предмет, те метаморфозират в женски индивиди, а прикрепените с хоботчето си към майчиния организъм – в мъжки индивиди, които продължават да паразитират в половата система на женските. Ако прикрепените ларви се отделят и преминат към свободен начин на живот, метаморфозират в хермафродитни организми. Това определя интереса на изследователите към този тип детерминиране на пола, тъй като на основата на него се развива хипотезата за бисексуалната природа на организмите.

Съотношението между половете в рамките на вида се нарича **полово съотношение**. Честотата, с която се срещат мъжките и женските индивиди в една популация е приблизително 1:1. Процентът на индивидите от мъжки пол при човека е 51, при коня – 52, при магарето и овцата – 49 и т.н.

Още Мендел изказал твърдение, че белегът „пол“ се унаследява при същите закономерности, които са валидни и за други белези, когато се кръстосва хетерозиготен с хомозиготен по



Фигура 1. Прогамно детерминиране на пола при р. *Rotatoria*.

<http://www.wasser-wissen.de/abwasserlexikon/r/raedertierchen.htm>

рецесивните алели индивид. От това следва, че единият пол образува два различни типа гамети, поради което се нарича *хетерогаметен*, а другият – един тип и се нарича *хомогаметен*. За определянето на пола значение има не само един алел (както е и при анализиращото монохбридно кръстосване), а цял комплекс от гени, локализирани в специален тип хромозоми, означени като *полови хромозоми (гонозоми)*. Те се установяват при животински видове, някои растения и при човека. Всички останали хромозоми на вида се наричат *автозоми*, групират се в хомоложни двойки и са еднакви в соматичните клетки на представителите на двата пола. Мъжките и женските индивиди се различават по между си по двойката на половите хромозоми. При човека, *D. melanogaster* и много други половите хромозоми се означават като X и Y. Женските индивид имат две еднакви X- хромозоми, а мъжките – една X и една Y хромозоми, които се различават по морфологичен тип и генна последователност.

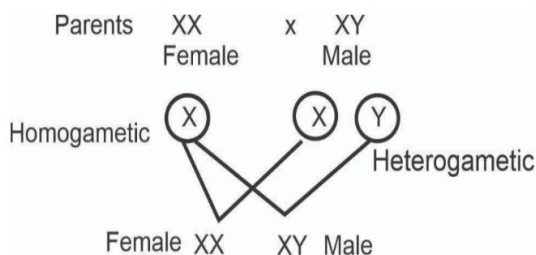
2. Сингамно детерминиране на пола при мъжка хетерогаметност

Когато хетерогаметен е мъжкият пол, детерминирането на пола може да стане по няколко начина. Нека ги илюстрираме със следните примери:

При човека женските индивиди притежават в соматичните си клетки 44 автозоми и две полови хромозоми – XX (44+XX), а мъжките – 44 автозоми, една X и една Y хромозоми (44+XY). Женският пол е хомогаметен, защото образува един тип гамети, съдържащи 22 автозоми и една X-хромозома. Мъжкият пол е хетерогаметен, защото образува 2 типа гамети – единият тип притежава 22 автозоми и една X- хромозома, а другият – 22 автозоми и една Y-хромозома (Фигура 2).

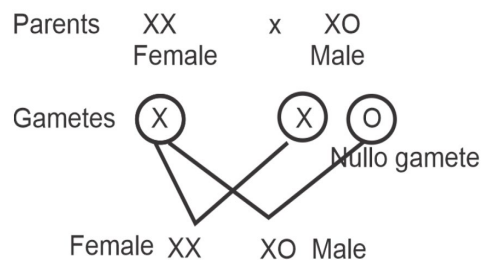
По този начин се осъществява и детерминирането на пола при винената мушица *Drosophila melanogaster*. Видът притежава 8 хромозоми в диплоидния си хромозомен набор, от които 6 са автозоми и две – полови хромозоми. Женските индивид имат 6 автозоми и 2 X-хромозоми (6+XX) в соматичните си клетки, а мъжките – 6 автозоми, една X и една Y хромозоми (6+XY) (Фигура 2).

При скакалеца в соматичните клетки на женските индивиди има 22 автозоми и две X-хромозоми (22+XX). Те формират един тип гамети, притежаващи 11 автозоми и една X- хромозома. Мъжките индивиди имат 22 автозоми и една X-хромозома (22+X0). Гаметите, които продуцират са два типа: в половината от тях има по 11 автозоми и една X- хромозома, а в другата половина липсва полова хромозома. В зависимост от това, коя мъжка гамета се слива с яйцеклетката се получават зиготи, от които се развива съответно женски или мъжки индивид (Фигура 3).



Фигура 2. Схема на сингамно детерминиране на пола при наличие на две различни полови хромозоми – X и Y.

<https://istudy.pk/mechanism-of-sex-determination/>



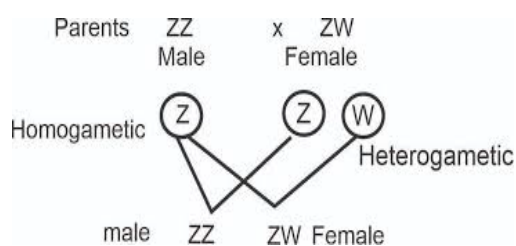
Фигура 3. Схема на сингамно детерминиране на пола при мъжка хетерогаметност при скакалец.

<https://istudy.pk/mechanism-of-sex-determination/>

3. Сингамно детерминиране на пола при женска хетерогаметност

Този тип определяне на пола се наблюдава при представители на птици, влечуги, риби и пеперуди. При тях половите хромозоми могат да се означават също с X и Y, но по-често се представят с Z и W. В соматичните клетки на женските индивиди освен автозомите има две различни полови хромозоми – Z и W, а мъжкият пол е хомогаметен и притежава две еднакви полови хромозоми – ZZ.

При кокошките *Gallus domesticus*, женските индивиди имат хромозомен набор 76+ZW, а мъж-



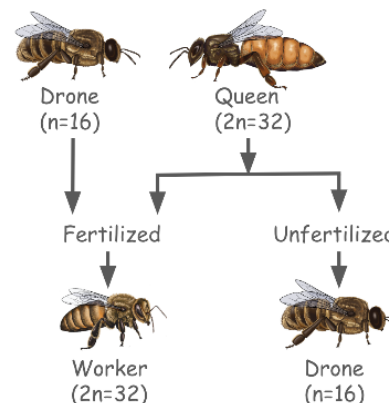
Фигура 4. Схема на сингамно детерминиране на пола при женска хетерогаметност.

<https://istudy.pk/mechanism-of-sex-determination/>

ките – $76+ZZ$, а при черничевата пеперуда хромозомния набор при женските е $54+ZW$, а при мъжките – $54+ZZ$. На Фигура 4. е представена обобщена схема на сингамното детерминиране на пола при женска хетерогаметност.

4. Детерминиране на пола чрез хапло-диплоидия

При медоносните пчели *Apis mellifera* е налице механизъм на определяне на пола чрез хапло-диплоидия. В пчелното семейство женските индивиди се развиват от оплодени яйца, затова всички техни соматични клетки са първично диплоидни. Разликата между пчелата-майка и пчелите-работнички се изразява в тяхната фертилност, която се определя от храната, предоставяна на ларвите преди излюпването им. В резултат на специалния състав на храната на ларвата на пчелната майка, осигуряваща нормалното развитие на половата ѝ система, тя се развива като единствения женски фертилен индивид в колонията. Фертилните мъжки индивиди (търтеи) се развиват от неоплодени яйца чрез партеногенеза. Хаплоидността, която е резултат от това развитие се запазва само в клетките на зародишевия път, от които се формират гаметите, при които не се осъществява редукционно делене, а само еквационно. В соматичните клетки на търтеите настъпва вторична диплоидизация. В соматичните клетки на мъжките и женските индивиди на вида има 30 автозоми и две Х-полови хромозоми, а в половите клетки – 15 автозоми и една Х-хромозома (Фигура 5).



Фигура 5. Хапло-диплоидия при определяне на пола при медоносната пчела *Apis mellifera*.

https://extension.psu.edu/media/wysiwyg/extensions/catalog_product/9aa8232654a241f1ac25aa399e733702/h/a/haplodiploidy.png

5. Определяне на пола при растенията

При висшите спорови и покритосеменни растения *двудомността* е широко разпространено явление – има мъжки и женски растения. При двудомните растения съществуват два различни механизма на определяне на пола – наличие на конкретна хомозиготна или хетерозиготна алелна комбинация или наличие на морфологично различни полови хромозоми.

5.1. Комбинация от алели, определящи пола

При двудомния вид тиква *Brionia dioica*, мъжкият пол е хетерогаметен и се определя от хетерозиготна комбинация на ген „m“ – Mm, а женският пол, който е хомогаметен – от хомозиготна по рецесивните алели комбинация – mm. Този вид може да образува хибриди с еднодомния вид *Brionia alba*, който е хомозиготен по рецесивните алели mm, а еднодомността му се определя от гени, присъстващи в неговия генотип.

При опрашването на *B. alba* с прашец от *B. dioica*, потомството ще е двудомно:

P: mm x Mm

F₁: mm (женски индивиди), Mm (мъжки индивиди) в съотношение приблизително 1:1.

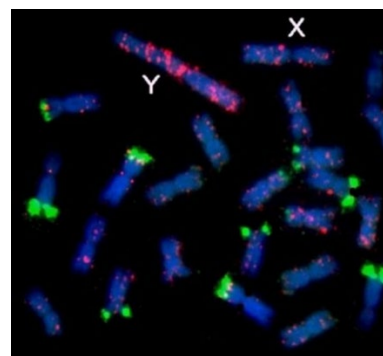
При опрашването на *B. dioica* с прашец от *B. alba* се получава само женско потомство:

P: mm x mm

F₁: mm (женски индивиди).

5.2. Хетерогаметност при мъжкия пол, определяща се от наличието на полови хромозоми.

При вида *Silene latifolia* (*Melandrium album*), женските индивиди притежават 22 автозоми и две Х-полови хромозоми, а мъжките имат 22 автозоми и Х и Y полови хромозоми в соматичните си клетки (Фигура 6).



Фигура 6. Хромозоми при *Silene latifolia* (*Melandrium album*) (половите хромозоми са означени с Х и Y).

<https://www.nature.com/articles/hdy200917>.

6. Значение на X и Y половите хромозоми за определяне на пола при *Drosophila* и човек

При човека и *Drosophila*, а също и при повечето гръбначни животни, много насекоми и безгръбначни, женските индивиди притежават две X хромозоми, а мъжките – една X и една Y хромозома. Генетичната основа на определяне на пола обаче не е еднаква при тези организми.

При *Drosophila* за определяне на пола значение има броят на X хромозомите. Мъжки пол се детерминира от XY и XO гонозомни комплекси, а женски пол – както при XX, така и при XXY гонозомен комплекс. При този вид, Y хромозомата няма отношение към определяне на мъжкия пол, а само към жизнеността на мъжките гамети. По тази причина мъжките индивиди от типа XO са стерилни.

При човека Y хромозомата детерминира мъжки пол, затова индивиди с гонозомен комплекс XY и XXY са от мъжки пол, а индивиди с гонозомни комплекси XX и XO са от женски пол.

7. Диференциране на пола по време на онтогенезата

Диференцирането на пола се осъществява винаги след оплождането, през онези етапи на онтогенезата, когато се развиват половите жлези и вторичните полови белези.

При разделнополовите животни първоначално половите жлези са недиференцирани (индиферентни), те имат еднакво устройство – външен слой (кортекс) и вътрешен слой (медула).

Балансът на гените в половите хромозоми и автозомите определя функцията на жлезите с вътрешна секреция. Ако балансът е такъв, че детерминира мъжки пол, се активира секрецията на мъжки полови хормони, които диференцират жлезата в тестис и обратно.

Под влияние на условията на средата може да настъпи промяна в типа на секреция на ендокринните жлези и ако това стане в началните етапи на онтогенезата, ще се развие не детерминираният пол, а противоположният (реверсия на пола). Условията на средата оказват влияние върху честотата на срещане на мъжките и женските индивиди в потомството: при жабите от значение е температурата, при която се развиват индивидите; при пъпешите – азотното хранене; при конопа – осветяването.

При диференциране на пола влияние оказват видът и качеството на храната, възрастта на родителите, смъртта на индивидите от единия пол по време на ембрионалното развитие. При *Drosophila* се среща еднородна линия само от женски мухи, тъй като мъжките ембриони се разпознават и унищожават от спирохета, която паразитира в хемолимфата.

Между половите клетки, съдържащи X и Y хромозоми понякога съществува конкуренция, процесът е известен като цертация. Този процес е описан при растения, животни и при човека. Движението на сперматозоидите и проникването им в яйцеклетката зависи от pH на средата и други химични въздействия.

8. Половосвързана наследственост

Освен гените, контролиращи съвкупността от белези, наречена пол, в половите хромозоми са локализирани и гени, които определят соматични признаци. Те се наричат скачени с пола, а унаследяването им – *половосвързана наследственост*. Тази наследственост зависи от поведението на половите хромозоми по време на мейоза и техните морфологични особености. Често при индивидите с морфологично различаващи се полови хромозоми е възможно генното съдържание в тях да е различно. Ако в едната полово хромозома липсва локус на ген, намиращ се в другата, състоянието се нарича хемизиготност. Унаследяването, скачено с пола може да се демонстрира и обясни с класически примери: унаследяване цвета на очите при *Drosophila melanogaster*, хемофилията и далтонизмът при човека и др.

При винената мушица цветът на очите се определя от двойка алели на един ген – доминантен за червени очи (w+) и рецесивен – за бели (w). Този ген е локализиран в X хромозомата и липсва в Y хромозомата. Мъжките индивид са хемизиготни по гена за цвета на очите, което означава, че един алел, разположен в X хромозомата при мъжките индивид е отговорен за фенотипната изява на белега.

При кръстосване на женски мухи с червени очи с мъжки с бели очи, в F₁ получените женски и мъжки индивиди са с червени очи. Условно приемаме тази кръстоска за „права“. При кръстосване на индивидите от F₁ по между им, във F₂ всички женски индивиди (50% от всички получени индивиди) са с червени очи, половината от всички мъжки са с червени очи, а останалите са с бели. Така разпадането по двата белега – пол и цвят на очите е в следното съотношение: женски с червени очи – 2 части (50%): мъжки с червени очи – 1 част (25%): мъжки с бели очи 1 част (25%).

P:	$X^{w+}X^{w+}$ ♀ с червени очи	x	X^wY ♂ с бели очи
Гамети:	X^{w+}, X^{w+}		X^w, Y
F ₁ :	$X^{w+}X^w$ ♀ с червени очи	x	$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи
Гамети:	X^{w+}, X^w		X^{w+}, Y
F ₂ :	$X^{w+}X^{w+}$ ♀ с червени очи		$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи
			$X^{w+}X^w$ ♀ с червени очи
			X^wY ♂ с бели очи

При „обратната“ кръстоска, при кръстосване на женски с бели очи с мъжки с червени, в F₁ получените женски са с червени очи, а мъжките – с бели. Това е пример за т. нар. criss-cross унаследяване (унаследяване на кръст), при което белезите се предават от „майки“ на „синове“ и от „бащи“ на „дъщери“. Когато получените в F₁ индивиди се кръстосат по между си, във F₂ се получават 4 фенотипни групи: женски с червени очи, мъжки с червени очи, женски с бели очи и мъжки с бели очи в съотношение 1:1:1:1.

P:	X^wX^w ♀ с бели очи	x	$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи
Гамети:	X^w, X^w		X^{w+}, Y
F ₁ :	$X^{w+}X^w$ ♀ с червени очи	x	X^wY – criss-cross унаследяване ♂ с бели очи
Гамети:	X^{w+}, X^w		X^w, Y
F ₂ :	$X^{w+}X^{w+}$ ♀ с червени очи 1:		$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи 1:
			X^wX^w ♀ с бели очи 1:
			X^wY ♂ с бели очи 1

Разликите в разпадането на признаците по фенотип във F₂ в „правата“ и „обратната“ кръстоска са доказателство, че унаследяването на признака „цвят на очите“ при винената мушица е свързано с пола на индивидите и се дължи на 3 причини: генът за цвят на очите се намира върху X-хромозомата, Y-хромозомата не носи ген за цвета на очите, а алелът, който определя червения цвят на очите е доминантен спрямо алела за бял цвят на очите.

Освен половосвързаната наследственост съществува и ограничена от пола и зависеща от пола наследственост. *Ограничени от пола* са тези наследствени признаци, които се проявяват само у индивидите от единия пол, или степента им на изява е различна при двата пола. Така се унаследяват вторичните полови белези (окосмяване, развитие на млечни жлези и други). Ограничено от пола се унаследяват признаци като млечност, масленост на млякото, носливост и други при селскостопанските животни. Те се обуславят от гени, присъщи както на мъжките, така и на женските индивиди, но се проявяват само при единия пол.

Съществуват и признаци, чиито характер на доминиране зависи от пола. Те се наричат *зависими от пола*. По такъв начин се проявява плешивостта при човека – при мъжете алелът за плешивост е доминантен (A), а при жените този алел е рецесивен (a). Така при мъжете хомозиготните по доминантните алели (AA) и хетерозиготните (Aa) индивиди са плешиви, докато при жените, за да се наблюдава във фенотипа този белег е необходимо те да са хомозиготни по рецесивните алели (aa).

Най-често под понятието тъкан се има предвид съвкупност от клетки и междуклетъчно вещество, представляващи една филогенетично възникнала система с общ произход и посока на диференциация на клетките за усъвършенстване изпълнението на отделни основни жизнени функции. Еволюцията на тъканите се осъществява в пряка връзка с усложняване на основните функции на организмите – метаболизъм, движение, дразнимост и защита. В резултат на това се обособяват разновидности от тъкани, които се класифицират въз основа на разнообразие от критерии. Най-често използвана и до днес е морфо-функционалната класификация, според която тъканите се разделят на четири основни типа – епителна, съединителна, мускулна и нервна.

Най-общо всяка тъкан се изгражда от клетки и междуклетъчно вещество. Въпреки специфичността на своята диференциация във всяка тъкан могат да се разграничат най-общо три типа клетки: основни, преобладаващи с характерната функция за тъканта; допълнителни, специализирани клетки, със спомагателни функции; слабо диференцирани клетки със запазени способности за делене. Междуклетъчното вещество включва основно, аморфна субстанция и влакнести материали. Варира по състав и строеж, като при някои видове тъкани, до голяма степен, определя функциите и свойствата им. В хода на еволюцията при животните, в отговор на променящите се условия на средата, се развиват голям брой разновидности към основните типове тъкани. Такива са например разновидности на съединителната тъкан – кръв, рехавата съединителна тъкан, мастна съединителна тъкан, влакнеста съединителна тъкан и т. н.

Основните типове тъкани и техните разновидности имат и някои общи свойства. Това са: *регенерация (regeneration)* – свързана с възстановяване на изхабените или мъртви клетки с нови; *хиперплазия (hyperplasia, hyper – върх и plasso – образувам)* и *хипертрофия (hypertrophia, tropho – храня)* – прекомерно разрастване на тъканта; *атрофия (atrophia, a – не)* – намаляване на обема на тъканта; *метаплазия (metaplasia, meta – след)* – в границите на основен тип тъкан един подвид преминава в друг; *неоплазия (neoplasia)* – туморно израждане.

Епителна тъкан (Textus epithelialis). Филогенетично се появява и стабилизира най-рано в сравнение с другите типове тъкани. През ембрионалното развитие на животните може да се развие и от трите зародишни листа – ектодерма, ендодерма и мезодерма. Покрива отвън тялото на многоклетъчните животни като постила вътрешната повърхност на кухите и тръбестите органи (храносмилателен тракт, дихателните и пикочопроводни пътища) и на телесните кухини (коремна и гръдна); изгражда почти всички жлези, с изключение на някои отдели на жлезите с вътрешна секреция.

Основните функции на епителната тъкан са ограничителна и защитна. *Допълнителни функции* са *транспортна* – свързана с пренасянето на вещества с помощта на транспортни системи. *Секреторна функция*, свързана с отделянето на различни по химичен състав вещества, йони и макромолекули. Роля в *сетивни зони*, като епителните клетки подпомагат възприемането на дразнения от околната среда.

Епителната тъкан представлява единна система изградена от голям брой клетки, подредени в редове или слоеве, малко слепващо, аморфно междуклетъчно вещество (подпомагащо клетъчните комуникации) и базална мембрана (*lamina basalis*) върху, която се разполагат всички клетки при еднослойните епителии или само първият ред клетки при многослойните. Базалната мембрана има опорна и защитна функция. Изпълнява полу-пропускливи свойства, които подпомагат транспортирането на вещества, чрез дифузия, от подлежащата съединителна тъкан към епителните клетки, както и обратно. Изгражда се основно от три типа клетки: преобладаващи; специализирани (жлезисти) клетки; слабо диференцирани (стволови клетки), които се делят постоянно и са отговорни за регенеративните способности на тъканта. Чрез секретите на специализираните жлезисти клетки често на повърхността на тъканта се образуват допълнителни образувания като косми, пера, люспи, нокти, рогови образувания, кутикула и др.). Епителните клетки притежават полярност. В епителната тъкан не навлизат кръвоносни съдове, но е добре инервирана. Притежава висока способност към регенерация (физиологична – перманентна и циклична и посттравматична).

Най-често се използва морфо-функционалната класификация, според която епителната тъкан се разделя на покритивен епител (*Epithelium superficiale*) и жлезист епител (*Epithelium glandulare*). *Покритивният епител бива три основни вида – еднослоен, преходен и многослоен.*

Еднослойният покривен епител. Изграден е от един ред епителни клетки, като всички лежат и комуникират с подлежащата базална мембрана. Разделя се на два вида: еднореден и многореден (псевдомногослоен). При едноредния, ядрата на клетките са на една и съща височина от базалната мембрана и в зависимост от формата на клетките се разделя на плосък, кубичен и призматичен (цилиндричен). При многоредния (напр. покрива вътрешната повърхност на много въздухоносни пътища – носна кухина, трахея, бронхи) ядрата на епителните клетки се намират на различна височина от базалната мембрана.

Преходен покривен епител. Постила вътрешната повърхност на някои отделителни органи – пикочно легенче, някои пикочопроводи, пикочен мехур. Изгражда се от три клетъчни зони. Има признаци на еднослоен многореден (тънки цитоплазмени връзки, свързват клетките от горните слоеве с базалната мембрана) и многослоен епител (с перманентна физиологична регенерация).

Многослойният покривен епител. Състои от голям брой клетки подредени в редове, влизащи в състава на слоеве с характерни морфологични, функционални и метаболитни особености. Най-често се разполага на повърхности подложени на натиск, опъване и триене. Разделя се на два подвида: невроговяващ и вроговяващ. Многослойният невроговяващ покривен епител покрива повърхности граничещи с влажна среда (напр. устна кухина, хранопровод, анус, влагалище при бозайници); епидермисен (риби, ларви на земноводни и др.). Изграден е от три слоя, като в зависимост от формата на клетките от повърхностния слой се разделя на плосък, кубичен и призматичен. Многослойният вроговяващ покривен епител покрива телесни повърхности, граничещи с външна суха среда. Изгражда епидермиса на кожата при влечуги, птици и бозайници. Състои се от голям брой редове от клетки (няколко, десетки и стотици) обединени в пет слоя. Характерен е с процес на вроговяване (кератинизация), със специализация и диференциация на епителните клетки. Най-външният, повърхностен вроговен слой, се състои от приплеснати, мъртви клетки, изпълнени с белтъка кератин, като последните един два реда непрекъснато отпадат и се заместват от по-долните редове. Регенерацията е физиологична – перманентна и посттравматична.

Жлезист епител. Клетките на тъканта имат способност да синтезират и отделят сложни специфични продукти наречени секрети. Разделя се на два вида – екзокринен и ендокринен. Екзокринните жлези отделят секрета си директно върху външни или вътрешни повърхности на организма, с помощта на изводни канали. Ендокринните жлези отделят секрети (инкрети, хормони) директно в телесната течност, кръвта или лимфата, без изводни канали.

Съединителна тъкан (Textus connectivus). Тази тъкан не контактува пряко с външна среда или вътрешни празнини. Връзката се извършва посредством епителната тъкан. През ембрионалното развитие на животните се залага от мезодермата и най-често се развива от мезенхимни клетки. *Основна функция* на съединителната тъкан е структурно-опорна като участва при изграждане и моделиране тялото на многоклетъчните животни. *Изпълнява още трофична и защитна функция, както и редица допълнителни функции.* Съединителната тъкан се изгражда от два основни компонента: клетки (cellulae textus connective) и междуклетъчно вещество (substantia intercellularis) или матрикс (т. нар. базова, аморфна субстанция). Клетките са разположени в междуклетъчното вещество по единично или на групички, като са разнообразни по функция и морфология. Не образуват редове (с малки изключения) или слоеве. Могат да бъдат фиксирани или подвижни. Междуклетъчното вещество включва съединителнотъканни извънклетъчни влакна (fibrae textus conectivi) (влакнести материали) и основна (базова) субстанция (substantia fundamentalis) известна още като аморфно вещество, както и тъканна течност. Основната субстанция на междуклетъчното вещество се изгражда от глюкозоамиоглигани (мукополизахариди) и адхезивни (структурни) гликопротеини. Влакнестите материали се структурират в три вида влакна – колагенови и ретикуларни от белтъка колаген и еластинови от белтъка еластин. Материалите за междуклетъчното вещество се синтезират и отделят от основните клетки на различните разновидности на съединителната тъкан. Съединителната тъкан притежава регенеративни възможности в различни граници, в зависимост от особеностите на разновидностите ѝ.

Според хистофизиологичната класификация съединителната тъкан се разделя на три групи: с недиференцирано междуклетъчно вещество (мезенхим, слизеста, хордална, пихтиеста); с влакнесто междуклетъчно вещество (хлабава, мастна, ретикуларна, пигментна, фиброзно-компактна и еластична, кръв); с твърдо междуклетъчно вещество (хрущялна и костна).

Кръв. Кръвта се състои от кръвни клетки (клетъчни елементи, формени елементи) и кръвна плазма. Клетъчните елементи са: червени кръвни клетки (еритроцити); бели кръвни клетки (левкоцити – гранулоцити и агранулоцити) и тромбоцити. Процесът на образуване на кръвните клетки

се означава като *хемопоеза*. При възрастните се осъществява се от червения костен мозък в костния канал на дългите тръбести кости. Кръвната плазма е течна междуклетъчно вещество на тъканта със сламеножълт цвят. Представлява колоид, в който има разтворени ниско и високомолекулни съединения. Съдържа основно вода (до 90%), белтъци (7-8%) и около 1% неорганични соли, други органични вещества – въглехидрати и мазнини. *Кръвта изпълнява следните функции*: хранителна – доставя до клетките хранителни вещества идващи от храносмилателната система; регулативна – транспортира и разпределя вода, неорганични и органични материали; дихателна – газообмен на кислород и въглероден двуокис в организма, извършва се от еритроцитите с помощта на белтъка хемоглобин; отделителна (чрез отделителната система изнася непотребни материали от метаболизма); защитна (чрез фагоцитоза, коагулационен механизъм, изработване на антитела и бактерицидни вещества, извършва се от левкоцитите и тромбоцитите); хомеостатична – участва в регулиране постоянното рН на средата и телесната температура.

Еритроцитите са най-многобройните кръвни клетки (милиони в 1 μ l) като варират при различните видове животни. Червеният им цвят се дължи на хромобелтъка *хемоглобин* – дихателен пигмент, който се свързва лесно с кислорода и лесно го отдава на тъканите. От тях също лесно приема CO_2 . Във връзка с осигуряване на по-голяма газообменна повърхност при гръбначните животни са установени следните еволюционни промени: изменение на формата (от елипсоидна – при рибите до двойноудълбнат диск – при човека); намаляване на размера и увеличаване на броя им (от клас Риби към клас Земноводни, Влечуги, Птици и Бозайници и човек); редукция на ядро и клетъчни органели при клас Бозайници и човек. Основната функция на еритроцитите е газообменна. *Левкоцитите* са високо специализирани кълбовидни ядрени клетки, разнородни по морфология и биологична роля. Броят им в 1 μ l кръв варира, но е значително по-малък от броя на еритроцитите и тромбоцитите. Левкоцитите са два подвида: гранулоцити (зърнести левкоцити) и агранулоцити (незърнести левкоцити). В зависимост от морфофункционалните особености гранулоцитите са три вида: неутрофили, еозинофили и базофили. Агранулоцитите се разделят на две групи: моноцити и лимфоцити. Левкоцитите изпълняват *защитна функция*. По-голяма част от тях имат свойството да фагоцитират, а други да изпълняват имунозащитна функция. Всички притежават ядро, клетъчен център, митохондрии, рибозоми и богати на хидролитични ензими лизозоми, което е показател за активна обмяна на веществата. Могат да преминават през ендотелните клетки на капилярите изграждащи стената им и да се установят в околните тъкани, най-често рехав съединителна тъкан, където осъществяват своите разнообразни функции. Левкоцитите участват в клетъчния и хуморален имуноен отговор на организма. *Тромбоцитите* при бозайниците и човека представляват безядрени цитоплазмени сегменти. Броят им у човека нормално е 150 – 400 000 в mm^3 и варира. Основната им функция е свързана с механизмите на кръвосъсирването. Кръвните клетки имат кратък живот и се възстановяват чрез перманентна физиологична регенерация.

Рехав (хлабава) съединителна тъкан. Това е най-широко разпространената тъкан от разновидности на съединителната тъкан. Няма пряк контакт с външната среда като контактува с нея посредством епителната тъкан. Участва в изграждането на всички органи в многоклетъчните организми. Рехавата (хлабава) съединителна тъкан участва в изграждането „скелета“ на органите в организма и моделиране на тялото. Задължително придружава кръвоносните, лимфните съдове и нерви. Заедно с тях навлиза и участва в изграждането на мускулите, сухожилията, фасциите, костите и др. Осъществява връзката на кожата с подлежащите органи затова най-голямо количество рехав съединителна тъкан има в подкожието. Участва в изграждането на лигавицата от стената на кухите тръбести органи. *Основната ѝ функция е свързваща.* Участва и в защитата на организма, транспортирането на хранителни вещества (трофична функция), благодарение на разнообразния ѝ клетъчен състав. Изгражда се от два основни компонента – клетки и междуклетъчно вещество. Клетките са основни (стволови и диференцирани) и допълнителни. Основните клетки са: фибробласти и фиброцити – синтезират и отделят материали за междуклетъчното вещество; хистеокити, мастоцити и плазмоцити – изпълняват обща защитна функция, стволови клетки – отговорни за регенерация и обновяване. Допълнителни клетки са: мастни, пигментни, някои видове левкоцити, мускулни клетки и др. Междуклетъчното вещество е в голямо количество (над 70% от теглото на тъканта) и включва аморфно, влакнесто вещество и тъканна течност. Трите вида влакна са застъпени в умерено количество, разпределени по единично в рехав мрежа, което придава общия рехав строеж на тъканта.

Хрущялна тъкан (*Textus cartilagineus*). Покрива ставните повърхности, подпомага растежа на дългите тръбести кости с оформянето на хрущялните пластинки в двата края на диафизата. Кръвоносни съдове в тъканта не навлизат. Транспортирането на необходимите вещества се извършва чрез дефузионни процеси. Изградена е от специфични клетки – хондробласти (млади клетки) и хондроцити (специализирани клетки), които синтезират материали за междуклетъчното вещество. В състава ѝ влиза и голямо количество междуклетъчно вещество с аморфна и влакнеста съставка. Хондроцитите се разполагат в кухини наречени лакуни. Обикновено са по няколко в една лакуна и произлизат от митотичните деления на един изходен хондробласт. Образуват т. нар. изогенни групички. Една изогенна групичка заедно с териториалния матрикс около нея оформят основната *функционалната единица на хрущяла – хондрон*. При гръбначните животни тъканта бива: хиалинна, еластична и влакнеста. Хрущялната тъкан има слаби регенеративни способности.

Костна тъкан (*Bone tissue*). Заедно с хрущялната тъкан участва в изграждането на осевия скелет, крайниците и в моделиране формата на тялото. Участва в минералния обмен на организма. Дейността на костната тъкан е под контрола на нервната и ендокринната система. Изгражда се от основни клетки: остеобласти и остеоцити (синтезират материали за междуклетъчното вещество) и остеокласти (т. нар. косторазрушители), които участват в ремоделирането на костната тъкан. Междуклетъчното вещество (каменно, твърдо) се състои от аморфно вещество и влакнести материали, основно колагенови влакна, които често са слепени успоредно от белтъка осеомукоид в пластинки или ламели. Минералните соли стигат до 55% от теглото на тъканта. В костната тъкан навлизат кръвоносни съдове. При гръбначните животни има два вида: грубовлакнеста и ламеларна (пластинчеста). Последната бива гъбеста и плътна с основна структурна и функционална единица – остеон (Хаверсова система). Остеонът се състои от: 4 – 20 бр. цилиндрично вмъкнати един в друг ламели от успоредно слепени колагенни влакна чрез белтъка осеомукоид; остеоцити; Хаверсов канал централно затворен, в който навлизат отвън кръвоносни съдове, малко рехавата съединителна тъкан и разклонение на нервни влакна. Костната тъкан има добра регенерация.

Мускулна тъкан (*Textus muscularis*). Представлява клетъчна общност от силно диференцирани и удължени мускулни клетки (миоцити) или мускулни влакна. Характеризират се със свойствата възбудимост, проводимост и съкратимост. Първите две се обуславят от свойствата на клетъчната мембрана (сарколема), а съкратимостта е пряко свързана с функционирането на специфични клетъчни органели наречени *миофибрили* и на съкратителните белтъци (филаменти) в тях – актин, миозин, тропомиозин и тропонин. През ембрионалното развитие при животните произлиза от мезодермата и се развива от мезенхимните клетки (мезенхима). Само миепителиите клетки имат ектодермален произход. Според структурната организация на съкратителния апарат тъканта се разделя на три основни вида – гладка, набраздена (косо и напречно набраздена) и миепителии клетки. Напречно набраздената бива скелетна и сърдечна (съкратителна, типична и импулсопроводна, нетипична). Основната структурна единица на скелетната мускулна тъкан е мускулното влакно – миофибра. На сърдечната мускулна тъкан е мускулната клетка кардиомиоцит. Запазвайки клетъчните си ограничения клетките се нареждат едно до друго и образуват мускулни влакна. Контактват помежду си чрез интеркаларни дискове. Основна структурна единица на гладката мускулна тъкан е мускулната клетка – лейомиоцит. Мускулната тъкан се характеризира с липсата на собствено междуклетъчно вещество. Тази роля се изпълнява от рехавата съединителна тъкан, която чрез тънки прослойки (малко количество) навлиза навътре в тъканта между клетките и влакната и като носи със себе си разклонения на кръвоносни съдове и нерви. Специфични клетъчни органели за набраздената мускулна тъкан са миофибрилите, които като тънки тръбички се намират по дължината на многоядрената миофибра. По дължината на всяка миофибрила се забелязват тъмни и светли зони (ивици), напречно разположени по дългата ос на влакното, където по специфичен начин са подредени молекулите на съкратителните белтъци – актин, заедно с тропомиозин и тропонин, и миозин. От пълното съвпадение на светлите и тъмни зони във всички миофибрили на една миофибра се определя напречното набраздяване по дължината му. При малко отклонение на това разположение се формира косо набраздяване – ивиците са наклонени. По средата на светлите зони, също напречно на дългата ос, се разполагат молекулите на белтъците дезмин и α актин. Те изграждат т. нар. Z-дискове. Разположението на молекулите на съкратителните белтъци се повтаря между два Z-диска. Разстоянието между два Z-диска се нарича *саркомер*, който представлява основната функционална единица на набраздената мус-

кулна тъкан. Скелетната мускулна тъкан се съкращава волево, под действието на централната нервна система, докато сърдечната и гладката мускулни тъкани се съкращават неволево, под действие на вегетативната нервна система. Регенерацията на тъканта е много ограничена. Възстановяването е по-скоро за сметка на рехава съединителна тъкан.

Нервна тъкан (Nervous tissue). Представлява комплекс от основни, специализирани нервни клетки наречени неврони (невроцити) и придружаващи, спомагателни глиеви клетки невроглия. Невроните са основна структурна и функционална единица на нервната тъкан. Функцията им е да: възприемат дразненията от околната среда и различните части на тялото; анализират, интегрират, трансформират информацията и да изработват съответни нервни импулси; препращат нервните импулси в посока към други неврони или органи от организма за подходяща реакция на организма (мускули или жлези). През ембрионалното развитие при гръбначните животни се развива от ектодермата, чрез процеса неврулация (затваряне на нервната тръба). Невроните са високо специализирани клетки. Изградени са от клетъчно тяло (перикарион – метаболитен център на клетката) и израстъци, които са: дендрити – къси, дървовидно разклоняващи се и един дълъг израстък – аксон. Дендритите възприемат и насочват получената информация в посока към перикариона. В аксона се генерират и провеждат нервните импулси към реагиращите клетки или други неврони. Невроните имат специфични клетъчни органели – *тигроидни тела и неврофибрили*. Тигроидните тела представляват големи комплекси от рибозоми и гранулиран ендоплазмен ретикулум, които в хистологични препарати се оцветяват базофилно, изпълват цитоплазмата, която наподобява на тигрова кожа. При по-малки размери се структурират като малки гранули – Нислови зърна/Нислови гранули. Това е показател за интензивен синтез на структурни и транспортни белтъци. Неврофибрилите са специфично структурирани и оформят цитоскелета на клетката. Разполагат се в перикариона и израстъците. Имат значение за поддържане на клетъчната форма и за транспортирането на различни субстанции и органели в израстъците. Невроглията изпълнява спомагателна функция в нервната тъкан – хранителна, секреторна, възстановителна (репаративна), опорна, защитна, регулаторна. Невроглията бива: епендимна глия (епителоподобни клетки, изграждат стената на празнини, напр. гръбначномозъчен канал); макроглия (астроцити – фиброзни и протоплазмени и олигодендроцити); микроглия (микроглиеви клетки със защитна функция, единствени имат мезодермален произход). Астроцитите имат основно регулаторна функция Протоплазмените астроцити са с многобройни къси и дървовидно разклоняващи се израстъци, чрез които влизат в междуклетъчни комуникации. Участват в изграждането на сивото мозъчно вещество. Влакнестите астроцити са с по-малко израстъци, но по-дълги и с по-малко разклонения. Те участват в изграждането на бялото мозъчно вещество. Олигодендроцитите са с малки размери, с къси израстъци. В бялото мозъчно вещество участват в образуването на миелиновата обвивка на миелиновите нервни влакна.

Ферментациите са анаеробни процеси на разграждане на субстратите, при които АТР се синтезира само чрез фосфорилиране на ниво субстрат и акцептор на водорода, отделен при биологичното окисление на субстратите е органично съединение. Микроорганизмите, осъществяващи ферментации са факултативни или облигатни анаероби. Факултативните анаероби, като ентеробактериите, в присъствие на кислород превключват метаболизма си на дишане. Облигатните анаероби не могат да синтезират компоненти на дихателна верига, свързана с кислород. Много от тях не понасят присъствието му – строги анаероби.

Микроорганизмите осъществуват няколко вида ферментация; класифицирането им се прави на базата на получените крайни продукти.

АЛКОХОЛНА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Редица гъби, някои бактерии, водорасли и протозои ферментират захарите до етанол и CO_2 в процес наречен алкохолна ферментация. Дрождите (*Saccharomyce*) разграждат глюкозата (и други захари) в гликолитичния обменен път. Полученият пируват се декарбоксилира до ацеталдехид от ензима *пируват декарбоксилаза*. Ензимът е ключов за ферментационния процес и съдържа тиаминпирофосфат. Ацеталдехидът се редуцира до етанол от *алкохолдехидрогеназа* и по този начин водородният баланс остава постоянен (Фиг. 1). В анаеробни условия ферментацията на глюкоза е много интензивна, но дрождите почти не растат. При аерация, ферментацията отслабва и започва дишане. Този феномен е известен като **ефект на Пастър**. Аерацията понижава консумацията на глюкоза и образуването на етанол; стимулира се растежа на дрождите. В ефекта на Пастър участват няколко регулаторни механизма. Един от тях се проявява на нивото на процесите на фосфорилиране. В основата му е **конкуренцията за ADP и P_i** . Окислението на глицералехид-3-фосфата в гликолитичния път се нуждае от ADP и P_i . В аеробни условия дихателната верига и окислението на глицералехид-3-фосфата се конкурентират за ADP.

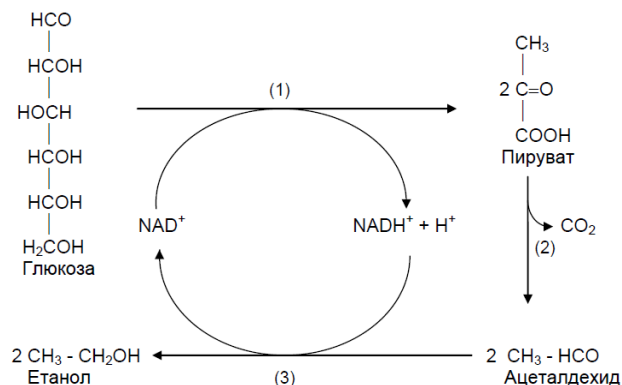
Вторият регулаторен механизъм е **алостеричния контрол на активността на фосфофруктокиназата**.

Този ензим алостерично се инхибира от АТР. В присъствие на АТР се увеличава сигмоидалността на кривата на насищане на ензима със субстрат. АМР действа като положителен ефектор и елиминира подтискащия ефект на АТР.

Освен глюкоза, дрождите могат да ферментират и пируват. Междинен продукт е ацеталдехид и това се доказва чрез прибавяне на NaHSO_3 . Той се свързва с ацеталдехида (образува се ацеталдехидсулфит), който не може да акцептира водорода от редуцирания NAD. Тази функция се поема от дихидроксиацетонфосфат, който се редуцира до глицерол-3-фосфат и дефосфорилира до глицерол. Тази модифицирана ферментация Нойберг нарича **втора форма** на алкохолната ферментация. Използва се за получаване на глицерол.

Прибавянето на NaHCO_3 или Na_2HPO_4 към ферментиращия разтвор също води до образуване на глицерол, тъй като ацеталдехида се превръща в етанол и ацетат в резултат на реакция дисмутация. Това е **третата форма** на алкохолната ферментация по Нойберг. Класическата алкохолна ферментация Нойберг нарича **първа форма**.

Съществуват няколко вида бактерии, които осъществяват алкохолна ферментация. *Zyotomonas mobilis* (изолиран от ферментиращия сок на мексиканския кактус *Agave mexicana*) и *Zyotomonas anaerobica* превръщат глюкозата в пируват по пътя на Ентнер-Дудороф. Тези бактерии съдържат ензима *пируват декарбоксилаза*. Продукти на ферментацията са етанол, CO_2 и не-



Фиг. 1. Алкохолна ферментация при дрожди.

(1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват декарбоксилаза; (3) алкохол дехидрогеназа

големи количества лактат. *Sarcina ventriculi* и *Ervinia amylovora* ферментират глюкозата до пируват по гликолитичния път. Пируватът се превръща в C_2H_5OH и CO_2 с ензимите *пируват декарбоксилаза* и *алкохол дехидрогеназа*. *Sarcina ventriculi* образува като странични продукти ацетат и молекулен водород, а *E. amylovora* – лактат.

При бактериите сравнително рядко се среща ензимът *пируватдекарбоксилаза*. Много млечнокисели бактерии, ентеробактерии и *Clostridium spp.* образуват значителни количества етанол, но при тях отсъства пируват декарбоксилаза. Ацеталдехид се образува при редукция на ацетил-СоА в реакцията, катализирана от *ацеталдехид дехидрогеназа*.

МЛЕЧНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

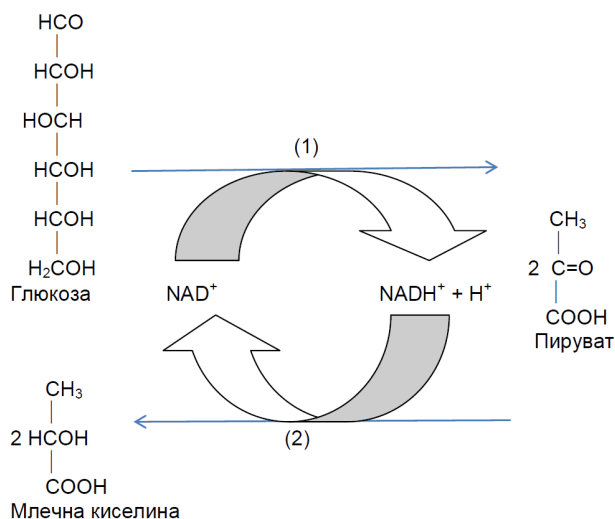
Млечната киселина (лактат) е широко разпространен краен продукт на ферментационните процеси, а няколко рода бактерии, наречени млечнокисели, продуцират млечна киселина в големи количества. Млечнокиселите бактерии от родове *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* се отнасят към **Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. Те са Грам-положителни; пръчковидни и кълбовидни; неспорообразуващи, предимно неподвижни. Аеротолерантни анаероби с ферментативен метаболизъм; не съдържат хемопротеини, като цитохроми и каталаза. Всички млечнокисели бактерии се отличават с висока захаролитична активност и отсъствие на повечето анаболитни пътища, което обуславя голяма високостепенност към хранителните субстрати. Тези микроорганизми се развиват в растителни тъкани и разлагащи се растителни остатъци (*Lactobacillus plantarum*, *L. delbrückii*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*), мляко и млечни продукти (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*), чревния тракт и слизестите обвивки на човек и животните (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus faecalis*, *S. salivarius*, *S. bovis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*).

Род *Bifidobacterium* се отнася към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Всички представители на род *Bifidobacterium* са строги анаероби; те не понасят кислород; за развитието им е необходима атмосфера, съдържаща 10% CO_2 . *Bifidobacterium bifidum* е с V- или Y-образна форма, откъдето е получил името си (лат. *bifidus* – раздвоен). Преобладава в чревния тракт на кърмачета (бифидобактерии се откриват и в дебелото черво на възрастни хора), тъй като се нуждае от въглехидрати, съдържащи N-ацетилглюкозамин, който се съдържа в човешката кърма (но не в кравето мляко).

Млечнокиселите бактерии осъществяват няколко вида ферментация.

1. Хомоферментативна млечнокисела ферментация – млечната киселина е преобладаващ продукт (повече от 90% от всички продукти). Глюкоза се превръща в гликолитичния път до пируват, който акцептира водорода от глицералдехид-3-фосфат дехидрогеназната реакция и се редуцира до млечна киселина с ензима *лактат дехидрогеназа* (Фиг. 2). От 1 mol глюкоза се получават 1.8 mol млечна киселина. Енергетичният баланс на ферментацията е 2 mol ATP на 1 mol изразходвана глюкоза.

2. Хетероферментативна млечнокисела ферментация – получават се приблизително 50% млечна киселина и 50% други продукти. Хетероферментативните млечнокисели бактерии не притежават ензимите *алдолаза* и *триозофосфат изомераза*. Глюкозата се превръща в пентозофосфатния път до ксилулозо-5-фосфат, който в реакция, катализирана от *пентозофосфокетолаза* се разпада до глицералдехид-3-фосфат и ацетилфосфат. Глицералдехид-3-фосфатът се превръща в лактат, а ацетилфосфатът през ацетил-СоА и ацеталдехид в етанол. Други млечнокисели бактерии (*Lactobacillus brevis*) превръщат ацетилфосфата изцяло или частично в ацетат, при което макроергичната връзка се пренася върху ADP – синтезира се ATP. Излишъкът



Фиг. 2. Хомоферментативна млечнокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) лактат дехидрогеназа.

от водород се поема от глюкоза, която се редуцира до манитол. Балансът на хетероферментативната млечнокисела ферментация е 1 mol ATP на всеки mol изразходвана глюкоза.

МРАВЧЕНОКИСЕЛА (СМЕСЕНА) ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРИ ЕНТЕРОБАКТЕРИИ

Представителите на разред *Enterobacteriales* се отнасят към **Група 2 – Протеобактерии, γ-Протеобактерии**. Те са Грам-отрицателни, неспорообразуващи пръчици; хемоорганотрофи. Факултативни анаероби. Условно-патогенни микроорганизми.

Род *Escherichia* – къси пръчици; неподвижни и подвижни; подвижните форми са перитрихи. *Escherichia coli* населява чревния тракт на животните и човек няколко часа след раждането и е нормален коменсиал. При определени условия може да предизвика заболявания – уринарни, интестинални инфекции, менингити, вътреболнични инфекции. Запазва известно време жизнеспособност и извън стомашно-чревния тракт, поради което лесно се изолира. Използва се като тест-микроорганизъм за установяване на фекалното замърсяване на питейна вода.

Род *Enterobacter* – подвижни пръчици (перитрихи), разпространени в почва, вода, интестиналният тракт на човек и животни. Ферментират захарите с отделяне на газ. Могат да причинят, макар и рядко менингити, сепсиси, раневни инфекции, вътреболнични инфекции.

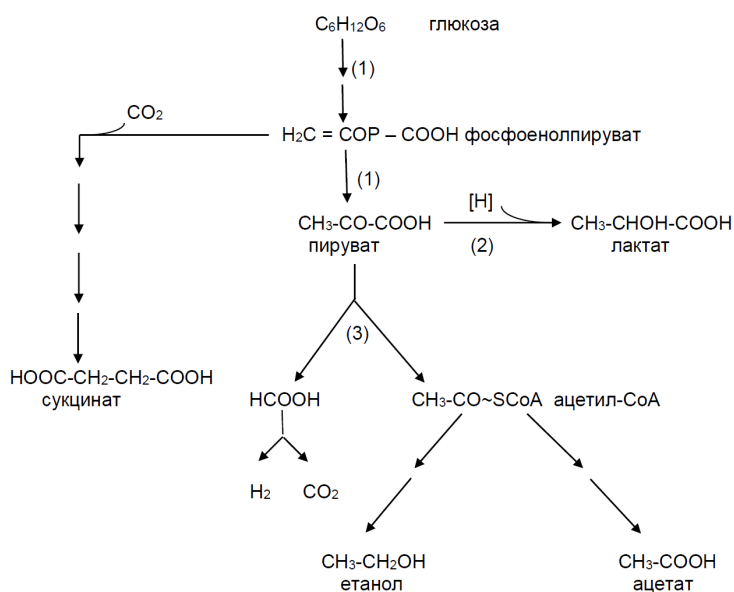
В отсъствие на кислород ентеробактериите осъществяват два вида смесена ферментация.

1. Родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* ферментират захарите до млечна, оцетна, мравчена, янтарна киселини, неголеми количества C_2H_5OH , CO_2 и H_2 .

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път. На ниво фосфоенолпируват (ФЕП) се отделя разклонението за синтез на янтарна киселина. Останалата част от ФЕП се превръща в пируват. Значителна част от него се редуцира до млечна киселина; бактериите от родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* продуцират значителни количества млечна киселина. От пируват с ензимния комплекс *пируват:формиат лиаза* (ключов за ферментацията) се получава ацетил-СоА и мравчена киселина. Мравчената киселина е краен продукт, но част от нея се разпада до CO_2 . Ацетил-СоА се превръща в етанол и в оцетна киселина (Фиг. 3).

2. Родове *Enterobacter* и *Erwinia* за сметка на киселините образуват значителни количества C_2H_5OH , CO_2 и 2,3-бутандиол – **бутандиолова** ферментация.

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път до пируват (няма разклонение на ниво ФЕП, т.к. не се получава сукцинат). Малка част от пирувата се редуцира до млечна киселина. От пируват, с ензима *пируват:формиат лиаза* се получават формиат и ацетил-СоА. Част от формиата се разпада до CO_2 и H_2 , а ацетил-СоА изцяло се превръща в етанол. От пирувата се получава 2,3-бутандиол – специфичен продукт, който дава име на ферментацията. Двата вида ферментация се разграничават чрез реакция с метилрот (MR) и реакция на Фогес-Проскауер (VP).



Фиг. 3. Смесена ферментация при *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

(1) ензими на гликолитичния път;
(2) лактат дехидрогеназа
(3) пируват:формиат лиаза.

МАСЛЕНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

През 1861 г. Луи Пастър открива ферментация на захари, при която се получава бутират. Осъществява се от облигатни анаероби, представители главно на 4 рода: *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*.

Видовете *Clostridium* поглъщат захарите с фосфотрансферазна система; хексозите се разграждат до пируват в гликолитичния обменен път; пируватът се превръща в ацетил-CoA, CO_2 и H_2 под действието на ензима *пируват:ferredоксин оксидоредуктаза*, който е ключов за ферментацията. Двете молекули ацетил-CoA кондензират, при което се формира ацетоацетил-CoA, който постепенно се превръща в маслена киселина (Фиг. 4). Енергетичният баланс на ферментацията е 3 mol ATP на 1 mol глюкоза.

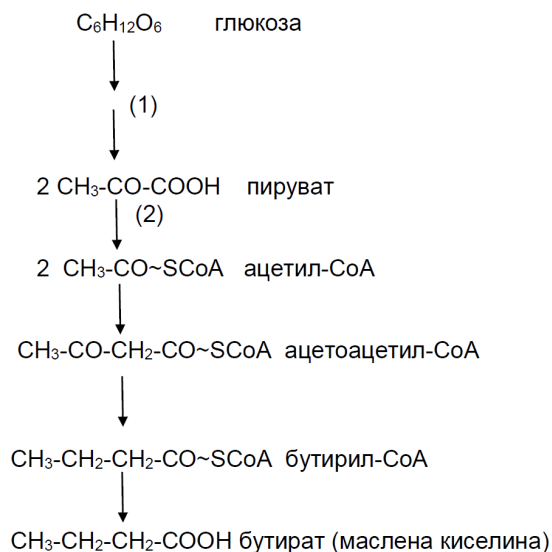
Clostridium acetobutylicum ферментират глюкозата до бутират, бутанол и ацетон. Първоначално се образува бутират, но подкислението на средата активира ензими (като *ацетоацетат декарбоксилаза*), които катализират образуването на бутанол и ацетон. Процесите на синтез на различните продукти са свързани. Декарбоксилирането на част от ацетоацетата води до загуба на част от потенциалния акцептор на водорода от редуцирания NAD, който се прехвърля върху бутирил-CoA – образува се бутанол. В процеса се включва, след активиране, постъпващия от средата бутират. Някои щамове редуцират ацетона до 2-пропанол. Ако рН се поддържа на ниво по-високо от 5.0, образуването на ацетон и бутанол силно се подтиква.

Род *Clostridium* се отнася към **Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. *Clostridium* са Грам-положителни; стари култури могат да се оцветят отрицателно по Грам. Изоларат се от почва, оборски тор, замърсени води, храносмилателния тракт на животни и човек. Повечето видове са подвижни перитрихи (срещат се и неподвижни). Образуват терморезистентни спори, които са кръгли или елипсовидни и променят формата на клетката. През определени етапи от развитието си клетките съдържат гранулеза (скорбялоподобно вещество), която се оцветява от йод в синьо. Натрупването на гранулеза се използва като таксономичен белег. *Clostridium* се отличават с изразен ферментативен тип метаболизъм. Анаероби с преходни форми – от строги анаероби (*C. pasteurianum*, *C. kluyveri*) до почти аеротолерантни (*C. histolyticum*, *C. acetobutylicum*). Не съдържат хемопротеини (цитохроми и каталаза). Повечето видове са мезофилни (opt.t 30 – 37°C), но се срещат и термофилни, като *C. thermoaceticum*, *C. thermohydro-sulfuricum*. *Clostridium* се различават силно по отношение на субстратите, които могат да ферментират. Захаролитичните видове разграждат предимно полизахариди, а пептолитичните – белтъци и аминокиселини. Оптимално рН за развитието е 6.5 – 7.2. Някои пептолитични *Clostridium* могат да причинят болести при раневи инфекции (газова гангрена и тетанус), а също така хранителни отравяния.

ПРОПИОНОВОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Пропионовокиселите бактерии обитават търбуха и чревния тракт на преживните животни, където превръщат млечната киселина, получена при различни ферментационни процеси в пропионова. Пропионова киселина образуват видовете *Propionibacterium*, *Selenomonas*, *Micromonospora* и *Clostridium propionicum*.

Род *Propionibacterium* се отнася към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Плеоморфни пръчици с размери 0.5 – 0.8 x 1.0 – 5.0 μm . Срещат се поединично, по двойки, в къси верижки, в Y или V образни конфигурации. Неспорообразуващи, неподвижни. При неблагоприятни условия формират бухалковидни форми. Не растат на твърди



Фиг. 4. Масленокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват:ferredоксин оксидоредуктаза

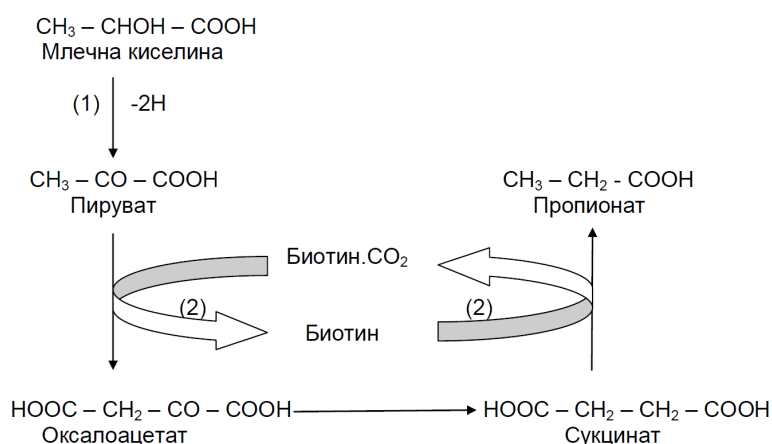
среди при достъп на въздух. Анаероби, но притежават вариабилна аеротолерантност. Притежават цитохроми и каталаза. Оптимална температура за развитие – 30-37°C. Хемоорганотрофи. Откриват се главно в сирене и млечни продукти и са част от нормалната микрофлора на човешката кожа. Ферментират глюкоза, захароза, лактоза, пентози, малат, глицерол, лактат с образуване на значителни количества пропионат. При ферментацията се получават също ацетат и неголеми количества CO₂.

Род *Micromonospora*. Проактиномицети; отнасят се към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Притежава добре развит, разклонен, септиран субстратен мицел. Въздушен мицел липсва. Грам-положителни клетки. Стената съдържа *meso*-диаминопимелинова киселина и глицин. Аероби и микроаероби. Хемоорганотрофи. Чувствителни са към рН стойности под 6.0. Растат при температури 20 – 40°C. Обитават почва, води (морски и сладководни), седименти. Няколко вида се откриват в интестиналния тракт на термити и търбуха на овце.

Формирането на пропионата става по два пътя; превръщането на глюкозата се осъществява по гликолитичния обменен път.

1. Сукцинат-пропионатен път. Функционира при повечето пропионовокисели бактерии. Първоначално, пируватът се карбоксилира до оксалоацетат. В реакцията участва биотин, като преносител на CO₂; CO₂ се използва циклично. Оксалоацетатът се превръща в сукцинат. Сукцинатът се активира и декарбоксилира до пропионат (Фиг. 5).

2. Акрилоил-СоА път. Функционира при *Clostridium propionicum*. Междинен продукт е акрилоил-СоА. Субстрат може да бъде L-, D- или DL-лактат, които претърпяват взаимни превръщания под действие на ензима *лактат рацемаза*. Част от млечната киселина се окислява до пируват, от който се получава ацетил-СоА, CO₂ и редуцират ферредоксин с ензима *пируват:ферредоксин оксидоредуктаза*. Ацетил-СоА се превръща в оцетна киселина. Останалата част от лактата се превръща в лактил-СоА, от който се получава акрилоил-СоА. Следва редукция до пропионил-СоА и освобождаване на пропионат. Донори на електрони са редуцирания флавопротеин и редуцирания ферредоксин, получени в другото разклонение на пътя. Крайни продукти в този път са пропионова и оцетна киселини и CO₂.



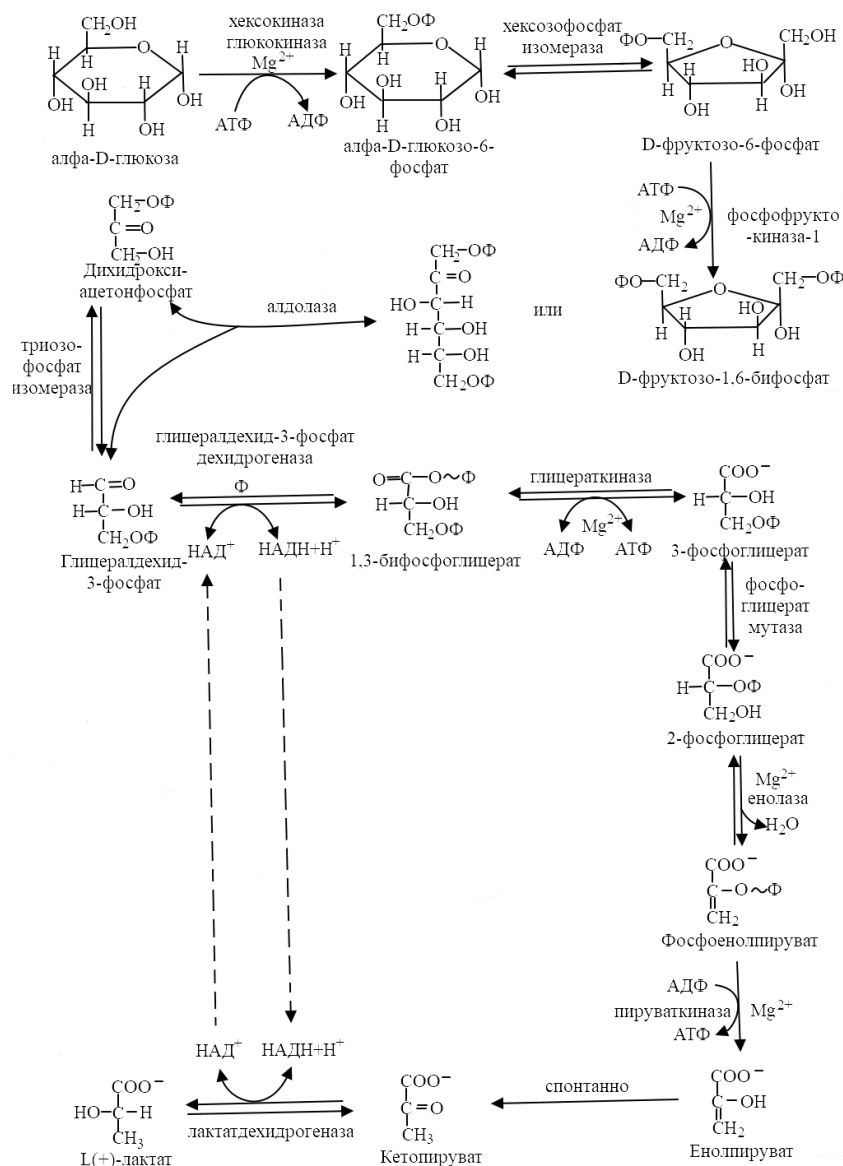
Фиг. 5. Сукцинат-пропионатен път на пропионовокисела ферментация. (1) лактат дехидрогеназа; (2) транскарбоксилаза

1. Катаболизъм на въглехидрати

Въглехидратите са най-предпочитаният източник за окислително разграждане, в хода на което организмите получават енергия в използвана форма. Разграждането на въглехидратите протича в два етапа: 1) полизахаридите и олигозахаридите се разграждат до монозахариди; 2) монозахаридите се разграждат до CO_2 и H_2O .

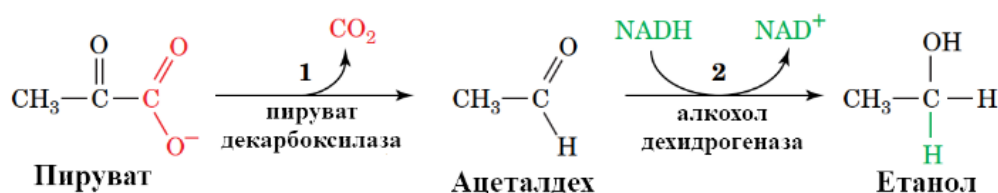
1.1. Анаеробно разграждане на глюкоза – гликолитичен обменен път (гликолиза)

Разграждането на глюкозата (респ. др. монозахариди) в клетката започва в цитоплазмата, при анаеробни условия, по гликолитичния обменен път, наречен гликолиза. В хода на гликолизата, 1 молекула глюкоза се разгражда до 2 молекули пирогроздена киселина (пируват), а отделената енергия се съхранява в макроергични връзки – синтезира се АТФ (Фиг. 1., Г. Косекова – Лекции по биохимия).



Фиг. 1. Реакции в гликолитичната верига.

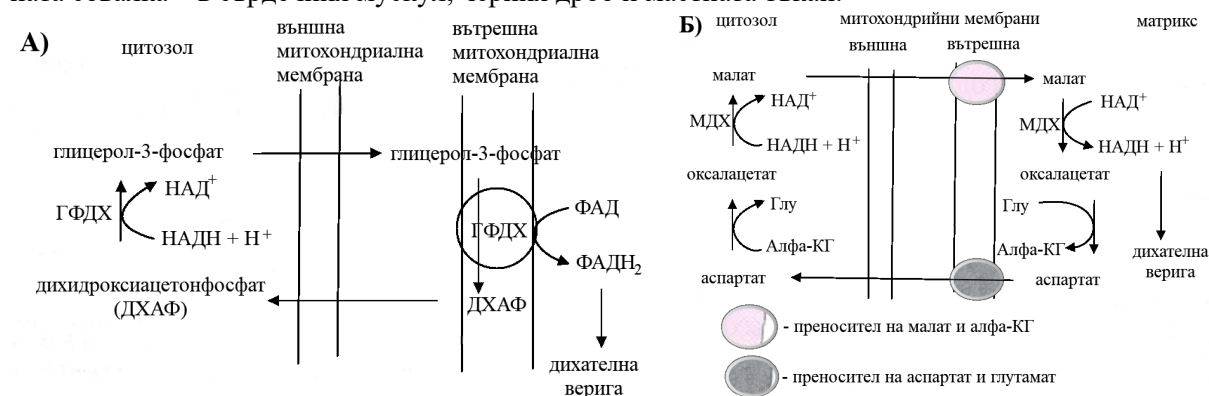
При анаеробни условия, напр. при хлебни дрожди *Saccharomyces cerevisiae*, пируватът се превръща в етанол (алкохолна ферментация) (Фиг. 2. Voet & Voet, 5th Ed.)



Фиг. 2. Анаеробно разграждане на пируват до етанол (алкохолна ферментация).

1.2. Връзки меду гликолиза и дихателни вериги

Вътрешната митохондриална мембрана е непропусклива за НАДН и НАДФН, които се отделят в хода на окислителните процеси в цитоплазмата (вкл. гликолизата). Установени са 2 совалкови механизма, осъществяващи преноса на водород от цитоплазмата към митохондриите, където се осъществява транспортирането му по дихателните вериги до кислорода: 1) глицеролфосфатна совалка; 2) малатна совалка (Фиг. 3, Г. Косекова – Лекции по биохимия). При разграждане на 1 молекула глюкоза до 2 молекули пируват по гликолизата (2АТФ) и при използване на глицеролфосфатна совалка (4АТФ) или малатна совалка (6АТФ) се синтезират 6 и съответно 8 молекули АТФ. Глицеролфосфатната совалка действа в скелетните мускули и мозъка, а малатната совалка – в сърдечния мускул, черния дроб и мастната тъкан.

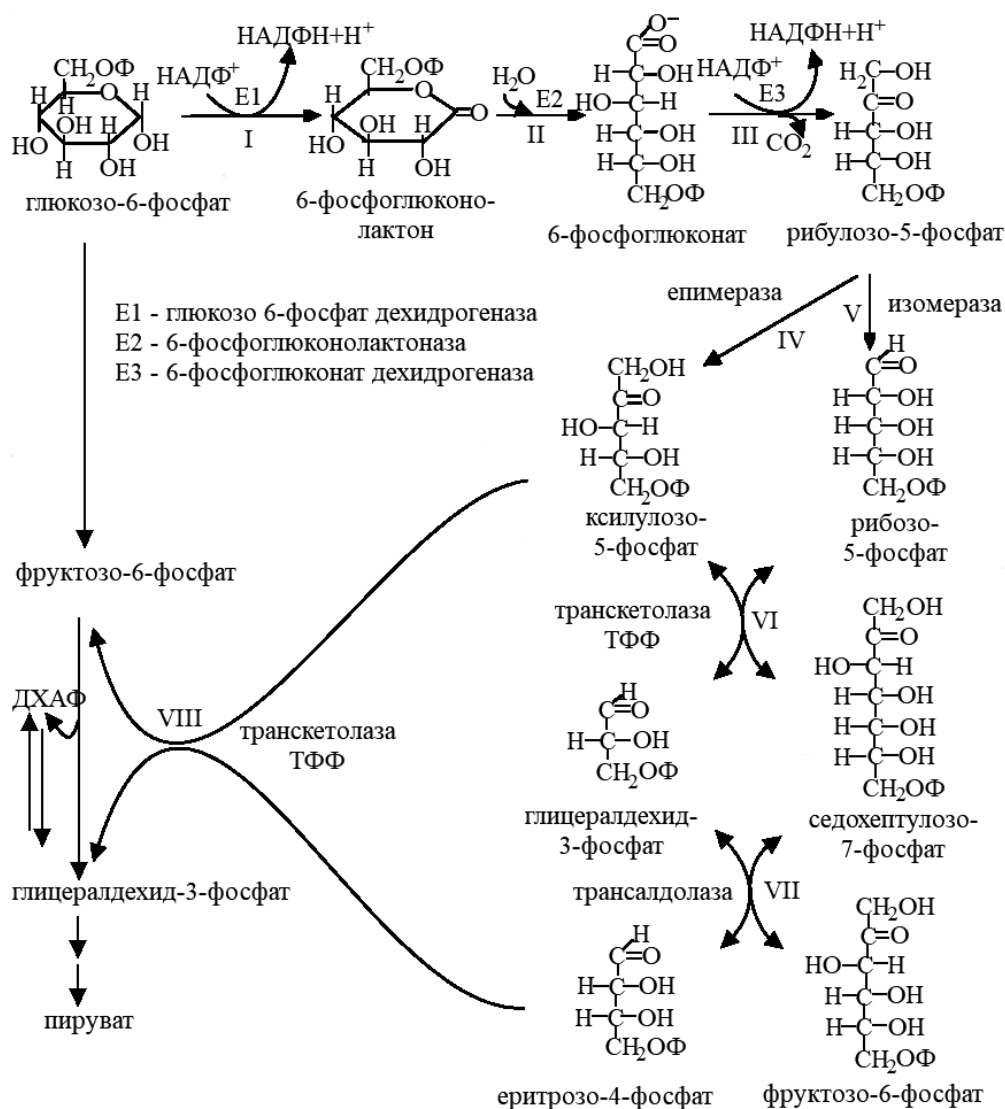


Фиг. 3. Совалкови механизми за пренос на водород от цитоплазмата към дихателните вериги в митохондриите. А) Глицеролфосфатна совалка. Б) Малатна совалка. Съкращения: ГФДХ – глицеролфосфат дехидрогеназа; МДХ – малат дехидрогеназа; Глу – глутамат; α-КГ – α-кетоглутарат.

1.3. Други пътища за разграждане на глюкоза

1.3.1. Пентозофосфатен път (ПФП)

ПФП протича в цитоплазмата при анаеробни условия и се отклонява от гликолизата на нивото на глюкозо-6-фосфат. Отново се влива в гликолизата на нивото на фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат. В хода на ПФП се получава НАДФН, който е необходим за синтезните процеси. Получава се рибозо-5-фосфат, който се използва в биосинтеза на нуклеотиди, а от тях и на нуклеинови киселини. Полученият глицералдехид-3-фосфат се използва за получаване на глицерол-3-фосфат в мастна тъкан за синтеза на триацилглицероли (Фиг. 4, Г. Косекова – Лекции по биохимия).



Фиг. 4. Пентозофосфатен път, в който 3 молекули глюкозо-6-фосфат се превръщат в 3 CO_2 , 2 фруктозо-6-фосфат и 1 глицералдеhid-3-фосфат. Вляво вертикално е представена схематично гликолизата. В реакции VI и VIII, катализирани от транскетолаза, се пренасят C_2 -фрагменти. C_3 -фрагмент се пренася от трансалдолазата в реакция VII.

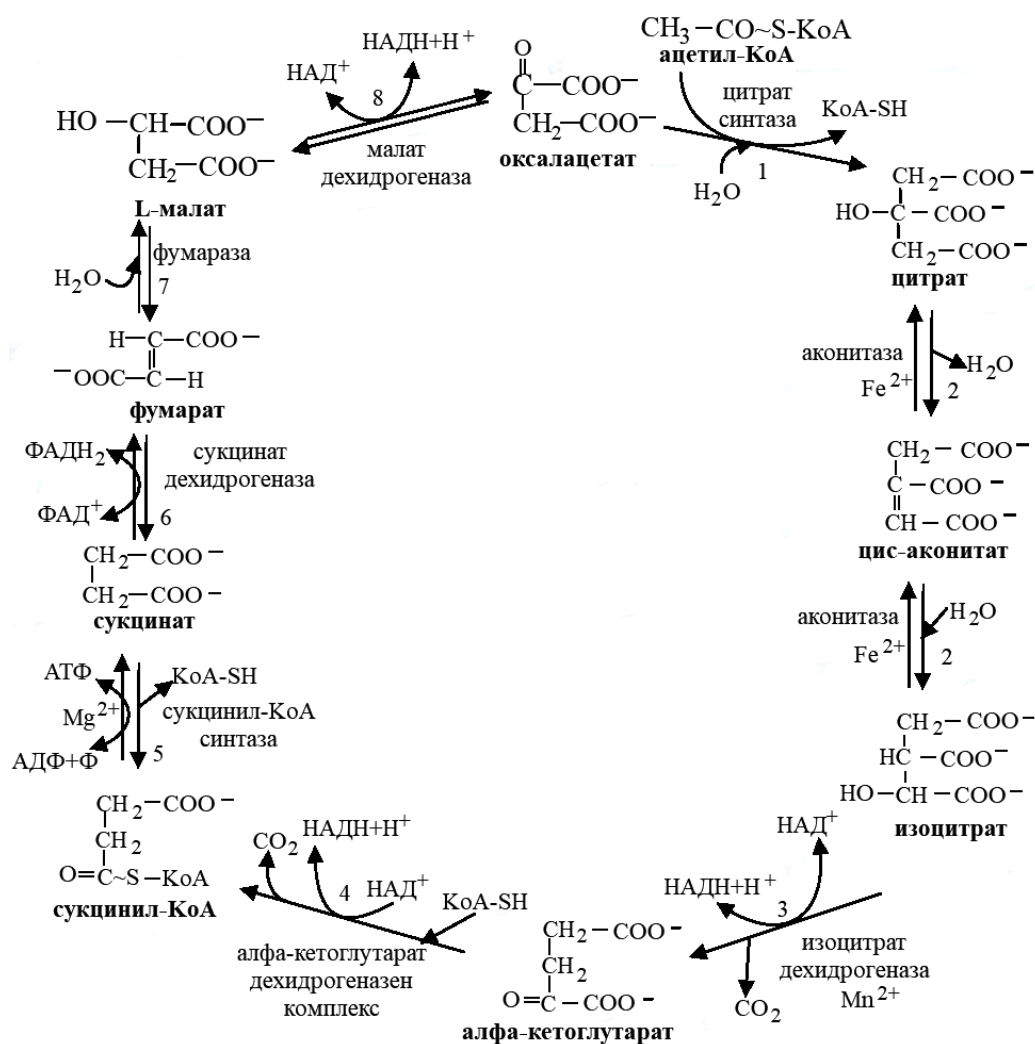
Ензими: I – глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа; II – лактоназа; III – 6-фосфоглюконат дехидрогеназа; IV – еписмераза; V – изомераза; VI – транскетолаза; VII – трансалдолаза; VIII – транскетолаза.

1.2. Цитратен цикъл (цикъл на Кребс)

Серия от реакции, катализирани от осем ензима, които разграждат ацетиловата група на ацетил-КоА до CO_2 и H_2O (Фиг. 5, Г. Косекова – Лекции по биохимия). Протича в митохондриалния матрикс при аеробни условия. Главен източник на АТФ – отделя се водород от отделните метаболити, който се поема от НАД и ФАД и се подава към дихателните вериги – синтезира се АТФ. Главен катаболитен път за разграждане на въглехидрати, мазнини и белтъци. Цикълът на Кребс е тясно свързан и с анаболитните процеси – от негови метаболити започват важни синтезни пътища.

Енергиен добив от цитратния цикъл. От разграждането на 1 молекула ацетил-КоА в цикъла на Кребс се получават 12 молекули АТФ. От 1 молекула глюкоза се получават 2 молекули ацетил-КоА, от които се синтезират 24 молекули АТФ в комбинацията цикъл на Кребс + дихателни вериги.

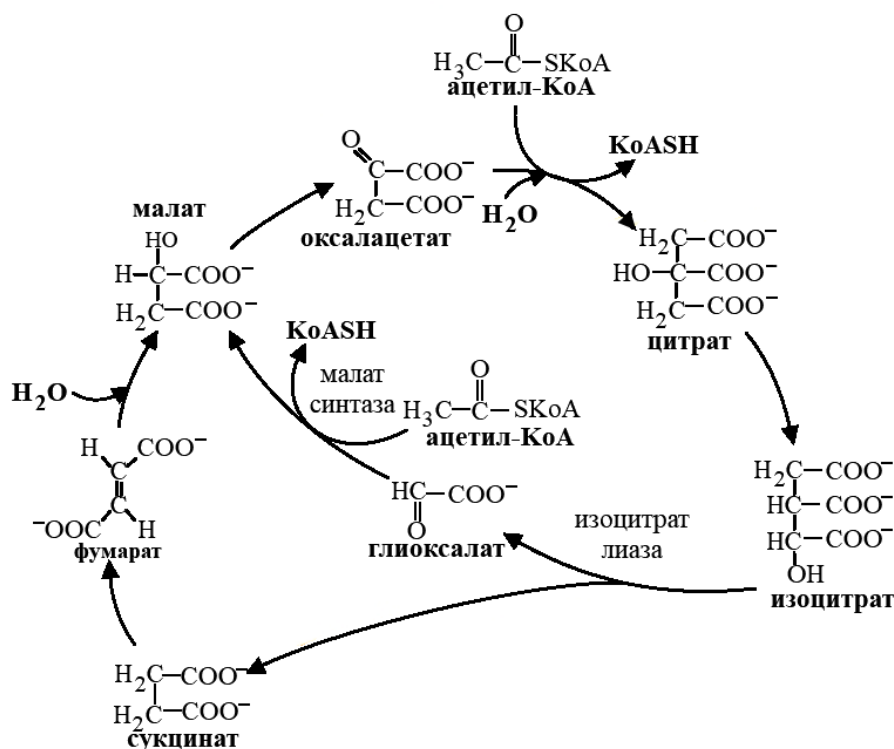
Енергиен добив при анаеробно и аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза до CO_2 и H_2O : гликолиза (2 молекули АТФ) + совалкови механизми за пренос на редуциращи еквиваленти (6/4 молекули АТФ) + окислително декарбоксилиране на пируват до ацетил-КоА (6 молекули АТФ) + цикъл на Кребс (24 молекули АТФ) = 38/36 молекули АТФ.



Фиг. 5. Реакции на цитратен цикъл. 1 – Кондензация на оксалацетат и ацетил-КоА до цитрат; 2 – превръщане на цитрат в изоцитрат; 3 – окислително декарбоксилиране на изоцитрат (като β-хидроксикиселина) до α-кетоглутарат; 4 – окислително декарбоксилиране на α-кетоглутарат (като α-кетокиселина) до сукцинил-КоА; 5 – енергията на тиоестерната макроергична връзка на сукцинил-КоА се пренася върху АДФ и се получава сукцинат и АТФ на субстратно ниво; 6 – Дехидрогениране на сукцинат до фумарат; 7 – хидратиране на фумарат до малат; 8 – дехидрогениране на малат до оксалацетат.

1.3. Глиоксалатен цикъл

Представлява скъсен вариант на цикъла на Кребс. Характерен за някои микроорганизми и растения. При еукариотните организми е локализиран в специализирани цитоплазмени органели – глиоксисоми. От включени в цикъла 2 молекули ацетил-КоА се синтезира оксалацетат или негов предшественик от цитратния цикъл – малат, фумарат или сукцинат. Не се отделя CO_2 (не се разгражда органично съединение), но има окислителни стъпала – печели се енергия (макар и по-малко). Има синтетично значение – получения оксалацетат респ. малат да се използват за синтез на въглехидрати; да се синтезират аминокиселини. Използва се от микроорганизми и прорастващи растения за превръщане на мазнини във въглехидрати и в аминокиселини (белтъци) (Фиг. 6 Г. Косекова – Лекции по биохимия).



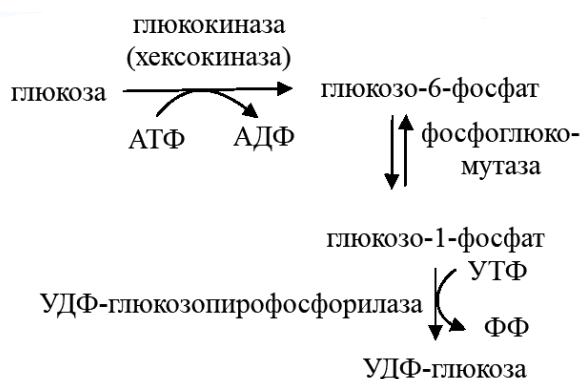
Фиг. 6. Глиоксалатен цикъл

2. Биосинтез на олиго- и полизахариди

Олигозахаридите са най-често междинен продукт от разграждането и/или биосинтезата на полизахаридите. Под действие на α -амилаза, вътрешните α -1,4-гликозидни връзки в хомополизахаридите скорбяла и гликоген биват хидролизирани до получаване на смес от малтоолигозахариди с разклонена структура. Под действие на α -1,6-глюкозидаза, биват хидролизирани α -1,6-разклоненията в скорбялата и гликогена.

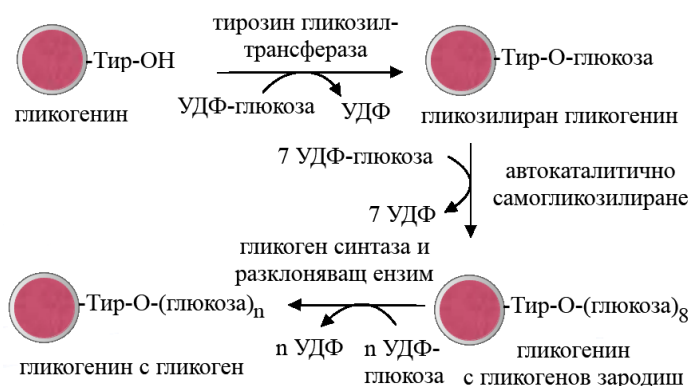
2.1. Биосинтез на гликоген.

Синтезата на гликоген в започва с активиране на глюкозата до УДФ-глюкоза. Хексокиназа в мускулите и глюкокиназа в черния дроб фосфорилират глюкозата до глюкозо-6-фосфат (Фиг. 7. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



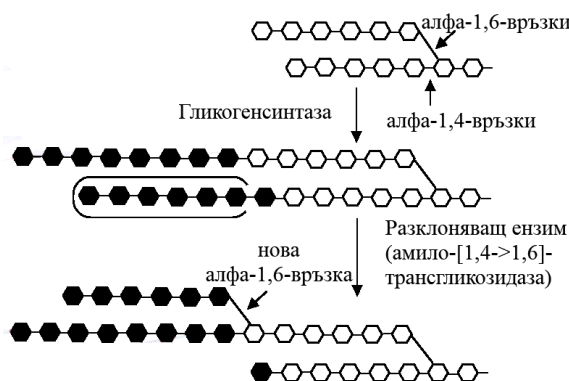
Фиг. 7. Активиране на глюкоза до УДФ-глюкоза при синтезата на гликоген.

За синтезата на гликоген е нужен зародиш от поне 7 глюкозни остатъка, свързани с α -1,4-гликозидни връзки. Той се образува с участието на ензимите тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин (автогликозилиращ се ензим) (Фиг. 8. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



Фиг. 8. Образуване на гликогенов зародиш (праймер), с участието на тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин.

Полученият къс фрагмент е зародишът, необходим за действие на гликоген синтазата. Тя удължава веригата, добавяйки един по един глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, образувайки α -1,4-гликозидни връзки (**Фиг. 9. Г. Косекова – Лекции по биохимия**).

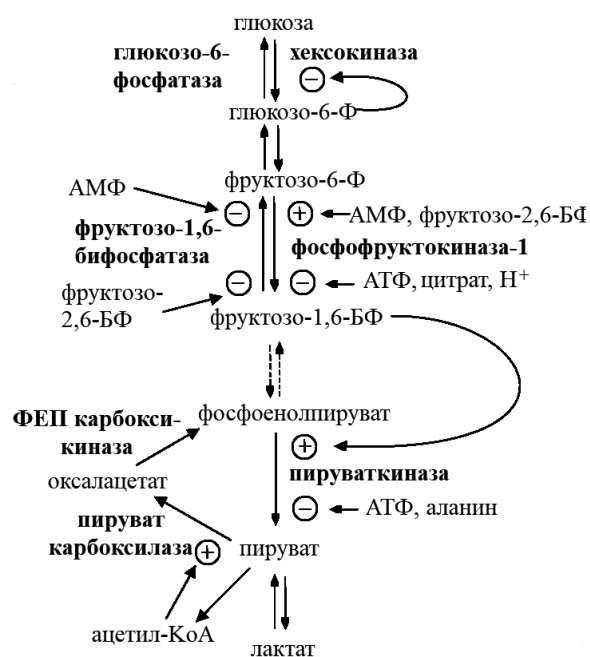


Фиг. 9. Действие на гликоген синтаза за удължаване на веригата и на амило-(1,4 $\rightarrow$ 1,6)-трансгликозидаза за разклоняване на веригата. Синтазата прехвърля глюкозни остатъци (един по един) от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, а разклоняващият ензим прехвърля фрагмент от 7 остатъка от главната верига към -ОН група на 6-о място в глюкозен остатък от същата или друга верига.

3. Регулация на въглехидратния метаболизъм

3.1. Регулация на гликолиза и глюконеогенеза

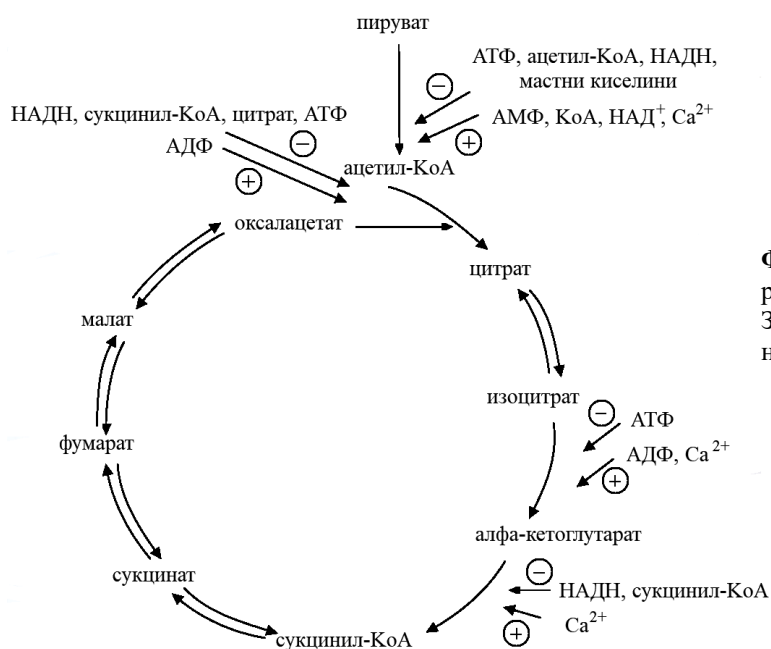
Гликолизата и глюконеогенезата не протичат едновременно, а се регулират реципрочно, в зависимост от нуждите на организма. Регулаторни ензими за глюконеогенеза са: пируват карбоксилаза, ФЕП карбоксикиназа, фруктозо-1,6-бифосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза (**Фиг. 10, Г. Косекова – Лекции по биохимия**). Катализираните реакции са екзергонични и необратими. Най-важният регулаторен ензим при глюконеогенезата е фруктозо-1,6-бифосфатазата – инхибира се алостерично от фруктозо-2,6-бифосфат, който активира фосфофруктокиназа-1 от гликолизата. Балансът между гликолиза и глюконеогенеза е под хормонален контрол. В черния дроб, при ниско ниво на глюкоза, глюкагонът стимулира образуване на АМФ, който активира протеин киназа А да фосфорилира фосфофруктокиназа-2 (инактивиране) и фруктозо-2,6-бифосфатаза (активиране). Това инактивира фосфофруктокиназа-1 и активира фруктозо-1,6-бифосфатаза. Това измества равновесието в полза на глюконеогенезата. Високо ниво на глюкоза намалява концентрацията на цАМФ, увеличава концентрацията на фруктозо-2,6-бифосфат и това стимулира гликолизата.



Фиг. 10. Регулация на глюконеогенеза и гликолиза.

3.2. Регуляция на цикъла на Кребс.

В цикъла на Кребс има 3 регулаторни ензима: цитрат синтаза, изоцитрат дехидрогеназа, α -кетоглутарат дехидрогеназен комплекс. Значение има и пируват дехидрогеназния комплекс (ПДХК), който доставя ацетил-КоА (Фиг. 11, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

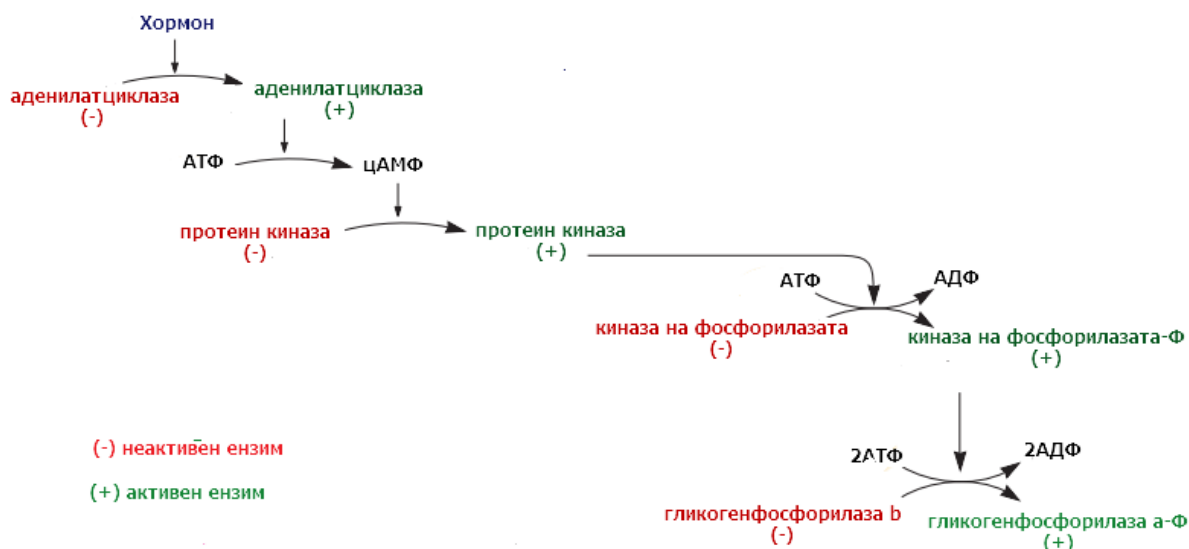


Фиг. 11. Регуляция на пируват дехидрогеназен комплекс и цитратен цикъл. Знакът плюс показва активиране, а минусовият знак – инхибиране.

ПДХК се инхибира алостерично от висока концентрация АТФ, НАДН и ацетил-КоА – показател за наличие на енергия и субстрати. АМФ, КоА и НАД⁺ активират алостерично ПДХК. Интензитетът на цитратния цикъл намалява при недостиг на субстратите (оксалацетат и ацетил-КоА) или НАД⁺. Сукцинил-КоА, АТФ и цитрат са алостерични инхибитори на началните реакции на цикъла. Калциевите йони сигнализируют мускулно съкращение и стимулират окислителните реакции, доставящи енергия в използваем вид.

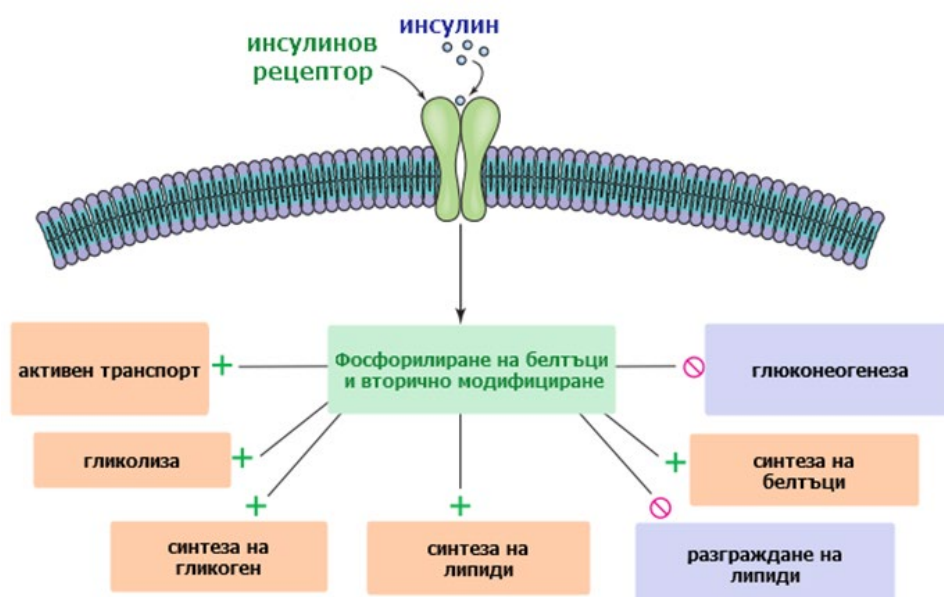
3.3. Регуляция на гликогеновия метаболизъм

Глюкагон и епинефрин (адреналин) стимулират разграждането на гликогена (гликогенолиза) – епинефрин активира гликогенолизата в черния дроб и в мускулите. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата, водеща до разграждането на гликогена (Фиг. 12, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 12. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата.

Инсулинът стимулира синтеза на гликоген, чрез активиране на фосфопротеин фосфатаза, която дефосфорилира гликоген синтаза b (неактивна) и я превръща в активна форма (гликоген синтаза a) (Фиг. 14, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 13. Ефекти на инсулина върху гликогеновия метаболизъм и ковалентното модифициране на регулаторни ензими.

Органите са части от растението, специализирани да изпълняват определена функция. Биват два вида: вегетативни и размножителни (генеративни). Основните вегетативни органи са **корен, стъбло и лист**. Те изпълняват функции, свързани с храненето при растенията, но участват и във вегетативното размножаване.

Листът е надземен орган с *ограничен растеж* и обикновено *плоска форма*. Той не образува други органи. Много е *пластичен* – под влияние на екологичните фактори търпи изменения.

Функции: Листът осъществява основно процесите фотосинтеза, газообмен и транспирация.

Морфологична характеристика. Листът се състои от *листна петура (пластинка)*, *листна дръжка*, *листна основа* и *прилистници*. Най-важната част е петурата, която фотосинтезира, обикновено плоска, с различна форма и размери. Тя може да е една (*прост лист*) или да са повече (*сложен лист* – двоен, троен, четворен, дланест, перест). Прикрепва се към стъблото с дръжка, а когато дръжката липсва, листът е *приседнал* (с варианти – *стъблеобхващащ*, *прободен*, *низбягащ*). Мястото на прикрепване е листната основа, която при житни и сенникоцветни разраства и образува *листно влагалище*, обхващащо възела и защитаващо пъпките. *Прилистниците* са два чифтни израстъка в основата на дръжката, които могат да са зелени и да фотосинтезират (жълто секирче), да са превърнати в бодли (салкъм, драка), да са малки люсповидни (бреза, памук) или изобщо да липсват (череша, бук). Листната петура е пронизана от множество жилки (провеждат веществата и дават опора), които според начина на раполагане оформят различно *жилкуване* (дихотомично, просто, пересто, дланесто, успоредно и дъговидно). Листната петура има различна *форма* (игловидна, линейна, продълговата, ланцетна, овална, кръгла, ромбична, лопатовидна, яйцевидна и др.), което се определя от съотношението дължина:ширина, формата на върха (закръглена, остра, осилеста, вдлъбната и др.) и на листната основа (закръглена, клиновидна, бъбрековидна, сърцевидна, стреловидна, копиевидна и др.). Периферията на листа, т.нар. *ръб на листната петура* може да е цялокраен (люляк), но може да се вдава навътре, но не повече от $\frac{1}{4}$ и да бъде назъбен (коприва), напилен (бряст), вълновиден (волски език), ресничест (росянка) и др.. Когато вдаванията са по-навътре, се говори за *начленяване на листната петура*, което има три степени (врязан лист – $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{3}$, нарязан лист – $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$, разделен лист – $> \frac{1}{2}$, в двата варианта – дланест и перест). *консистенция* (тревиста, кожеста, месеста, ципеста), разлики в размерите (*анизофилия*) и във формата (*хетерофилия*) при средната формация листа.

Анатомична характеристика. Основната тъкан на листата е *фотосинтезиращият паренхим (хлоренхим)*. Той заема цялото пространство между двата епидермиса, откъдето идва и другото наименование – мезофил. *Епидермис* покрива и предпазва листата, най-често еднослоен, с устица и трихоми (покривни и жлезисти). Устицата, осъществяващи газообмена и транспирацията, могат да се разполагат по долната повърхност (дървесни видове), по двете повърхности (тревисти растения), по горната повърхност (плаващи листа на водни растения) или да липсват (потопени листа на водни растения). Проводящите тъкани са най-често под формата на затворени колатерални снопчета, около които се разполагат механични тъкани – образуват се *жилките на листата* (листния скелет). Според разполагането спрямо земната повърхност и осветяването се формират два листни типа *при покритосеменните растения* – *двулицев* и *еднакволицев лист*. При *двулицевия (бифациален) лист*, който заема успоредно спрямо земната повърхност положение и се нагрива повече отгоре, мезофилът е диференциран на *стълбчест (палисиден)* и *гъбчест (рехав) паренхим*. Стълбчестият паренхим е към горната повърхност, с удължени цилиндрични клетки, съдържа повече хлоропласти (по-активно фотосинтезира), а гъбчестият – към долната повърхност, с неправилни по форма клетки, по-рехаво разположени (улеснява газообмена). Двата епидермиса също се различават по размера на клетките, дебелината на кутикулата и разполагането на устицата – горният е без устица, с по-дебела кутикула, по-едроклътъчен. *Жилките* пронизват мезофила на листата и заемат пространството между двата епидермиса, обхванати от паренхим или склеренхим. Бифациалните листа са характерни за повечето двусеменни растения. Повечето от тях са прикрепени с листна дръжка във възлите. *Еднакволицевия (еквифациален) лист* заема изправено положение и е с еднакво осветяване към двете повърхности. Еднакви са както покривните тъкани, така и структурата на мезофила. Проводящите снопчета са затворени

колатерални и разположени в една или две редици. Еднаквилицевите листа са характерни за едноседелните растения.

При *иглолистните голосеменни растения* листата са игловидни (*иглици*) и живеят по-дълго от един сезон (2-6 години) Във връзка с презимуването, в тяхната анатомичната структура има някои специфични особености: Епидермисът е изграден от *мъртви основни клетки*, с дебел слой *кутикула и восъци*. *Устицата* са разположени *във вдлъбнатини (крипти)*. Здравината на иглицата се повишава от *склеренхимен хиподермис* под епидермиса. *Мезофилът* е еднороден, клетките му са със *силно нагънати навътре стени*. Сред мезофила има *смолисти канали*. Еднослоен ендодермис обгражда централна безцветна зона, в която се разполагат едно или две *отворени колатерални снопчета*.

Стъблото е надземен орган с *неограничено нарастване*, състоящ се от *възли и междувъзлия*. Във възлите се разполагат *пъпки и листа*. Пъпките са скъсени клонки в състояние на покой, които впоследствие се развиват и образуват клонки с листа и/или цветове. Листата във възел могат да са по един (последователно листоразположение – круша), два (срещуположно листоразположение – мъртва коприва) или повече (прешленесто листоразположение – зокум).

Функции. Стъблото дава опора на растението и осъществява връзката между корена и листата, пренасяйки веществата в две посоки – вода и соли от корена към листата и органични вещества от листата до останалите части.

Морфологична характеристика. Стъблото се характеризира по *форма, размери, разполагане в пространството, разклоняване и продължителност на живот*. Според формата на напречния пререз, стъблата най-често са *кръгли или ръбести* (три-, четири- или многоръбести), което е генетично детерминирано и е таксономичен белег. По дължина и диаметър има вариране в широки граници (посочи примери). Стъблата заемат най-често са *изправени* (топола, дъб, пшеница), *приповдигнати* (машерка), но могат и да *лежат* по земята (тиква), да *пълзят*, пускайки корени във възлите (ягода), да се *катерят* с мустачета, кукести трихоми, адвентивни корени (грах, бръшлян) или *увиват* (хмел) по други растения или предмети. Начинът на разклоняване е три вида – *дихотомично* (върхът се цепи на две и формира два клона; при плауни), *моноподиялно* (страничните клонки не надрастват върха; голосеменни растения) и *симподиялно* (едно, две или повече разклоненията надрастват върха – *монохазно* – липа, бук; *дихазно* – имел; *плейохазно-млечки*). Стъблата живеят един сезон (*едногодишни*) или надебеляват и живеят повече (*многогодишни*). Едногодишни са стъблата на тревистите растения (едногодишни, двугодишни, многогодишни треви), а многогодишни – на дървесните растения (дървета, храсти и полухрасти). Най-дълго живеят дърветата секвоя, баобаб, драконово дърво (> 5000 г.).

Анатомична характеристика. Във връзка с провеждащата функция на стъблото, най-силно са развити проводящите тъкани, разположени под формата на проводящи снопчета или цялостни пръстени, ориентирани с ликото навън (провежда асимилатите) и с дървесината навътре (провежда водата). Младите стъбла с *първично устройство* показват известни различия в типа на снопчетата и начина на разполагане. При едноседелните растения снопчетата са колатерални затворени, разпръснати сред основен паренхим и обхванати от склеренхимно влагалище. При двуседелните растения снопчетата са отворени колатерални или биколатерални, кръгово разположени (тревисти видове), а при дървесните видове младите стъбла са с неснопчесто устройство, с наличие на прокамбиален пръстен между лико и дървесина. При стъблата на двуседелните растения обикновено централният цилиндър, в който са проводящите тъкани, е ясно отделен от първичната кора, поради развитие на гранични тъкани (ендодермис, перицикъл). Първичната кора е покрита с епидермис, съдържа паренхим и механични тъкани (коленхим при двуседелните и склеренхим при едноседелните). В резултат на дейността на вторичните меристеми камбий и фелоген стъблата на голосеменните и голяма част от двуседелните растения надебеляват и при тях се формират два тъканни комплекса (*вторична дървесина и вторична кора*). *Вторичната дървесина* заема по-голяма част от обема на стъблото. Тя е с ясно оформени *годишни пръстени* (сезонност в дейността на камбия в умерените ширини), по чийто брой може да се съди за възрастта на растението, а по ширината – за условията на месторастене. Дървесината на покритосеменните растения се състои основно от *трахеи* (тръбици по които се движи водата, съставени от много клетки-членчета), но съдържа още *дървесинни фибри* (придават здравина), *дървесинен паренхим* (натрупва резервни вещества, запущва стареещата дървесина с мехурести израстъци – тили) и *отделителни структури* (танинови клетки, млечни цевии и др.). За дървесината на голосеменните е характерен еднороден трахеиден строеж (*трахеиди* – еднокле-

тъчни водопровеждащи структури) и наличие на *смолисти канали*. *Вторичната кора* съдържа вторичното лико и вторичните покривни тъкани, образувани от фелогена (перидермис и мъртва кора). Вторичното лико отвежда асимилатите по решетъчни елементи (*решетъчни клетки и решетъчни цеви*), които са живи клетки, с целулозни клетъчни стени. Решетъчните клетки са примитивни и се срещат при папратообразните и голосеменните растения, а решетъчни цеви са при покритосеменните растения (съставени от клетки-членчета), обградени с по-малки *придружаващи клетки* (поддържат живота на решетъчните цеви, които са без ядра). Съставни части на вторичното лико също са *ликов паренхим* (резервна функция), *ликови фибри*, *склереиди* (опорна функция) и *отделителни структури* (млечни цеви, слюзни и кристалоносни клетки, смолисти канали). За вторичната дървесина и вторичното лико е характерна радиална система от живи паренхимни клетки (*радиални и сърцевинни лъчи*), които провеждат вещества по посока на радиуса. *Мъртвата кора* при многогодишните дървета и храсти се образува, поради многократно залагане на фелогена. Тя е многослойно покритие, комплекс от тъкани, които дават надеждна защита от механични повреди, от температурни колебания и др. Мъртвата кора бива *гладка* (бук, трепетлика), *напукана* (дъб, орех), *опадлива* (на ивици – бреза; на люспи – бор, чинар).

Коренът е разположен в *почвата*, рядко във водна или въздушна среда. Добре развит при семенните растения, с *неограничено нарастване*, *положителен геотропизъм*, *не образува листа и пъпки*. Основните **функции** на корена са закрепване на растението в почвата, всмукване на вода и соли, но също натрупване на резервни вещества.

Морфологична характеристика. Според произхода в онтогенезата корените биват *главен* (произлиза от зародишния корен на семето), *странични* (разклоненията на главния) и *добавъчни* (или *адвентивни* – образуват се от стъблото). Съвкупността от всички корени на едно растение образува *неговата коренова система*. Различават се два основни типа – *осева* и *брадата*. Осевата коренова система се състои от главния корен и неговите разклонения и е характерна за голосеменните и повечето двуседелни растения (фасул, глухарче). Брадата коренова система се състои от добавъчни корени и е типична за плауни, хвощове, папрати и едноседелни растения (житни).

Анатомична характеристика. В младото коренче се различават следните зони надлъжно – *зона на делене* (1-2 мм, тук е кореновата меристема, обвита и защитена от гугла), *зона на нарастване* (5-10 мм, оформят се предтъканите – протодермис, основна меристема и прокамбий); *зона на всмукване* (2-3 см, активно поглъща вода). В последната зона са оформени трайни тъкани, групирани във външен и вътрешен цилиндър – *първично анатомично устройство*. Повърхността е покрита с *ризодермис* с коренови власинки, който поглъща водата и солите, а когато той отпадне, се заменя с покривна тъкан – *екзодермис*. В кората преобладава *паренхимна тъкан*. В централния цилиндър основно място заемат проводящите тъкани под формата на *радиално снопче* (среща се само в корените). На границата между двата цилиндъра се разполагат *ендодермис* (физиологична бариера) и *перицикъл* (образува странични корени след отмирането на ризодермиса). При многогодишните растения (голосеменни и двуседелни) вторичните меристеми камбий и фелоген действат и се формира *вторично анатомично устройство* (*вторична дървесина и вторична кора*). Във вторичната дървесина годишните пръстени са неясни, сърцевинните лъчи са широки, многоредни (за разлика от стъблото), дървесинният паренхим е силно представен. В кората се разполага вторичното лико, перидермис и впоследствие мъртвата кора. Кората е гладка, тъй като фелогенът действа дълги години на едно и също място.

Метаморфози на вегетативните органи при растенията

Метаморфоза наричаме видоизменен орган, който рязко се отклонява от изходна си форма във връзка със загуба на типичната си функция и започва да изпълнява нова функция. Видоизмененията засягат строежа на органа и настъпват в резултат на изменение факторите на околната среда. Те са доказателство за широката пластичност и адаптивност на вегетативните органи. Метаморфозите са трайни видоизменения, които се предават по наследство.

Видоизменения (метаморфози) на листата във връзка с поемането на нови функции:

- *бодли* – видоизменен лист (кактуси) или само прилистници (салкъм, драка) със защитна функция, с редуциран мезофил за сметка на склеренхима;
- *листни мустачки* – целите листа (тиквови) или части от тях (бобови) се превръщат в мустаче с прикрепителна функция;
- *луковица* – листо-стъблена подземна метаморфоза с резервна функция, която се състои от скъсено стъбло (дънце) и видоизменени листа (месести и сухи люспи); резервните

вещества се натрупват в месестите люспи, а сухите покриват и защитават от изсъхване (лук, кокиче, лале);

- *ловни апарати* – улавят и смилат насекоми (при насекомоядни растения – непентес, венерина мухоловка, мяхурка);
- *суккулентни листа* – фотосинтезират и натрупват резервна вода в добре развит водоносен паренхим (алое, агаве, дебелец);
- *филодии* – фотосинтезиращи листни дръжки, а петурите са редуцирани (акации).

Видоизменения (метаморфози) на стъблото във връзка с поемането на нови функции.

- *тръни* – видоизменени клонки със защитна функция, в които преобладават дървесинните фибри (глог, трънка);
- *коренища* – подземно стъбло с резервна функция, приличащо на корен, но с ясни възли и междувъзлия, ципести люспи; служи и за вегетативно размножаване (здравец, тросткот, перуника);
- *стъблени грудки* – скъсени и разширени подземни стъбла, натруващи резервни вещества (скорбяла, инулин, захари), с пъпки по тях показващи стъблени произход, служещи и за вегетативно размножаване (картоф, циклама, брей, батат);
- *стъблени мустачки* – безлистни клонки с прикрепителна функция (лоза);
- *филокладии, кладодии* – фотосинтезират, като *филокладиите* са клонки с листовидна форма (миши трън), а при *кладодиите* главното стъбло придобива форма на лист (опунция);
- *суккулентни стъбла* – фотосинтезират и натрупват резервна вода в добре развит водоносен паренхим (кактуси, африкански млечки).

Видоизменения (метаморфози) на корена във връзка с поемането на нови функции:

- *коренови грудки* – задебелени странични корени с резервна функция (ливадно орехче, салеп);
- *кореноплоди* – задебелени главни корени с резервна функция (морков, ряпа);
- *прикрепителни корени* – добавъчни корени по стъблата на лиани (бръшлян);
- *фотосинтезиращи корени* – добавъчни корени, които съдържат хлоропласти и фотосинтезират (водни растения);
- *въздушни корени* – добавъчни корени, които са покрити със всмукваща тъкан (веламен) и поемат въздушната влага като сунгер (тропически епифитни орхидеи);
- *дихателни корени (пневматофори)* – странични корени с отрицателен геотропизъм, с добре развит аеренхим, които стърчат над водата/ почвата и облекчават дишането в приливно-отливни зони, заблатени места (мангрови растения, блатен кипарис).

Талусни и кормусни растения са основни понятия в ботаниката, които разделят растителния свят според организацията на вегетативното тяло. За **талусните (низши) растения** е характерно примитивно устройство на тялото (талус или талом), без формиране на стъбло и листа. Талусът може да бъде едноклетъчен или многоклетъчен, микроскопичен или с големи размери, разнообразен по форма. Въпреки че по морфологично устройство, понякога талусът може да наподобява кормусно растение (Charophyta, Phaeophyta), анатомично той се състои от еднородни клетки, които не формират специализирани тъкани и в частност специализирани проводящи тъкани, характерни за всички висши растения, с изключение на мъхообразните. Основно към талусните растения се отнасят водораслите, гъбите и лишеите.

Към подцарство **Кормусни растения (Magnoliobionta)** се отнасят таксони с надталусно равнище на организация, преобладаващо сухоземни. Тялото на растенията има ясно обособени стъбло и листа и висока степен на хистологична специализация. Еволюцията на кормусните растения е спорна. Основно се налага теорията за монофилетичния им произход с родоначалник зелени водорасли.

НИЗШИ (ТАЛУСНИ) РАСТЕНИЯ – ВОДОРАСЛИ (ALGAE)

Водораслите са голяма група от талусни растения, основно разпространени във водни басейни, където съставят основната част от растителността. Някои водорасли са прикрепени към дъното на водоема или подводни предмети (фитобентос), докато други са свободно плаващи (фитопланктон). Част от водораслите могат да се срещнат по скали, в почвата, по стволите на дърветата и др. Талусът на водораслите не е диференциран на тъкани и органи. Те могат да бъдат едноклетъчни, многоклетъчни или колониални, с размери от няколко mm до няколко метра. Клетката има целулозна клетъчна обвивка, която постоянно или периодично е покрита от слиз, която предпазва клетката от изсъхване, механични повреди, понякога подпомага движението или прикрепването в колония или към субстрата. Протопластът на клетката е изпълнен с цитоплазма, едно или няколко ядра и пластиди (хроматофори), които могат да имат лентовидна, сферична или пластинчата форма. Хроматофорите играят ролята на хлоропласти. Освен хлорофил (зелен), съдържат други пигменти – каротин и ксантофил (оранжев и жълт), фикоцианин (син), фикоеретрин (червен), фикоксантин (кафяв). Във връзка с това се определят 3 основни еволюционни направления в растителното царство: червено (Подцарство *Rhodobionta*), жълтокафяво (Подцарство *Chrysobionta*) и зелено (Подцарство *Chlorobionta*). Размножаването на водораслите е разнообразно – вегетативно, безполово и полово. Вегетативното се осъществява чрез делена на клетката, при нишковидните – накъсване на нишката. Безполовото размножаване се осъществява чрез спори: зооспори (подвижни), апланоспори (неподвижни). Спорите се образуват в спорангии или във вегетативните клетки. Половото размножаване се осъществява чрез полови клетки (гамети), които при сливането си образуват зигота. Зиготата прораста, като образува зооспори или ново растение. Формите на полово размножаване са изогамия, хетерогамия или оогамия, често при някои се наблюдава и конюгация. Индивидите които образуват гамети се наричат гаметофити (хаплоидни), а тези, които образуват спори – спорофити (диплоидни). В цикъла на развитие на водораслите могат да се наблюдават както гаметофит и спорофит (хаплодиплонтен), така и само гаметофит (хаплонтен) или само спорофит (диплонтен). Гаметофитът може да бъде двуполов или еднуполов. При някои от водораслите гаметофита и спорофита има сходно морфологично устройство (изоморфна смяна на поколенията). При други преобладава гаметофита, а спорофита е редуциран силно до микроскопични размери или обратно, преобладава спорофита, а гаметофита е недоразвит (хетероморфна смяна на поколенията). Класификация:

1. ОТДЕЛ RHODOPHYTA – ЧЕРВЕНИ ВОДОРАСЛИ. Морски бентосни, рядко сладководни. Баграта на хроматофорите (родопласти) варира от розово- до тъмночервено. Повечето видове са многоклетъчни и представляват различно оформени нишки. Клетката има клетъчна стена, която може да се минерализира с CaCO₃. Начини за размножение: вегетативно (чрез делене на две или фрагментацията); безполово (чрез моно-, тетра- или карпоспори), половото (оогамия).

2. ОТДЕЛ BACILLARIOPHYTA – КРЕМЪЧНИ ВОДОРАСЛИ. Изключително едноклетъчни микроскопични организми. Клетките са обхванати от прозрачна черупка (кутия, тека), съставена основно от силициева киселина. Хроматофорите (феопласти) включват хлорофил *a* и *c*, β -каротен, фукоксантин (определя жълто-кафявата багра на феопластите). Основен начин за размножаване при кремъчните е чрез делене на клетката на две.

3. ОТДЕЛ RHAEOPHYTA – КАФЯВИ ВОДОРАСЛИ. Талусът е зелено- до тъмнокафяв, поради наличието в хроматофорите (феопласти) на каротеноида фукоксантин и специфични за кафявите водорасли танини. Те са прикрепени, почти изключително морски, многоклетъчни. Морфологичното разнообразие е голямо и обхваща от микроскопични разклонени нишковидни форми до макроскопични масивни форми. При напречен пререз на талуса при високоорганизираните представители има диференцирана сърцевина (от едри клетки с малко феопласти) и кора (от дребни клетки с повече феопласти). Някои кафяви водорасли достигат сложна морфологична диференциация с оформени корено-, стъбло- и листоподобна части, и изключителни размери. Размножаване: вегетативното (чрез фрагментация или специални тела), безполовото (чрез подвижни зооспори или неподвижни апланоспори) и полово.

4. ОТДЕЛ CHLOROPHYTA – ЗЕЛЕНИ ВОДОРАСЛИ. Баграта на водораслите е тревисто зелена, поради специфичния пигментен състав (хлорофили *a* и *b*) на хроматофорите (хлоропласти). Приема, че сред тях са предшествениците на висшите (кормусни) растения. Повечето представители са сладководни, но има морски (13% от видовете), а също почвени и аерофилни видове – по скали, дънери, мъхове. Някои видове участват в състава на лишейте. Зелените водорасли са изключително разнообразни по морфология. При тях са представени почти всички морфологични типове, известни при растенията: *Флагелатен тип*, *Тетраспоровиден тип*, *Клетъчен тип*, *Сифонен тип*, *Нишковиден тип*, *Сифонокладален тип*. Широко разпространен начин за размножаване е вегетативното – чрез делене на две или фрагментация. Безполовото се осъществява чрез спори: зооспори или апланоспори. Полово – гаметогамия.

Представители с консервационен статус в Българската флора: В България консервационно значимите водорасли не са толкова изследвани, колкото висшите растения. Редките и застрашени видове са 22. От кафявите водорасли в Червената книга на България са включени: *Padina pavonia* (Падина), а от зелените *Bryopsis hypnoides* (Бриопсис) и др.

ВИСШИ (КОРМУСНИ) РАСТЕНИЯ. Класификацията на кормусните растения продължава да бъде дискуссионна и да търпи развитие. Основната класификация може да бъде разделена на: висши спорови растения и висши семенни растения.

1. ВИСШИ СПОРОВИ РАСТЕНИЯ. Включват отделите: Bryophyta (Мъхообразни), Lycopodiophyta (Плаунообразни), Equisetophyta (Хвощообразни), Polypodiophyta (Папратообразни).

В цикъла на развитие на споровите растения (изкл. мъхообразните) се наблюдава смяна на две самостоятелни поколения: полово – гаметофит (n поколение) и безполово – спорофит ($2n$ поколение). Еволюцията на споровите растения е протекла в две противоположни направления. При мъхообразните доминиращото поколение е гаметофитът. При листнатите мъхове гаметофита е диференциран на кореноподобна, стъблородобна и листоподобна част. Спорофитът е прикрепен върху гаметофита и е съставен от дръжка и спорангий. При останалите спорови растения (плауни, хвощове, папрати), доминира спорофитът, които морфологично е диференциран на корен, стъбло и листа. Гаметофитът е редуциран до фотосинтезираща пластинка или грудка (протал). Той образува многоклетъчни органи за полово размножаване наречени гаметангии. Мъжките гаметангии се наричат антеридии. Те образуват мъжките полови клетки (сперматозоиди). Женските гаметангии се наричат архегонии в тях се образува яйцеклетката. Гаметофитът може да бъде двуполов (с антеридии и архегонии) или еднуполов. При сливането на мъжката и женската полови клетки се формира зигота ($2n$) от която се формира спорофита. Върху спорофита се формират спорангии, в които след мейоза се образуват множество хаплоидни спори. Спорангиите и спорите могат да бъдат еднакви или нееднакви (мегаспорангий с мегаспори и микроспорангий с микроспори). При еднаковоспоровите от спорите се образува еднодомен гаметофит, а при нееднаковоспоровите от мегаспорите се формира женски гаметофит, а от микрос-

порите – мъжки. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** Значителна част от мъховете у нас имат природозащитен статус. В приложение №2 на Закона за биологичното разнообразие са включени всички 27 вида от род *Sphagnum* и още 6 вида. В „Red List of Bulgarian Vascular plants“ за защитени са обявени 257 вида (или 36% от всички видове у нас). От плаунообразните консервационно стойност имат: *Lycopodium clavatum* (Бухалковиден плаун); *Isoetes lacustris* (Езерен шишолуист). *Като защитени растения от панпратообразните могат да бъдат отбелязани: Adiantum capillus-veneris* (Венерин косъм), *Marsilea quadrifolia* (Четирилистно разковниче), *Salvinia natans* (Плаваща лейка), *Equisetum palustre* (Блатен хвощ) и др.

2. ВИСШИ СЕМЕННИ РАСТЕНИЯ. Най-характерната особеност на семенните е появата на нов генеративен орган – семе. В него протичат развитието на женския гаметофит, оплождането и развитието на зародиша. Неговата поява е важна стъпка в еволюцията на растителния свят в приспособяването му към условията на сухоземния живот. С неговата поява настъпва силна редукция на половото поколение (гаметофита) и усъвършенстване на безполовото (спорофита). Гаметофита губи своята самостоятелност, като се развива върху спорофита. Семенните растения се разделят на два отдела:

2.1. ОТДЕЛ PINOPHYTA – ГОЛОСЕМЕННИ. Включва дървета и храсти разпространени са главно в умерените зони на Южното и Северното полукълбо. Наричат се голосеменни, защото семепъпките и семената са разположени открито на семенните люспи в женските шишарки. Спорофитът достига висока степен на морфологична и анатомична специализация. Появява се същински корен. Стъблото в повечето случаи е разклонено моноподиално, достигащо на височина над 100 м. Листата са игловидни, люсповидни, ветриловидни или перести, разположени единично, по няколко или в снопчета, последователни, в прешлени или срещуположни, дълги от няколко милиметра до 3 м., в повечето случаи са многогодишни и растенията са вечно зелени. Мъжката шишарка (микростробила) се състои от ос и на нея са разположени микроспорофилите. На тях има по два прашника (микроспорангии). В тях се образува полена, който се разнася от вятъра и опрашва семепъпката, разположена на женската шишарка. Женската шишарка (мегастробила) при отделните групи голосеменни има редица особености. При иглолистните тя се състои от твърда ос и на нея спирално са заловени покривна (външна) и семенна (вътрешна) люспи. На всяка семенна люспа са закрепени по две семепъпки (мегаспорангии), които образуват семена. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** Представителите на най-голямото семейство – Pinaceae (Борови), са едни от основните структурообразуватели на горските екосистеми. В Червената книга на България са включени: *Taxus baccata* (Тук), *Juniperus sabina* (Казашка хвойна), *Juniperus excelsa* (Дървовидна хвойна), *Ephedra campylopoda* (Катерлива ефедра). *Pinus peuce* (Бяла мура) е балкански ендемит, а *P. heldreichii* (Черна мура) – балкански субендемит. *Taxus baccata* е реликтен вид.

2.2. ОТДЕЛ MAGNOLIOPHYTA – ПОКРИТОСЕМЕННИ, ЦВЕТНИ РАСТЕНИЯ. Покритосеменните са най-младите в еволюцията на растителния свят. Те са най-съвършенните в своето външно и вътрешно устройство и са най-широко разпространени на Земята. Спорофитът достига най-високата си степен на развитие. Представен е с всички биологични типове: тревни, храсти, дървета, за разлика от голосеменните, при които няма тревни. Вегетативните им органи претърпяват някои метаморфози (коренища, грудки, луковичи и др.), които служат за размножаване. За първи път в еволюцията на растенията се появява плодникът (гинецей), състоящ се от завръз, стълбче и близалце. В завръза са включени семепъпките, които за разлика от голосеменните не лежат открити на семенните люспи. След оплождането от тях се образува семето, а от плодника – плода. От тук идва наименованието „покритосеменни“. Характерна структура за покритосеменните е появата на цвета, поради това отделът носи и името „цветни“. Прието е разделянето на покритосеменните на два класа Magnoliopsida (Двуседелни) и Liliopsida (Едноседелни). При двуседелните, зародишът има 2 седедела. Кореновата система е осева. Проводящите снопчета са отворени колатерални, разположени в стъблото кръгово. Флоемът е с паренхим. Листата са прости или сложни, различни по форма, с преобладаващо мрежесто жилкуване. Околоцветникът е двоен, с 5 или 4-члененни чашелистчета и венчелистчета. При едноседелните, зародишът с 1 седедел. Кореновата система е брадата. Проводящите снопчета са затворени колатерални, разположени в стъблото разпръснато. Флоемът е без паренхим. Листата са най-често прости, линейни или елипсовидни, с успоредно или дъговидно жилкуване. Цветът с прост око-

лоцветник. Най-богати на видове с важна структурообразователна роля за екосистемите и консервационен статус в Българската флора са:

СЕМЕЙСТВО FAGACEAE – БУКОВИ. Представителите на семейството са разпространени главно в умерените и тропични зони на Северното полукуло. Някои формират растителната покривка на големи територии. Те са листопадни или вечнозелени еднодомни, разделнополови дървета и по-малко храсти. Листата са прости, целокрайни (*Fagus*) или наделени (*Quercus*), разположени последователно, с рано опадващи прилистници. Плодът е жълд. Той представлява кожест едносеменен орех, поместен в разпукваща се или чашковидна вдървяла обвивка – купула, която е покрита с люспи или шиловидни израстъци. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** Защитени от Закона за биологичното разнообразие са два вида: *Quercus frainetto* (Благун), *Quercus coccifera* (Пърнар). Горскостопанско значение имат: *Quercus cerris* (Цер), *Q. pubescens* (Космат дъб), *Fagus sylvatica* (Обикновен бук) и *F. orientalis* (Източен бук).

СЕМЕЙСТВО BRASSICACEAE – КРЪСТОЦВЕТНИ. Включва едно-, дву- и многогодишни тревисти растения, рядко храсти и полухрасти. Корените при някои видове са вторично надебелени. Листата са прости, последователни, приседнали или с дръжки, нарязани или цели, без прилистници. Често листата са разположени в приосновна розетка. Цветовете са двуполови. Околоцветникът е двоен, актиноморфен. Чашелистчетата и венчелистчетата са по 4, свободни, разположени на кръст. Тичинките са 6, двете външни по-къси. Плодникът е ценокарпен, съставен от 2 сраснали плодолиста с горен завръз. Съцветието е обикновено грозд или щитовидно. Плодът е шушулка, шушулчица, рядко орехче или дробен. Плодовете обикновено се разпукват от основата към върха, като семената остават прикрепени в върху ципеста, лъжлива преграда. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** В семейство Brassicaceae има много защитени растения в България, като *Matthiola odoratissima* (Ароматната матиола), *Crambe maritima* (Крайморското зеле), *Cakile maritima* (Крайморското какиле), *Cardamine bulbifera* (Зъбникът), както и други редки видове като *Alyssoides utriculata* (Мехурест ализоидес). В Закона за биологичното разнообразие са включени около 32 вида от семейството у нас. Семейството включва и много важни хранителни растения *Brassica oleracea* (Градинско зеле), *Raphanus sativus* subsp. *sativus* (Посевна ряпа), *B. oleracea* var. *botrytis* (Карфиол); и плевели *Capsella bursa-pastoris* (Овчарска торбичка) и др.

СЕМЕЙСТВО FABACEAE – БОБОВИ (ПЕПЕРУДОЦВЕТНИ). Дървета, храсти и треви. Листата са сложни, рядко прости, с прилистници. Семейството се характеризира със специфично устройство на цвета. Чашката е образувана от 5 сраснали листчета. Венчето е зигоморфно и при повечето видове е от 5 венчелистчета с нееднаква форма и размери: едно (горно) голямо – *флагче*, две (странични) по-малки – *крилца* и две (долни), сраснали частично, образувачи т. нар. *ладийка*. Погледнат от страни цветът наподобява кацнала пеперуда, откъдето идва и едно от старите имена на семейството – пеперудоцветни (Papilionaceae). Тичинките са 10. Най-често девет сраснали, а десетата свободна, рядко и десетте са сраснали. Плодникът е апокарпен, от един плодолист с горен завръз. Плодът е боб. Важна особеност на семейството е, че около 70% от видовете имат по корените си грудки, които са резултат на симбиоза с азотфиксиращи бактерии от род *Rhizobium*. Благодарение на това бобовите усвояват атмосферния азот, при което обогатяват почвата. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** В България има 43 защитени вида от семейство Fabaceae, като сред тях се включват различни тревисти растения, полухрасти и храсти: *Chamaecytisus kovacevii* (Ковачев зановец), *Astracantha aitosensis* (Айтоски клин), *Ononis repens* (Пълзящ гръмотрън) и др. Много други представители са културни и фуражни растения *Phaseolus vulgaris* (Обикновен фасул); *Vicia faba* (Бакла); *Pisum sativum* (Посевен грах); *Cicer arietinum* (Нахут, леблебия); *Lens culinaris* (Обикновена леща); *Arachis hypogaea* (Фъстък); *Glycine max* (Соя); *Trifolium pratense* (Ливадна детелина); *Medicago sativa* (Синя люцерина); *Robinia pseudoacacia* (Салкъм) и др.

СЕМЕЙСТВО ROSACEAE – РОЗОВИ. Включва дървета, храсти, полухрасти, лиани и треви. Листата са прости или сложни, последователни или срещуположни, с прилистници. Цветовете са актиноморфни, двуполови, рядко еднополови. Околоцветникът е от 2 кръга, понякога с двойна чашка, 5-членен, рядко 3 – 4-членен. Тичинките са много, рядко 5, 10, 2 или 1. Цветното легло е плоско, изпъкнало или вдлъбнато. Според устройството на плодника и плода, семейството се разделя на 4 подсемейства: *Spiraeoideae*, *Rosoideae*, *Maloideae* и *Prunoideae*. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** Около 25 вида от семейството са защитени съгласно българското законодателство, като: *Laurocerasus officinalis* (Лечебната лавровишня),

Geum bulgaricum (Българско омайниче), *Geum rhodopaeum* (Родопско омайниче), *Potentilla palustris* (Мочурно прозорче) и др. Семейството включва редица хранителни, лечебни и етеричномаслени растения, като: *Rosa canina* (Обикновена шипка); *R. damascena* (= *R. kasanlica*) (Червена казанлъшка роза); *Rubus idaeus* (Малина); *R. caesius* (Къпина); *Fragaria vesca* (Дива ягода); *F. ananassa* (Културна ягода); *Malus domestica* (Домашна ябълка); *Pyrus sativa* (Културна круша); *Cydonia oblonga* (Дюля); *Mespilus germanica* (Мушмула); *Prunus domestica* (Домашна слива); *Persica vulgaris* (Праскова); *Armeniaca vulgaris* (Кайсия); *Amygdalus communis* (Обикновен бадем); *Cerasus avium* (Череша) и др.

СЕМЕЙСТВО LAMIACEAE – УСТНОЦВЕТНИ. Включва треви, храсти и полухрасти. Стъблата са 4-ръбести. Листата са прости, без прилистници, разположени срещуположно, рядко в прешлени. По листата и стъблата се разполагат жлезисти трихоми, секретирани етерични масла. Цветовете са неправилни, двуестни, двуполови, образуващи цимозни съцветия, разположени в пазвите на листата или във върхни съцветия. Чашката е сраснала, обикновено двуестна. Венчето е сраснало двуестно, горната устна от 2, долната от 3 венчелистчета. Тичинките са 4, рядко 2 (род *Salvia*). Плодникът е синкарпен, съставен от 2 плодolistа. Плодът е ценобий – разпада се на 4 орехчета. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** 17 вида от семейството са защитени от Закона за биологичното разнообразие. Повечето са от родовете: *Thymus* (Машерка), *Salvia* (**Конски босилек**), *Stachys* (**Ранилист**), както и специфични видове като *Salvia sclarea* (**Мускатен конски босилек**). Семейството включва и важни етеричномаслени, лечебни, подправки, декоративни, медоносни растения: *Lavandula angustifolia* (Теснолистна лавандула); *Rosmarinus officinalis* (Лечебен розмарин); *Sideritis scardica* (Пирински чай); *Melissa officinalis* (Медицинска маточина); *Satureja hortensis* (Градинска чубрица); *Origanum vulgare* (Обикновен риган); *Thymus* ssp. (Машерка); *Lamium purpureum* (Червена мъртва коприва); *Salvia officinalis* (Градински чай), *Mentha piperita* (Лютива мента); *M. spicata* (Обикновена мента) и др.

СЕМЕЙСТВО ASTERACEAE – СЛОЖНОЦВЕТНИ. Най-голямото семейство в клас Двусеменни, разпространено космополитно. Представено е главно от треви, по-малко храсти и полухрасти. Листата са прости или сложни, последователни, рядко срещуположни или в прешлени, без прилистници. Много видове имат млечни цеви. Чашелистчетата са 5, обикновено превърнати в четинки, люспици или липсват. Венчелистчетата са 5, сраснали. Тичинките също са 5, сраснали с прашниците. Плодникът е от 2 сраснали плодolistа, с долен завръз. Цветовете са актиноморфни или зигоморфни, няколко типа: *тръбести* – правилни двуполови; *двуестни* – неправилни двуполови; *езичести* – неправилни двуполови; *лъжливыезичести* – неправилни еднуполови; *фуниеvidни* – неправилни безполови. Съцветието е кошничка, обхваната от обвивни листчета (*involucrum*). Плодът е плодосемка. **Представители с консервационен статус в Българската флора:** Значителен брой видове са български и балкански ендемити, редки и застрашени от изчезване. Те се отнасят към родовете: *Centaurea* (**Мегличина**), *Achillea* (Равнец), *Anthemis* (Подрумиче), *Leontopodium* (**Еделвайс**) и др. Маслодайни, медицински и хранителни са: *Helianthus annuus* (Слънчоглед); *H. tuberosus* (Земна ябълка); *Chamomilla recutita* (Лайка); *Achillea millefolium* (Бял равнец); *Leucanthemum vulgare* (Обикновена маргаритка); *Lactuca sativa* (Маруля); *Cichorium intybus* (Синя жлъчка); *Taraxacum officinale* (Лечебно глухарче); *Calendula officinalis* (Невен) и др.

Растителните пигменти се делят на два основни вида: фотосинтетични пигменти и нефотосинтетични пигменти.

1. Фотосинтетични пигменти

Най-специфичните химични компоненти на тилакоидните мембрани на хлоропластите са фотосинтетичните пигменти (ФСП). Именно те поглъщат енергията на слънчевата светлина, която след това в растенията, цианобактериите и фотосинтезиращите бактерии се преобразува в енергия на химичните връзки. ФСП се разделят на 3 основни групи: хлорофили, каротиноиди и фикобилини. Най-голямо значение за фотосинтезата имат хлорофилите, главно хлорофил *a*. В отделните растителни организми се срещат различни комбинации на пигментите, но във всички случаи е задължително присъствието на хлорофил *a* (или бактериохлорофил *a* във фотосинтезиращите бактерии), чрез който се реализира първичното фотохимично действие на светлината. Затова ФСП на фотосинтезиращите организми се разделят на **основни** (хлорофил *a* и бактериохлорофил *a*) и **допълнителни** (останалите хлорофили, каротиноидите и фикобилините). Големият спектър от допълнителни пигменти, препокриващи със своето поглъщане практически цялата „видима“ (и инфрачервена при фотосинтезиращите бактерии) част от слънчевия спектър, дава възможност на фотосинтезиращите организми активно да улавят падащата на земята светлинна радиация. Каротиноидите също са характерни за висшите растения, водораслите и фотосинтезиращите бактерии, а фикобилините – за цианобактериите и някои водорасли.

Хлорофили

Хлорофилите принадлежат към видовете *a*, *b*, *c*, *d* и *e*, които са застъпени в различни организми. Всички фотосинтезиращи организми съдържат хлорофил *a* (фотосинтезиращите бактерии бактериохлорофил *a*). Хлорофил *b* се среща във висшите растения, зелените и еугленовите водорасли, както и в прокариоти от отдел *Prochlorophyta* (в някои фотосинтезиращи бактерии бактериохлорофил *b*). Не е установен нито един фотосинтезиращ организъм без хлорофил *a*. Във водораслите от отдел *Phaeophyta* присъства хлорофил *c*, в много червени водорасли (отдел *Rhodophyta*) – хлорофил *d*. Хлорофил *e* е открит само в жълтозеленото водорасло *Tribonema bombicinum* от сем. *Xanthophyceae*.

Хлорофилите са магнезий-съдържащи порфирины – циклични тетрапироли. Те са естери на дикарбоновата хлорофилинова киселина с два алкохола – метилов и фитол. Порфириновото ядро представлява плоска квадратна структура, състояща се от четири пиролови пръстена (*A-D*). В центъра на тази „глава“ е разположен магнезиевият атом, който се свързва чрез 4 координационни връзки с азота на пироловите пръстени. Пръстените са съединени помежду си с метинови мостчета и всеки от тях съдържа различни странични вериги. Хлорофил *b* се различава от хлорофил *a* по това, че има формилна СНО-група като страничен заместител при С-7 вместо метилна СН₃. Биосинтезата на хлорофила се осъществява по биосинтетичния път на порфирините. Ключовият предшественик на тетрапиролите, включително на хлорофила, е 5-аминолевулинова киселина (АЛК).

Хлорофилите са водонерастворими. *In vivo* те се намират нековалентно свързани с белтъци в хлорофил-белтъчни комплекси, които са включени в тилакоидните мембрани. Извличат се с органични разтворители: алкохол, ацетон, бензол, хлороформ. Разтворът на хлорофил *a* в алкохол или етилов етер има синьозелен цвят, а на хлорофил *b* – жълтозелен.

При взаимодействие на хлорофилен извлек с разредени киселини магнезиевият атом на хлорофила се замества от водорода и се образува феофитин, който има кафявозелен цвят, а при хидролиза с основи се получават съответни соли на хлорофилиновата киселина и се освобождават двата алкохола.

Много важно свойство на хлорофилите е избирателното поглъщане на светлинните лъчи – максимумите на поглъщане са в червената (640 – 660 nm) и синята област (430 – 450 nm) на видимия спектър. Спектърът на поглъщане на пигментите зависи от характера на разтворителя, от взаимодействието им в интактните клетки с белтъците.

Хлорофилите поглъщат много слабо оранжевите и жълтите лъчи, а отразяването или пропускането на зелената светлина (около 550 nm), която не се абсорбира от пигментите, дава познатия зелен цвят на растенията и на хлорофилните разтвори.

Функцията на Mg-порфирина се е формирала в процеса на еволюцията в тясна връзка с еволюцията на фоторецепторните структури. Пиролният пръстен, състоящ се от 4 атома въглерод и атом азот, представлява хромофор, способен да поглъща енергията на видимата област на спектъра. Затварянето на пиролните пръстени в тетрапиролната структура на порфирина, химически по-устойчив, има решаващо значение в еволюцията на хлорофилите като първични фоторецептори. Благодарение формирането на циклична система и на ефекта на спрягане се появяват интензивни ивици на поглъщане във видимата област на спектъра с по-висока енергия на квантите. Образоващите се в процеса на еволюцията порфирини представляват сложна система с общ π -електронен облак, обединяващ четирите пиролни пръстена в единен цикъл.

Хлорофилът може да абсорбира светлината поради специфичната структура на порфириновото ядро. Конюгираната система на спрегнатите връзки във всички хлорофили представлява основна хромофорна група, отговорна за избирателното поглъщане на светлината.

Структурата на хлорофилната молекула може много успешно да осъществява функцията на фотосенсибилизатор (съединение, което поглъща светлинната енергия и я насочва към други безцветни съединения) на фотохимичните реакции.

Каротиноиди

Каротиноидите са мастноразтворими пигменти с жълт, оранжев, червен и кафяв цвят. Присъстват в пластидите на всички висши растения и водорасли, в цианобактериите, зелените и пурпурните фотосинтезиращи бактерии, в халобактериите. В листата на растенията каротиноидите обикновено са замаскирани от хлорофилите, но през есента, когато първи се разрушават зелените пигменти, именно каротиноидите придават характерния за есенните листа жълт или оранжев цвят.

Каротиноидите са тетратерпени, изградени от 8 изопренови единици, които дават C_{40} -съединение. Към каротиноидите се отнасят:

1. оранжеви или червени пигменти **каротини** – въглеводороди ($C_{40}H_{56}$);
2. жълти **ксантофили** – с кислородсъдържащи функционални групи в молекулата ($C_{40}H_{56}O_2$, $C_{40}H_{56}O_4$ и др.).

В пластидите на висшите растения от каротините главно се съдържа β -каротин, а от ксантофилите лутеин, виолаксантин, неоксантин. В много растения, особено в израслите на сянка, при ниска интензивност на светлината, е открит β -каротин. Във фотосинтетичните тъкани могат да се включат и други каротиноиди, често в големи количества – антраксантин, зеаксантин и пр. Тяхното съдържание силно зависи от условията на средата, особено от наличието или отсъствието на светлина, стресови фактори.

Биосинтеза на каротиноидите е локализирана в самия пластид и обикновено се осъществява в тилакоидната мембрана, с която са свързани отговорните за нея мултиензимни комплекси. Предполага се участие и на хлоропластната обвивка, доколкото и в зелени, и в незелени изолирани мембрани са открити каротиноиди, в по-значителни количества виолаксантин, следван от неоксантин.

Биосинтезата на каротиноидите в хлоропластите има връзка с общия път на образуване на полиизопреноидните съединения (стероли, убихинон, странични вериги на пластохинон и др.). Той изисква наличие на ацетил-CoA, който през мевалонова киселина (основен предшественик на изопреноидите) се превръща в *изопентенилпирофосфат* (C_5 -съединение), основна структурна единица на изопреноидната верига. Синтезата на каротиноиди се осъществява на тъмно, но светлината, особено червената, която действа чрез фитохрома, рязко ускорява този процес.

Както хлорофилите, каротиноидите са нековалентно свързани с белтъците на тилакоидните мембрани в пигмент-белтъчни комплекси. Те се извличат с органични разтворители – хлороформ, бензол, бензин. Каротините се разтварят лесно в петролеи и етилов етер, а ксантофилите – в метилов и етилов алкохол.

Каротиноидите поглъщат светлинни лъчи от виолетовата и синята област на спектъра, като спектърът им на поглъщане има два максимума между 400 и 500 nm. Те отразяват и пропускат зелените, жълтите, оранжевите и червените лъчи.

Каротиноидите изпълняват редица физиологични функции във фотосинтезиращите организми: антенна – като допълнителни пигменти участват в поглъщането на светлината; защитна

– гасители на триплетния хлорофил и на синглетния кислород; фотопротекторна – предпазват реакционния център от мощните потоци енергия при висока интензивност на светлината и стабилизират липидната фаза на тилакоидните мембрани, защитавайки я от преокисление.

Антенна функция на каротиноидите – поглъщане на светлината

Каротиноидите се включват както в светосъбиращите комплекси на пигментните системи, така и в пигментираните протеини на реакционния център (РЦ), като поглъщат светлина в синьо-виолетовата и синята част на спектъра (400 – 500 nm) и препредават нейната енергия до хлорофилите на РЦ. В спектъра на сумарната слънчева радиация на повърхността на Земята значителна част се пада на синята и виолетовата част на спектъра (480 – 530 nm). При ниско положение на Слънцето се увеличава делът на червените лъчи и нараства частта на разсеяната светлина, в която има много синьо-виолетови лъчи. Техният дял се повишава и при облачно време. Така че значението на каротиноидите като допълнителни пигменти е да използват късовълновата част на светлинния спектър при фотосинтезата, като с това се разширява ефективността на фотосинтетичната зона на спектъра и съответно екологичната приспособеност на организмите.

Защитна функция на каротиноидите

Защитна функция на β -каротина – фотохимично гасене на възбуденото състояние на хлорофила (или кислорода)

Каротиноидите, особено β -каротинът, изпълняват много важна защитна функция, предпазвайки светлочувствителните хлорофили от фотоокислителни повреди. Причина за фотодинамичните увреждания може да бъде кислородна молекула, намираща се в първо възбудено синглетно състояние. Синглетният кислород има много висока реакционна способност и може да окислява различни органични молекули, включително хлорофили, пурины в нуклеиновите киселини и полиненаситени мастни киселини, като ги уврежда.

Молекулите на β -каротина защитават РЦ на фотосистема II (ФСII) от фотоокислителни повреди главно по два начина:

– *Гасене на възбуденото триплетно състояние на хлорофила чрез триплет-триплетен енергиен пренос.*

Когато енергията, съхранена в хлорофилите във възбудено състояние бързо се разпръсква чрез трансфер на възбуждането или фотохимичен процес, възбуденото състояние се „гаси“. В противен случай възбуденият хлорофил може да взаимодейства с молекулния кислород, като се образува възбудено състояние на кислорода – синглетен O_2 . Каротиноидна молекула, която се намира в основно синглетно състояние, може да конкурира атмосферния кислород за триплетния хлорофил ($^3Хл.$). Когато реагира с него, получава се хлорофил в основно синглетно състояние и каротиноид във възбудено триплетно състояние ($^3Кар.$). Възбуденото състояние на каротиноида няма достатъчно енергия, за да формира синглетен O_2 , така че се връща бързо в основно не възбудено състояние, губейки своята енергия като топлина.

С тази си роля на защитни агенти срещу хлорофил-сенсibiliзираното фотоокисление каротиноидите участват в т.нар. неензимна система на антиоксидантна защита на растенията.

– *Фотозащитна функция на ксантофилите в ССК – нефотохимично гасене на хлорофилната флуоресценция*

Когато интензивността на светлината е по-висока от необходимата за насищане степен на електронния транспорт, излишъкът от абсорбирана енергия може да доведе до увреждане на РЦ на ФСII, формиране на триплетен хлорофил в антената и фотоокисление на пигментите. Развит е механизъм, който да разсейва излишъка от енергия безвредно като топлина, включващ взаимно превръщане на ксантофилите, наречено виолаксантинов или ксантофилов цикъл. Процесът се индуцира от подкиселяването на тилакоидния лумен, което е свързано с формирането на протонна движеща сила. Чрез него енергията се разсейва главно в ССКII на ФСII.

Структурна роля на каротиноидите

Каротиноидите, и особено ксантофилите, са важна съставна част на светосъбиращите комплекси и водят до тяхното стабилизиране и/или правилно комплектоване. Под действие на светлина с висока интензивност молекулата на зеаксантин се ориентира в липидния слой на тилакоидната мембрана перпендикулярно към нейната повърхност, като благодарение на двете си полярни хидроксилни групи съединява двата липидни слоя. В резултат вискозитетът на мембраните

се повишава, което намалява тяхната чувствителност към преокисление от активни кислородни форми.

Освен във фотосинтезиращи, каротиноидите са разпространени в нефотосинтезиращи организми (гъби, бактерии) и в нефотосинтезиращи растителни органи – венчелистчета, плодове, прашници и др., в които изпълняват функции, несвързани с фотосинтезата. Например ярко обагрените с каротиноиди цветове и плодове привличат насекоми, птици и др. и така подпомагат опрашването и разпространението на семената.

Фикобилини

Фикобилините се срещат в цианобактериите и във водорасли от отделите *Phodophyta* и *Cryptophyta*. В зависимост от цвета пигментите се делят на:

- червени фикоеритробилини (главно в червените водорасли)
- сини фикоцианобилини (преобладават в цианобактериите)
- алофикоцианини (в цианобактерии и водорасли).

Фикобилините са тетрапирили с отворена верига, които имат система от конюгирани двойни и прости връзки. Те са хромофорни групи на фикобилипротеините – глобуларни протеини, с които са здраво свързани с ковалентни връзки. Истинската форма на тяхната молекула може да се представи като „незатворен пръстен“. В клетките на водораслите и цианобактериите фикобилипротеините агрегират помежду си, образувайки особени гранули, наречени фикобилизоми, които са подредени в ансамбли на повърхността на тилакоидните мембрани.

Фикобилипротеините са разтворими във вода или в разтвори на соли. Всяка от трите групи има характерен спектър на поглъщане на светлинните лъчи главно в жълтозелената част на спектъра. Това е точно тази част, в която зелените растения не абсорбират фотони и по такъв начин остава отворена като един „оптичен прозорец“. Фикоеритрините имат максимум на поглъщане от 498 до 568 nm, фикоцианините от 585 до 630 nm, а алофикоцианините – от 585 до 650 nm. За фикобилипротеините е характерна ярка флуоресценция: за фикоеритрина оранжева с максимум около 575 nm, за алофикоцианина червена с максимум 660 nm.

Най-важната функция на фикобилините във водораслите и цианобактериите е включването им в светосъбиращия комплекс на фотосистемата като допълнителни пигменти, последователно разположени във фикобилизомата: на повърхността са късовълновите пигменти – фикоеритробилини, следват фикоцианобилини и в центъра на фикобилизомата пигментите с най-дълговълнов максимум – алофикоцианини (винаги присъстващи в малки количества). Те лежат директно върху тилакоидната мембрана и могат да предават своята енергия на възбуждане върху антенните пигменти хл. *a*. Такова разположение на пигментите във фикобилизомата позволява висока скорост и ефективност на миграция на погълнатата енергия до хл. *a*, локализиран в мембраната. Около 90% от погълнатата енергия на зелените, жълтите и оранжевите фотони, уловени от фикобилините, се предава главно към реакционния център на фотосистема II, докато фотосистема I се състои преди всичко от пигменти хл. *a* и каротиноиди.

Фикобилините вземат участие в т.нар. хроматична адаптация при водораслите. Имат се предвид качествените изменения в състава на светлината при проникването ѝ в дълбочина в моретата и океаните в зависимост от оптическите свойства на водата и разпределението на фотосинтезиращите организми по етажи, което от своя страна се определя от фотосинтетичните им пигменти. До 34 m дълбочина напълно се поглъщат червените лъчи, затова в горните слоеве обитават предимно зелените водорасли. До 177 m изчезват жълтите, после зелените (322 m) и около 500 m – сините и виолетовите лъчи. Във връзка с това под зелените водорасли се срещат кафявите, а още по-дълбоко – цианобактериите и червените водорасли. Установено е, че ако цианобактериите *Oscilaria sancta* се отглеждат на светлина с различен спектрален състав, в тях се развива допълнително оцветяване: на зелена светлина стават оранжевочервени, а на червена – зелени. Тези промени се свързват главно с изменения в синтезата на фикобилините. В много цианобактерии и червени водорасли е установено обаче, че за адаптацията към вариращия спектрален състав на светлината значение имат и промените в количеството и състава на различните спектрални форми хлорофили *a* и *b*.

Нефотосинтетични пигменти

За растителните организми светлината е източник не само на енергия, но и на информация, и в този случай тя има регулаторна функция. За да може светлината да оказва регулаторното си

въздействие, растението трябва да „вижда“ и да „диференцира“ различните светлинни потоци, техния спектрален състав, като в крайна сметка *трансформира светлинния сигнал в биологичен отговор*. За тази цел растителният организъм разполага със специфични фоторецепторни пигменти, различни от пигментите на фотосинтезата:

Фитохром – фоторецептор главно на червената светлина,

Криптохром – фоторецептор на синята светлина.

Други фоторецептори в растенията на синята светлина са флавини, каротиноиди, фототропини и някои порфирины.

Фитохромна пигментна система

Най-важен фоторецептор на растенията е **фитохромът** – той е тяхната „зрителна система“. С негова помощ светлината контролира – пряко или косвено, повечето основни процеси от жизнената дейност на растителния организъм и преди всичко процесите на неговия растеж, диференциация, морфогенеза.

Ключов момент в историята на фитохрома има откритието, че ефектите на червената светлина (ЧС 650 – 680 nm) върху морфогенезата може да бъдат обърнати чрез следващо облъчване със светлина с по-голяма дължина на вълната (710 – 740 nm), наречена далечна червена светлина (ДЧС). Изследванията в това отношение са проведени с фотопериодичночувствителни растения и с покълващи на светло семена. Съвършено различни по своята проява морфогенетични ефекти (потискане растежа на стъблото на ечемик, за изправяне извивката на етиолиран прорастък от грах, за забавяне на стъбленото удължаване и за други процеси на деетиоляция) се контролират в растенията от една и съща фоторецепторна система. Тя е наречена фитохром (Р) и съществува в две взаимнопревръщащи се форми – Р_ч (Р₆₆₀) и Р_{дч} (Р₇₃₀). На тъмно се синтезира Р_ч, физиологично неактивната форма. Под действието на червената светлина Р_ч се превръща във физиологично активната Р_{дч}, а под влиянието на далечната червена Р_{дч} се превръща обратно във формата Р_ч.

Сигналът, индуциран от светлината, се подава от Р_{дч} по сигнално трансдукционен път към промоторни области на гени, контролиращи фотоморфогенеза и други светлиннозависими биологични реакции.

За прехода Р_ч във Р_{дч} е достатъчно кратковременно осветяване с ЧС, а превръщането на Р_{дч} в неактивна форма Р_ч става (освен след осветяване с ДЧС) на тъмно, самопроизволно за 4 – 24 h, при това значителна част от него може и да се разруши.

Фитохромът се среща във всички растителни организми – висши растения, папрати, мъхове, зелени и червени водорасли, синтезира се в пластидите. Фитохромът представлява синьо-зелен цитозолен хромопротеин, предимно хидрофилен, който се състои от белтъчна и хромофорна част. Фитохромът поглъща светлина в *червената/далечната червена* и в *синята област* на светлинния спектър. В червената област на спектъра *максимумът на поглъщане* на Р_ч-формата е около 660 nm, на Р_{дч}-формата – около 730 nm.

Криптохром-фоторецептор на синята и ултравиолетовата светлина

Криптохроми се срещат навсякъде в растителното царство. Спектърът на действие на криптохрома показва два пика в диапазона на ултравиолетовата (320 – 400 nm) и един пик в синята област на видимия спектър (400 – 500 nm). Хромофорът (поглъщащата молекула) на криптохрома е флавин. Ефектът на криптохрома е в цялостната фотоморфогенеза-контрол на фотопериодизма при цъфтежа, инхибиране удължаването на стъблото, стимулиране удължаването на листата, регулиране на движението на хлоропластите в клетката.

Към тип **Плоски червей (*Platyhelminthes*)** типа се числят над 30 000 вида, повечето от които са паразити. Свободноживеещите представители преобладаващо са обитатели на сладки и солени води. Размерите на тялото съществено варират – от 0.5 мм до 30 м (тении в китове).

Плоските червеи са двустранно симетрични червеи с несегментирано, дорзо-вентрално сплеснато тяло. В ембрионалното им развитие се обособяват три зародишни слоя – екотдерма, мезодерма и ендодерма, в резултат на което при възрастните червеи се развиват различни тъкани и органи, несъществуващи при по-примитивните животни. Стената на тялото – кожно-мускулна торба, е изградена от покривката на тялото и разположената под нея система от мускулна влакна в няколко слоя. Вътрешността е запълнена с паренхим, който има опорна функция, служи като депо за резервни вещества и участва в обмяната. Част от паренхимните клетки са стволови клетки, които могат да се трансформират във всеки друг вид клетки и се използват за регенериране на тъкани след нараняване или безполово размножаване. За първи път в животинското царство се появява храносмилателна система, която се състои от предно (уста, глътка, хранопровод) и средно черво, т.е. това е система само с един отвор, както за приемане на храната, така и за отделяне на несмлени частици. Плоските червеи нямат циркулаторна (кръвоносна) система, която да може да транспортира хранителни вещества, червата на големите видове имат много разклонения, което позволява на хранителните вещества да се разпространяват до всички части на тялото. При паразитните форми храносмилателната система може да е изцяло редуцирана (тении).

Плоските червеи имат протонефридийна отделителна система, чиято основна роля е да поддържа осмотичното равновесие в тялото, но също и за отделяне на метаболитни продукти. Системата се състои от пламъчни клетки и мрежа от извещаващи канали.

Плоските червеи нямат специализирани дихателни органи и обмяната на газовете се осъществява чрез дифузия. Нервната система е от ганглиев тип. Обособява се пръстен с ганглии и нервни стволове свързани с напречни връзки.

Те са хермафродитни животни (има изключения) и имат полова система с жлези със собствени, добавъчни жлези и органи обезпечаващи вътрешно оплождане.

Клас *Trematoda* (Трематоди, Смукалници, Метили)

Класът изцяло се състои от облигатни ендопаразити със сложен жизнен цикъл, свързан със смяна на гостоприемниците – безгръбначни и гръбначни животни. Познати са над 20 000 вида. Размерите варират от 0.2 мм до 6 – 7 см.

Тялото е с листовидна или ланцетовидна форма и притежава смукала, откъдето е дошло името на класа. Смукалата са изградени от сложна система от мускулни влакна и са органи за прикрепване. Обикновено има едно смукало в предния край на тялото (в дълбочината му е устата) и едно на коремната страна – съответно устно и коремно. Покривката на тялото – тегумент, е без реснички. Външната част представлява синцитий – безядрена цитоплазматична пластинка, съдържаща много митохондрии и вакуоли. Чрез цитоплазматични връзки този слой се съединява с потъналите в паренхима ядра. В цитоплазматичната пластина често има кутикулни шипове като допълнителни органи за прикрепване. Базална мембрана разделя синцития от пръстеновидни и надлъжно разположени мускулни слоеве.

Устата води в мускулеста ектодермална глътка, която продължава в къс хранопровод. Ендодермалното средно черво най-често се състои от два клона, разположени назад в тялото и завършващи сляпо. При едрите Трематоди двата клона на червото са силно разклонени за улесняване процеса на разпределяне на храната в тялото. Метилите се хранят с клетки, клетъчни фрагменти, слюз, телесни течности или кръв. Нервната система се състои от чифтен мозъчен ганглий, от който напред излизат нерви към устното смукало, а назад излизат три двойки стволове, свързани помежду си с напречни връзки. Сетивните органи са много слабо развити, което е свързано с паразитния начин на живот. При ларвните форми има неголеми очи и кожни рецептори. Отделителна система е протонефридиен тип и състои обикновено от двойка главни събирателни канали, от които излизат странични клонки, завършващи с терминални клетки.

Хермафродитната полова система варира в подробности при различните видове. При *Dicrocoelium dendriticum* е следната: мъжкият отдел е представен от два закръглени семенника, лежащи зад коремното смукало. От тях излизат семепроводи, които се сливат в семеизпразващ канал завършващ с мускулист копулационен орган. Яйчникът е един и от него излиза къс яйцепровод, преминаващ в оотип, в който се вливат каналите на гроздовидни жълтъчни жлези. От оотипа води началото си дълъг извит канал – матка, която се отваря в половата клоака. С оотипа е свързан и семеприемник. Семенната течност се въвежда през матката и попада в семеприемника. Зрелите яйцеклетки постъпват в оотипа, където става оплождането им, обграждат се от жълтъчни клетки и се оформя обвивката на яйцето. Яйцата постъпват в матката и се придвижват към половата клоака.

Жизненият цикъл е сложен, защото е свързан с редуване на поколенията и смяна на гостоприемниците. В обобщен вариант той е следния: хермафродитната полово зряла форма (мари́та) паразитира в черва, бели дробове, големите кръвоносни съдове на коремната кухина и черния дроб на сухоземни гръбначни животни и човек. Отделените зрели яйца се изнасят навън с фекалиите. По-нататък развитието продължава в междинни гостоприемници, като първи междинен гостоприемник са обикновено охлюви (водни или сухоземни), а втори – риби или членестоноги. Паразитите проявяват много тясна специфичност към охлювите и даден вид Тремато́д може да се развива само в определен вид охлюв. Към вторите гостоприемници обаче те са по-широко специфични. Ако междинния гостоприемник е воден охлюв, яйцето трябва да попадне във вода. От него се излюпва ларва – мира́цидий, покрита с реснички. Тя не се храни, а използва резервни вещества. Мира́цидият има две очи, мозъков ганглий и двойка протонефри́дии. В тялото му има зародишни клетки. В предния край има хобот, в който се отварят каналите на жлеза, чиито секрети подпомагат навлизането в тялото на междинния гостоприемник (водни охлюви). Там мира́цидият се превръща в споро́циста – безформена неподвижна форма, която е способна да се размножава. По такъв начин мира́цидият условно представлява ларвен стадий на споро́циста. Споро́цистата няма черво; храни се като отделя ферменти, които разрушават клетките на черния дроб. Повърхността на ларвата има микровласинки, подпомагащи всмукването на храната. Зародишните клетки започват да се дробят и дават начало на следващото поколение – редия́. Те се хранят с клетките на черния дроб на охлюва. Редиите са подвижни и в тях отново има зародишни клетки, които дават следващото поколение – церка́рий. Церкариите имат смукало, черво и мозъчен ганглий. Не се хранят, а живеят за сметка на запасни вещества. Имат мускулиста опашка, чрез която активно плуват след като напуснат охлюва. При наличие на втори междинен гостоприемник, церкарият трябва да попадне в него, където се инцистира – метацерка́рий. В случаите, когато няма втори междинен гостоприемник, церкария се прикрепя към подводните части на растения и се превръща в адолеска́рий. Когато крайният гостоприемник погълне последния ларвен стадий, се инвазира и във вътрешните му органи се развива възрастната форма.

Жизненият цикъл при Тремато́дите се нарича хетерогония, защото се редуват две партеногенетични и едно полово поколения. За нормалното протичане на жизнения цикъл са необходими редица благоприятни условия. Във връзка с това е много високата продуктивност на яйца при тези паразити – до десетки хиляди, като механизъм за запазване на видовете.

Fasciola hepatica – Голям чернодробен метил. Достига на дължина до 4 – 5 см, с листовидна форма. Повечето вътрешни органи – черво, семенници, яйчник, са силно разклонени. Възрастната форма живее в жлъчните канали на черния дроб на овце, едър рогат добитък и човек.

През жлъчните канали на черния дроб и червото на крайния гостоприемник яйцата на метила се изхвърлят с изпражненията във външната среда. В сладководни басейни (блата, езера и др.) при благоприятни условия за 4 – 6 седмици, от яйцето се излюпва ларва – мира́цидий, която се движи активно и търси междинния гостоприемник – водни охлювчета *Galba truncatula*. В тях мира́цидиумът активно прониква посредством хобота и навлиза в черния дроб на охлювчето. Тук развитието последователно преминава през споро́циста, редия́ и церка́рий. Церкариите напускат охлюва, плуват във водата и се прикрепват към растителността като устойчиви цисти – адолеска́рии. Адолескариите могат да останат жизнени до 2 – 3 години. Те се поглъщат от крайния гостоприемник (овце, говеда) при паша. Човекът може да се зарази от фасцио́лоза при ядене на ливадни треви (киселец, лапад), диви ягоди, паднали по земята плодове или при пиене на вода от замърсени източници. В червата му адолескариите се освобождават от обвивката си и през чревната стена по кръвен или лимфен път достигат до жлъчните канали на черния дроб, където след 3 – 4 месеца достигат до полова зрелост. Фасцио́лозата е повсеместна, но нейното географско

разпространение е свързано с наличието на междинните гостоприемници. Тя се среща най-често в райони с високи подпочвени води, заблатявания и постоянно влажни – добри условия за развитието на блатните охлюви. Патогенното въздействие се изразява в запушване на жлъчните канали, силно възпаление на черния дроб, жълтеница, цироза.

Малкият чернодробен метил (*Dicrocoelium dendriticum*) има листовидна форма с по-заострен преден и заоблен заден край и дължина 5 – 12 мм. Вътрешните органи са компактни. Паразитира в жлъчните канали на черния дроб на едър и дребен рогат добитък (главно овцете) и човек. Яйцата се изхвърлят навън с изпражненията на крайния гостоприемник и в тях вече е формиран мирацидий. Яйцата се изяждат от междинния гостоприемник – сухоземни охлювчета от родовете *Helicella*, *Zebrina* и др. Ларвното развитие протича в черния дроб на охлюва (спороцисти, редии). Церкариите образуват сборни цисти с около 100 – 300, които се изхвърлят навън през дихателния отвор на охлювчето и полепват по тревата. Цистите се поглъщат от някои видове мравки (*Formica*), които се явяват втори междинен гостоприемник на малкия метил. У тях церкарият загубва опашката си и се превръща в метацеркарий. Крайният гостоприемник се заразява при изяждане на инвазирани мравки при паша. Метилите нараняват стените на жлъчните и чернодробни канали при движението си, хранят се с гликоген от чернодробния паренхим, отделят токсини и правят възможни вторични инфекции.

Schistosoma haematobium паразитира в кръвоносните съдове на пикочния мехур на човек и причинява пикочно-половата шистозоматоза. Видът е разделнополов. Мъжкият е дълъг 12 – 15 мм и на коремната си страна има дълбок жлеб (гинекофорен канал), в който се помещава женската – дълга около 20 мм. Ларвите се развиват в черния дроб, след което възрастните се локализируют в кръвоносните съдове на коремната кухина по двойки. Отделените от женската яйца, съдържат оформени мирацидии, които се движат известно време в кръвния поток, след което пробиват пикочния мехур и се извеждат с урината навън. Междинен гостоприемник са водни охлюви. Ларвите церкарии напускат охлювите и навлизат в човек като пробиват кожата при къпане, работа в оризища. Паразитите могат да живеят в тялото на човек няколко десетилетия. Става нарушаване на стената на пикочния мехур, отделяне на кръв, образуване на камъни, възникване на злокачествени образувания. Болестта е разпространена в Африка, Индия, Югоизточна Азия, Южна Америка. Около 200 млн. човека боледуват от шистозоматоза (пикочно-полова и чревна). Яйца на паразита са намерени в египетски мумии.

Тениите (**Клас Cestoda**) паразитират във възрастно състояние в червата на гръбначни животни, а ларвните стадии се развиват в различни тъкани и органи – мускули, черен дроб, сърце, мозък и др., както в гръбначни, така и в безгръбначни животни; те са биохелминти. В тялото на човек паразитират представители на няколко десетки вида тении, като в повечето случаи той е краен гостоприемник. Тениите имат плоско, лентовидно, силно удължено тяло, изградено от голям брой членчета; някои видове достигат до 30 м дължина, но има и видове с дължина едва 3-4 мм. В предния край на тялото има обособен сколекс, носещ прикрепителни органи (смукала, кукички); след него е шийката (несегментиран участък на нарастване) и членчета – проглотиди. Много характерен признак на тениите е пълната липса на храносмилателна система. Паразитите лежат в смляната храна на тънките черва на гостоприемника и всмукват хранителни вещества с цялата си повърхност. Половата система е разположена метамерно, т.е. повтаря се във всяко членче (липсва в първите незрели членчета). Така се гарантира производството на огромен брой яйца, осигуряващи оцеляването на вида.

***Taenia solium* (свинска тения)** е разпространена повсеместно. На дължина достига 2 – 3 метра и стробилата ѝ съдържа около 800 проглотида. Сколексът е с размер 0.6 – 2 мм; има 4 вендуза и ростелум с два реда кукички и служи за прикрепване към чревната лигавица. Яйчникът в хермафродитното членче е триделен. В зрялото членче матката има 9 – 12 странични разклонения и съдържа около 50 000 яйца.

Краен гостоприемник на *Taenia solium* е човекът. Паразитът може да живее няколко години в тънките черва. С изпражненията навън се изхвърлят зрели членчета, пълни с оплодени яйца. Като всеядно животно, което поглъща дори изпражнения, свинята става междинен гостоприемник на тенията и в стомаха ѝ попадат зрелите проглотиди и яйца. В дванадесетопръстника (началото на тънкото черво) от яйцата се освобождават ларви онкофери, които пробиват активна чревната лигавица. С кръвния ток те се отнасят до скелетната мускулатура, където за 2 – 2.5 месеца се образуват ларви цистицеркуси (*cysticercus cellulosae*). Цистицеркусът представлява продълговат мехурче, дълго 1 см, изпълнено с течност, с прикрепен към вътрешната му стена и обърнат

навътре сколекс на тенията. Човек се заразява при ядене на опаразитено с цистицеркуси, недобре термически обработено свинско месо. Сколексите на ларвите се освобождават и достигнали до тънките черва, се прикрепват се към лигавицата. Започва интензивно нарастване чрез прищипване в шийната област и след около 3 месеца се формират възрастни тении. Заболяването се нарича тениоза.

Освен краен, човекът може да бъде и междинен гостоприемник на свинската тения. В този случай заболяването се нарича цистицеркоза, тъй като у човека се развиват цистицеркусите. Заразяването може да стане чрез поглъщане на яйца на свинска тения със замърсени с човешки изпражнения плодове и зеленчуци или чрез автоинвазия, ако човек е болен от тениоза. От яйцата се излюпват онкосфери, които с кръвния ток достигат вътрешни органи (много често мозък, очи), където се развиват цистицеркуси. Човек може да боледува само от цистицеркоза без едновременно да страда от тениоза.

Свинската тения оказва на човека токсично (чрез отделените в гостоприемника метаболитни продукти), механично (чрез вендузите и кукичките на сколекса си) и нутритивно (поглъща много хранителни вещества от чревното съдържимо поради големите си размери) въздействие.

Говеждата тения – *Taenia saginata* (синоним *Taeniarhynchus saginatus*) е разпространена повсеместно. Тя достига на дължина до около 10 – 15 м и съдържа 1000 – 2000 проглотици. Сколексът е закръглен, с диаметър 1 – 2 мм и има 4 вендуза. Липсва ростелум с кукички. Яйчникът в хермафродитното членче е двуделен, а матката в зрялото членче има 18 – 36 странични разклонения и съдържа до 150 000 яйца. Ежедневно се откъсват и отделят 6 – 8 членчета.

Краен гостоприемник на говеждата тения е човекът. Тя паразитира в тънките черва и може да живее до 25 години в тялото му. Болният отделя с екскрементите зрели членчета или яйца. Яйцата са овални, обвивката е тънка и прозрачна. Вътре се намира зародиш – онкосфера, обвита от двупластна напречно набраздена обвивка (ембриофора). Зародишът има 3 двойки кукички. Попаднали във външната среда, проглотиците отделят яйцата си, докато се движат. Тези онкосфери могат да останат жизнеспособни в продължение на няколко дни до седмици в канализация, реки и пасища. Междинните гостоприемници – говеда и биволи, могат да погълнат ембрионираните яйца, когато ядат замърсена храна. В дванадесетопръстника (началото на тънкото черво) обвивката на яйцето се разпада и се освобождава ларвата онкосфера, която пробива чревната стена; чрез кръвта тя достига до различни части на тялото и се установява в мускулатурата в рамките на 70 дни. Там се превръща в ларва цистицеркус – *cysticercus bovis*, която е мехуровидна, с диаметър около 1 см, изпълнена с прозрачна течност и оформен сколекс на бъдещата тенията. Ларвата може да се локализира също в белия и черния дроб. В тялото на говедата ларвите могат да са жизнени до 1 – 2 години, след което загиват. Хората обикновено се заразяват с говежда тения в резултат на консумация на сурово или недостатъчно термически обработено говеждо месо, което съдържа инфекциозните ларви – цистицерки. Когато цистицеркусът достигне тънкото черво, се освобождава сколексът, чрез който става прикрепване за лигавицата. За около 5 до 12 седмици ларвата нараства до зряла тения.

Говеждата тения е голям хелминт и увреждащото ѝ действие върху човека е механично, токсично и нутритивно. Заболяването се доказва с установяване на тениозни яйца в изпражненията на болния и изследване на типа на матката и броя на нейните разклонения в зрелите проглотици.

***Echinococcus granulosus* (кучешка тения, ехинокок).** Видът е разпространен повсеместно.

Ехинококът е малка тения с дължина 3 – 6 мм, а стробилата е от 3 проглотици. На сколекса си има четири вендуза и ростелум с 36 – 40 кукички в два реда. В зрялото последно членче на тенията се съдържат около 1000 оплодени яйца.

Краен гостоприемник на кучешката тения са кучета, чакали, вълци, лисици. Междинни гостоприемници са тревопасни домашни и диви животни, а също и човек. В червата на крайния гостоприемник могат да се развиват стотици тении. Зрелите членчета се отделят с изпражненията или активно използват от червата и така става замърсяване с яйцата на ехинокока на козината на животното, почвата, водата, плодове, зеленчуци, предмети и т.н. Яйцата са устойчиви в околната среда и чрез замърсена храна или вода попадат в междинния гостоприемник. В червата на междинния гостоприемник от яйцето се излюпва ларва онкосфера. Тя активно прониква в кръвта и така се разнася най-често до черния дроб, белия дроб, мозък и по-рядко до слезка, бъбреци, мускули и други вътрешни органи. Тук ларвата расте и се превръща в ехинококов мехур (*echinococcus unilocularis*), който може да достигне до 10 – 20 см в диаметър. В говеда са установявани ехинококови мехури тежащи до 60 кг. Той е сложно устроен и има три обвивки:

- външна – съединително-тъканна; тя е образуване на тъканите на инвазията гостоприемник за изолиране на ларвата;
- средна – плътна и еластична неклетъчна обвивка, която защитава съдържанието на мехура от проникване на вируси, бактерии и др.;
- вътрешна – зародишна (герминативна), която образува сколекси и пъпкува дъщерни мехури.

Ехинококовият мехур е изпълнен с прозрачна безцветна течност, богата на минерални вещества. В нея се съдържат дъщерни мехури, в които могат да се образуват допълнително нови дъщерни мехури със сколекси. За разлика от цистицеркусите на свинската и говеждата тения, които са малки и съдържат по един сколекс, ехинококовият мехур съдържа огромен брой сколекси. Така описаният ехинококов мехур се нарича фертилен (зрял, плодовит). Мехурът понякога може да е стерилен – без дъщерни мехури и сколекси. Ехинококовите кисти растат бавно, но могат да причинят клинични симптоми при хората и да бъдат животозастрашаващи. Кистата оказва натиск върху околните тъкани, което може да доведе до нарушена функция на органите, спонтанни фрактури на костите и други неврологични ефекти. Когато кучето или друг от крайните гостоприемници изяде заразен вътрешен орган или дори част от ехинококов мехур от инвазирано животно, се заразява с кучешка тения. От погълнатите сколекси в червата му се развиват стотици възрастни тении.

Рибите са парафилетична група, обединяваща всички водни, дишащи с хриле гръбначни организми от подтип Craniota s. Vertebrata. Те са най-многочислената и най-разнообразна на видове група на гръбначните животни, като днес, по последни данни, са описани около 35 000 вида (близо 50% от всички видове гръбначни). Разпространени са повсеместно, като доминират в морските екосистеми и са широко разпространени в сладководните басейни и естуарите.

Характеристиките на водната среда се различават съществено от тези на сухоземната: водата има 800 пъти по-голяма плътност и многократно по-висок вискозитет от този на въздуха; концентрацията на разтворен кислород (O_2) във водата е приблизително 30 пъти по-ниска от съдържанието на O_2 в равен обем атмосферен въздух при същите условия; специфичната топлоемкост на водата е много по-висока от тази на въздуха, като водата провежда топлина приблизително 24 пъти по-добре; водата притежава електропроводимост, докато въздухът не е проводник на електричество; като много по-плътна среда отколкото въздуха, хидростатичното налягане във водата нараства линейно с дълбочината и се увеличава приблизително с 1 атмосфера на всеки 10 м дълбочина. Ето защо в хода на еволюцията при рибите се развиват адаптации и сетива, които се различават съществено от тези на сухоземните животни.

I. Хидродинамично тяло и движение. Адаптацията към водната среда започва с формата на тялото, която еволюира за **минимално съпротивление и ефективно движение**.

1. Форма на тялото. Плътността на водата и нуждата рибите да преодоляват нейното съпротивление е довела до разнообразни форми на телата им. Формата, която дава възможност за движение при сравнително малко съпротивление и следователно позволява развиване на по-висока скорост е **вретеновидна и леко странично сплесната**. Такава форма имат селдовите, пъстървовите, много от шарановите риби. В резултат от комбинацията на различните условия, при които живеят рибите, се наблюдават следните вариации: **Торпедовидна форма** – при нея се постига най-съвършената обтекаемост във водата. Такава форма имат повечето пелагични видове, които са приспособени към бързо и продължително плаване – много видове акули: селдовите акули, тигровата, бялата и акулата мако (смята се за най-бързата акула), скумриевите и тунците, рибата меч (най-бързата костна риба, развиваща скорост около 100 – 130 км/ч). Тази форма е заимствана от човека при проектиране на бързоподвижни кораби и скоростните торпеда; **Стреловидна форма** – равномерно източено по цялата дължина тяло, като гръбният и аналният плавателник са изтеглени назад към опашката. Характерна предимно за хищни риби, които не извършват продължителни плувания, но дебнат и нападат жертвата си от засада и развиват бърза скорост на къси разстояния (щуки, заргани, баракуди); **Змиевидна форма** – силно удължено змиевидно тяло с кръгло сечение. Обикновено опасната перка липсва или е слята с другите нечифтни плавателници, което осигурява плавни змиевидни движения на тялото. Тази форма позволява на рибите да пълзят и да се провираят между скалите и подводните растения, да се заравят в пясъка и тинята, както и да навлизат в телата на други животни (дънни риби – змиорки, мурени, миноги, миксини, виюни, щипоци и др.); **Лентовидна форма** – силно удължено, странично сплеснато тяло, адаптирано за провиране сред скали и предмети по дъното (дълбоководни морски риби като рибегребло и др.); **Плоска форма** – гръбо-коремно сплеснато тяло при дънни, бавно подвижни риби, които имат отлична плаваемост в хоризонтална плоскост и затруднена във вертикална (повечето скатове и всички калканоподобни); **Кръгла форма** – високо, силно сплеснато отстрани тяло. Такава форма на тялото имат предимно тропични представители, пригодени за живот сред гъсти коралови рифове и водорасли или в сладководни басейни, богати на водна растителност (рибите хирурзи, някои срасналочелюстни, риби папагали, сладководните дискуси и скалари); **Сферична или кълбовидна форма** – тази форма се среща рядко при рибите – основно при родове *Diodon* и *Tetrodon* от разред Срасналочелюстни (Tetradontiformes). Тялото им може да се раздува силно и да придобива форма на балон.

2. Слизеста кожна покривка, защитена от люспи. В епидермиса се намират многобройни едноклетъчни жлезисти клетки, които отделят слизест секрет, покриващ тялото на рибата. Този секрет има огромно значение за рибите: предпазва кожата от външно механично и химично

въздействие; намалява триенето при движение във водата, както и предпазва от навлизането на паразити в тялото. Люспите са дермални образувания, които, покривайки тялото, осигуряват механична защита и хидродинамичност. Има няколко вида люспи: **ганоидни** – ромбовидни, изградени от костна тъкан, покрити с емаилоподобно вещество, наредени керемидообразно, срещат се рядко – характерни за древни праисторически риби и малко съвременни видове (щука, есетра); **циклоидни** – леки, тънки, меки, с концентрични кръгове, по които може да се определи възрастта на рибата, характерни за повечето костни риби; **ктеноидни** – на задния край имат шипчета, характерни за някои хищни риби; **плакоидни** – само при акули и скатове, зъбовидни образувания, съдържащи емайл и дентин – еволюционна основа за зъбите.

3. Перки (Плавници). Както хрущялните риби, така и костните, притежават *чифтни* (гърдни и коремни) и *нечифтни плавници* (гръбен – един при костни риби и два при хрущялни, анален и опашен). Различните перки имат специфични функции за движение и стабилност. Опашната (каудална) перка е основен двигателен орган, осигуряващ тласък. Гръбните (дорзални) и аналните перки предотвратяват преобръщането (накланянето) и осигуряват стабилност. Гръдните (пекторални) и коремните (пелвични) перки служат за управление, маневриране, спиране и поддържане на позицията. Гръдните плавници при повечето риби са по-добре развити от коремните, във връзка с ролята им на стабилизатори и навигатори на движението. При някои видове риби (попчета, сомове, риби прилепала) коремните перки могат да бъдат видоизменени във вендузи, с които рибите се прикрепват за дъното, или изобщо да липсват (морски игли, морски кончета, тетраодони, дълбоководни голямоустни, риба луна).

4. Регулация на плаваемостта: Плавателен мехур (*vesica natatoria*) – един от най-важните органи за живот във водата, характерен за повечето костни риби. Той действа като хидростатичен орган, който позволява на рибата да контролира своята *плаваемост* (способността на телата да се задържат на повърхността на водата) и да поддържа *нулева плаваемост* (общата плътност на рибата е изравнена с плътността на заобикалящата я вода), за да се задържа на определена дълбочина във водния стълб, без да изразходва енергия за постоянно плуване. Чрез регулиране на количеството газ в мехура, рибите могат да променят плаваемостта си, за да се издигат, спускат или поддържат определена дълбочина. Когато рибата иска да се издигне, тя увеличава обема на газа в плавателния мехур, като по този начин намалява плътността му спрямо околната вода. Обратно, за да потъне, рибата компресира плавателния мехур, намалявайки обема му и увеличавайки плътността му. Този прецизен контрол върху плаваемостта позволява на рибите да пестят енергия, да избягват хищници и ефективно да търсят храна. Стената на мехура е пропусклива за газове и може да се разтяга, като увеличава обема му многократно. Първоначално възниква като предшественик на белия дроб, но днес, паралелно с хрилете, изпълнява дихателна функция единствено при древни риби като двойнодишащите и многоперите. Разполага се дорзално между гръбначния стълб и храносмилателния канал. Ембрионално произлиза от предното черво. Има две основни групи костни риби: **физостомни** – мехурът е свързан с хранопровода чрез белодробен канал и газът се изпуска или приема чрез устата (шаранови, селдови), и **физиоклистни** – повечето съвременни риби, при които мехурът няма връзка с храносмилателния тракт, напълва се с въздух през ларвния стадий и след това газовете в мехура се отделят и резорбират чрез кръвоносната система посредством специални структури като газоотделяща жлеза, *rete mirabile* (чудна мрежа) и овален прозорец. **Rete mirabile** е гъста мрежа от фини артерии и вени, разположена до **газовата жлеза**, която „напомпва“ газ (главно кислород, O₂) в мехура чрез следния стъпков механизъм: (1) артериалната кръв идва към газовата жлеза, наситена с разтворен O₂, свързан с хемоглобина; (2) газовата жлеза подкислява кръвта, тъй като нейните клетки отделят млечна киселина и CO₂; (3) при понижено рН хемоглобинът губи способност да задържа O₂ и той се освобождава в голямо количество в плазмата; (4) артериите и вените в *rete mirabile* вървят успоредно, но в противоположни посоки и O₂ дифундира от венозната към артериалната кръв, което постепенно увеличава парциалното налягане на O₂; (5) налягането на O₂ в кръвта нараства каскадно, става по-високо от това в мехура и O₂ започва да навлиза в мехура през стената му. За да освободят газ от плавателния мехур и да намалят своята плаваемост, рибите използват структура, наречена **овален прозорец** – обратният механизъм на *rete mirabile*, която действа като клапан и връща O₂ от мехура в кръвта. Мускулите около овалния прозорец се отпускат, прозорецът се „отваря“ и заради разлика в налягането, чрез пасивна дифузия O₂ излиза от мехура. Това позволява прецизен контрол дори на големи дълбочини. Друга функция на плавателния мехур е из-

ползването му като резонатор за произвеждане или получаване на звук, позволявайки на рибите да комуникират ефективно на големи разстояния, което е от значение за брачното поведение, териториалните прояви и груповата координация. При някои риби, като шарановите, мехурът е свързан със слуховия апарат (Веберов апарат) и чувствително подобрява слуха, като усилва и предава звуковите вибрации към вътрешното ухо. Плавателният мехур се използва и като стабилизатор на тялото, който подпомага равновесието във водата.

Хрущялните риби (акули и скатове) нямат плавателен мехур. Те контролират плаваемостта си чрез големия си, омазнен черен дроб и чрез постоянно движение (*динамична плаваемост*).

II. Дишане: Хриле. Рибите обменят O_2 и CO_2 чрез използване на хрилете (*branchiae*). При хрущялните риби хрилните отвори (най-често 5) се отварят директно на повърхността на тялото от двете страни зад главата. При костните риби са поместени в хрилни кухни от двете страни на главата и са покрити от подвижно *костно капаче* (*оперкулум*, *operculum*), което ги защитава. Хрилете се състоят от:

- **Хрилни дъги** (4 или 5 двойки) – поддържащи скелетни структури – костни при костните риби, хрущялни – при хрущялните;
- **Хрилни нишки** (*филаменти*) – подобни на влакна структури, излизащи от външната страна на всяка дъга, подредени плътно под формата на гребен, които са съставени от много на брой хрилни ламели;
- **Хрилни ламели** – основни функционални единици на газообмена, представляващи миниатюрни плоски дисковидни структури, разположени по дължината на хрилните нишки, осигуряващи дифузионна повърхност за обмен на O_2 и CO_2 между водата и кръвта. Те са богато кръвоснабдени, тънкостенни, покрити с еднослоен епител, което минимизира дифузионното разстояние между водата и кръвта. Ламелите са действителното място на газовия обмен. Тяхната структура осигурява огромна обща повърхност, сравнима с тази на човешките бели дробове.

За да диша, рибата трябва непрекъснато да прекарва вода над хрилните си повърхности – процес, наречен *вентилация*. Механизмът на дихателните движения при хрилното дишане се състои от два етапа – при „вдишване“ устата се отваря, водата навлиза през устата, хрилната празнина се разширява, хрилното капаче е затворено върху околохрилното пространство, а при „издишване“ устата се затваря, хрилната празнина се свива, хрилното капаче се отваря и водата излиза през цепнатината под налягане. Този двуфазен, постоянен процес гарантира, че хрилните ламели непрекъснато се мият от свежа, богата на O_2 вода чрез непрекъснат воден ток през устата и хрилете навън.

Най-важната адаптация, която прави дишането на рибите толкова ефективно, е системата на *противотоков механизъм*. За да извлече максимално количество O_2 от водата, която съдържа много по-малко O_2 от въздуха, кръвта в капилярите, обвиващи хрилете, е организирана така, че да тече в посока, обратна на тази на водния поток. Венозната кръв, бедна на O_2 , от тялото на рибата навлиза в ламелите, а водата, богата на O_2 , тече през ламелите в обратна посока. Кръвта, която е почти наситена с O_2 , среща най-богатата на O_2 вода (която току-що е навлязла в хрилете). Това позволява на кръвта да достигне почти 100% насищане с O_2 . Кръвта, която е бедна на O_2 , среща вода, която вече е отдала по-голямата част от кислорода си, но все още има малко повече O_2 , отколкото кръвта. Този постоянен градиент на концентрация по цялата дължина на ламелите позволява на рибите да извличат 80 – 90% от кислорода във водата, докато бозайниците извличат само около 25% от кислорода във въздуха.

При дишането, чрез хрилете освен въглероден диоксид се отделят и амониак и карбамид (урей), които са крайни продукти от метаболизма на белтъците и нуклеиновите киселини. Амониакът е разтворим във вода, но е силно токсичен и трябва веднага да се отдели. Тъй като амониакът се отделя най-лесно през хрилете, повечето риби отделят амониак. Уреята е по-малко токсична от амониака, тя се получава от него и може да се запази в организма, ако липсва достатъчно вода за отделянето ѝ. Някои морски риби увеличават осмотичното си налягане чрез уреята, за да се намали дехидратацията.

Хрилете също играят жизненоважна роля в *осморегулацията* (поддържането на солеви и водния баланс), като работят заедно с бъбреците. При сладководните риби хрилете активно поемат соли от водата, тъй като рибата постоянно губи соли в разредената среда. При морските риби хрилете активно изхвърлят излишните соли, тъй като рибата приема много сол, когато пие морска вода, за да компенсира загубата на вода.

III. Сетивни системи. Светлината се абсорбира от водата и изчезва в дълбочина и може да бъде отразена от разтворените частици. По този начин, зрението е с ограничена употреба при ориентацията на рибите. Следователно, рибите зависят от други сетива.

1. Странична линия (*linea lateralis*) – ключов за оцеляването на рибите сетивен орган, който служи за възприемане вибрациите на водата и посоката на водните течения. Тя се намира от двете страни на тялото и преминава по цялата му дължина. Представлява *механорецепторна система*, която улавя **движението на водата и промените в налягането (вибрациите)** около тялото на рибата. Състои се от изпълнени с течност канали, отворени навън за връзка с външната среда посредством пори, разположени на равни интервали. В каналите има специализирани папили (**невромасти**) от сетивни и опорни клетки, които са много чувствителни към вибрациите във водата. Сетивните клетки имат един нишковиден израстък (ресничка), потопен в желеобразна материя (*cūpula*). При преместване на купулата в резултат на генерирана отвън водна вибрация, ресничките се огъват и се генерира нервен импулс. Невромастите са изключително чувствителни – могат да отчитат водни вибрации по-малки от 0.025 mm/sec, а рибата може да регистрира движението на околната вода дори при изместване на купулата само с няколко нанометра. Тъй като неврوماстите са разпръснати по дължината на цялото тяло, различията във времето на пристигане на водните вълни се използват, за да се определи техният източник (например насекомо на повърхността на водата). При някои костни риби (селдоподобни, атеринови) тя липсва, а при други продължава и на главата (при попчетата), образувайки канали под и над очите, по хрилните капачета и долната челюст. Тя помага на рибата да усеща движението на другите животни, локализира препятствията, които се намират на пътя ѝ, и така избягва сблъсък с подводните предмети. Това ѝ дава възможност да плува и в доста мътна вода, независимо от това дали е ден или нощ, да локализира жива храна, да поддържа позицията на тялото във водните течения и да плува в синхрон с пасажа.

2. Ампули на Лоренцини (*ampullae Lorenzini*) – специализирани **електрорецептори**, които са разположени в областта на главата предимно при **хрущялните риби** (акули, скатове). Те служат за улавяне на **слаби биоелектрични полета** във водата. Представяват система от канали, изпълнени с желеобразно вещество, които завършват с разширение (ампула), съдържащо сетивни клетки, чувствителни към слаби електрични полета. Каналите са свързани с пори на кожата, през които електричният потенциал от външната среда се предава на желеобразното вещество, електрорецепторите реагират на разликата в напрежението и генерират нервен импулс към мозъка. Ампулите на Лоренцини могат да уловят електрическите импулси, генерирани от мускулната активност на други животни (потенциална плячка), и позволяват на хищници като акулите да откриват скрита в пясъка плячка, дори когато другите сетива са неефективни.

Някои специализирани групи костни риби са способни да възприемат земното магнитно поле и електромагнитни полета, но с много по-слаба чувствителност в сравнение с акулите, чрез *пасивна* (усещат слаби биоелектрични полета, генерирани от мускулната и нервната дейност на други организми чрез тубуларни рецептори) или *активна електрорецепция* (генерират собствено електрично поле). Електрично поле се образува около тялото на всички риби и около всеки жив организъм (собствено биоелектрическо поле). Обикновено то е толкова слабо, че не се възприема от рецепторите, но при образуването на пасажи от неелектрически риби става сумиране на индивидуалните електрически полета и се образува едно общо електрично поле на групата (пасажа), което е достатъчно силно, за да се възприеме от отделния индивид. Това е особено важно за съгласуването на поведението на отделните членове от групата и тяхната пространствена ориентация. Най-силни при костните риби са електрическите органи на електрическия сом и електрическата змиорка, намиращи се от двете страни на тялото от главата до опашното стъбло. Електрическата змиорка може да генерира заряд с напрежение до 600 волта. Тези органи се използват освен за ориентация, и за нападение и защита.

3. Хеморецепция – сетивна система от специализирани хеморецепторни клетки за възприемане на разтворени във водата химични вещества, с ключово значение за ориентацията, храненето, размножаването и социалното поведение. Разделя се на два основни типа: *обонятелна (дистанционна) хеморецепция*, осъществявана от обонятелния епител в носните ямки за регистриране на химични сигнали от разстояние, и *вкусова (контактна) хеморецепция* – чрез вкусови рецептори в устната кухина и по кожата, включително по устните, главата и тялото. Благодарение на тази комплексна, допълваща се сензорна система, някои риби, като акулите и съомгата,

могат да усещат миризми в концентрации, по-малки от една частица на милиард и да локализират източника на миризмата, като ориентират тялото си и се движат по градиента на концентрацията.

Класификация на надклас Pisces. Класифицирането на рибите е едно от най-сложните и динамично развиващи се направления в систематиката на гръбначните животни поради изключителното морфологично, екологично и еволюционно разнообразие на тази група, чиито таксони непрекъснато се преподдреждат на базата на съвременни молекулярно-филогенетични методи, разкриващи скрити родствени връзки. Систематиката на Nelson и съавтори (1994; 2016) се приема като референтен стандарт в международната ихтиологична практика поради своята балансираност между филогенетична коректност и таксономична стабилност и отразява съвременното състояние на знанията за еволюцията и родството на рибите. Според тази класификация безчелюстните риби се приемат за монофилетична група, която е разграничена от надклас Риби (Pisces) в самостоятелен надклас Кръглоусти (Agnatha / Cyclostomata), а костните и хрущялните риби са включени към Инфратип Челюстни (Gnathostomata) – филогенетично обоснаван инфратип, обединяващ всички гръбначни с челюсти, т.е. челюстните риби и четирикраките:

Надклас Безчелюстни или Кръглоусти (Agnatha s. Cyclostomata)

Клас Миксини (Muxinoidea)

Клас Миноги (Petromyzontia)

Инфратип Челюстни (Gnathostomata)

Надклас Риби (Pisces)

Клас Панцерни (Placodermi)

Клас Хрущялни риби (Chondrichthyes)

Подклас Акулови (Elasmobranchii)

Надразред Акули (Selachimorpha)

Разред Ламнообразни (Lamniformes)

Разред Пилозъби акули (Carcharhiniformes)

Разред Бодилести акули (Squaliformes)

Разред Морски ангели (Squatiformes)

Надразред Скатове (Batoidea)

Разред Скатоподобни (Rajiformes)

Разред Електрически скатове (Torpediniformes)

Подклас Целоглави (Holocephali)

Разред Брадиодонти (Bradiodonti)

Разред Химерообразни (Chimaeriformes)

Клас Костни риби (Osteichthyes)

Подклас Двойнодишащи (Dipnoi)

Подклас Ръкоперки (Sarcopterygii)

Подклас Лъчеперки (Actinopterygii)

Надразред Хрущялно-костни риби (Chondrostei)

Разред Есетрообразни (Acipenseriformes)

Надразред Същински костни риби (Teleostei)

Разред Селдови (Clupeiformes)

Разред Пъстървообразни (Salmoniformes)

Разред Шаранообразни (Cypriniformes)

Разред Сомообразни (Siluriformes)

Разред Змиоркообразни (Anguilliformes)

Разред Зарганообразни (Beloniformes)

Разред Трескообразни (Gadiformes)

Разред Кефалообразни (Mugiliformes)

Разред Бодлоперкообразни (Perciformes)

Разред Скорпидообразни (Scorpaeniformes)

Разред Калканообразни (Pleuronectiformes)

Човечеството се занимава със земеделие от дълбока древност и проблемът за регулиране на вредителите по културните растения датира назад във времето. В началото нанесените вреди са били незначителни, тъй като отглежданите растения почти не са се отличавали от естествените диворастващи видове и са имали запазена устойчивост към болести и неприятели, а намесата в естествените взаимоотношения е била слаба. С течение на времето проблемът се е задълбочил, от една страна, поради създаването на нови сортове растения, даващи по-високи добиви, но и по-чувствителни към болести и вредители, и от друга страна, изграждането на огромни масиви от монокултури довежда до промяна в количествения и качествения състав на вредната и полезната ентомо- и акаро-фауна, изразяваща се в обедняване на видовото разнообразие и в силно увеличаване на популационната плътност на най-вредните доминантни видове.

За запазване на земеделската продукция, човек започва да използва различни отровни вещества, което е в основата на химическия метод за борба с неприятелите. Химическият метод има лесното прилагане, голяма ефективност и сравнително ниска себестойност. Масовото и често неправилно прилагане на пестицидите обаче, по отношение на дозировка и честота, неправилното съхраняване, използването на широкоспектрни пестициди, води до сериозни проблеми свързани с възникването на резистентни раси на някои вредители, размножаване на акари и насекоми, които преди масовото използване на химичния метод са нямали характер на неприятели, акумулиране в растенията, негативно повлияване на нетаргетни организми, нарушаване на екологичното равновесие в природата, замърсяване на околната среда с вредни за здравето на човека вещества. От началото на 20 век се търсят алтернативни методи, които ефективно да контролират популациите на вредителите, без да имат негативно въздействие върху околната среда и здравето на човек. Биологичният контрол (биологична борба) е метод за управление на вредители в земеделието чрез използване на техните естествени врагове – микроорганизми (вируси, бактерии, гъби), причиняващи летални болести, хищници и паразити (нематоди, насекоми, акари). Този подход частично замества химическите пестициди, осигурявайки по-безопасна среда, баланс в екосистемите и здравословна продукция. Биологичният контрол се основава на задълбочени научни проучвания и съдържанието му с течение на времето се разширява, като обхваща не само борбата срещу популациите на вредните насекоми, но също акари и други членестоноги, различни безгръбначни и гръбначни животни, плевели и микроорганизми, причиняващи болести на културните растения, използването на растителни сортове, устойчиви на неприятели и пр.

Биологичният метод за контрол на вредителите има редица предимства пред химичния. Приложението му не е свързано с нарушаване на биологичното равновесие, създаване на устойчиви на инсектициди и акарициди раси насекоми и акари, поява на нови групи неприятели, замърсяване на околната среда, отравяне на риби, полезен дивеч, птици, опрашители на растенията и пр. Освен това, по-продължителното прилагане на метода допринася за възстановяване на биологичното равновесие в биоценозите. Биологичният метод обаче изисква задълбочени предварителни научни изследвания върху целия спектър от естествени врагове на даден вредител, тяхната ефективност, фенология и разработване на методи за производство на значителни количества високоефективни биологични агенти. Освен това, методът не може да се прилага с пълен успех срещу всички икономически опасни неприятели по културните растения, приложението му е свързано с по-бавното действие на използваните агенти в сравнение с химичните препарати и др.

В настоящето се прилага комплексен подход за контролиране на популациите от вредители и загубите от тях в граници под прага на икономическа вредност. Интегрираното управление на вредителите (IPM – Integrated Pest Management) е ефективен и екологично съобразен подход с прилагане на комбинация от биологични, биотехнологични, химични, физични, агротехнически и селекционни мерки, а използването на химични продукти за растителна защита е ограничено до определен минимум.

Междувидовите взаимоотношения са разнообразни и са формирани в процеса на еволюцията на видовете. Антагонистичните взаимоотношения (хищничество, паразитизъм, взаимоотно-

шенията между вредителите и патогенни микроорганизми) съставляват основата на биологичната борба като природно явление и човешка дейност.

Хищничеството е широко разпространено сред насекомите, акарите и паяците и оказва съществено влияние както при природното регулиране на организмите, така и в биологичната борба. То се среща при видове от над 10 разряда насекоми (подклас Insecta); с най-голямо значение за биологичната борба са видове от разредите Coleoptera, Hemiptera, Neuroptera, Hymenoptera и Diptera, а от акарите най-широко разпространени и в най-висока численост са видове на семейство Phytoseiidae.

Канибализмът е форма на хищничество, която има голямо значение за запазването на вида при неблагоприятен хранителен режим. Той обаче създава големи проблеми при масовото развъждане на ентомофаги и акарофаги в биологични лаборатории за целите на биологичния контрол. Канибализмът е широко разпространен при златооочици, калинки, хищни дървеници, хищни акари, паяци. Проявява се най-силно при липса на храна, ограничаване на жизненото пространство и пренаселеност.

Паразитизмът е другото междувидово взаимоотношение лежащо в основата на биологичната борба като метод за регулиране на неприятелите по културните растения. Много видове насекоми от разредите Hymenoptera и Diptera се изхранват за сметка на своите гостоприемници, като в края на своя жизнен цикъл убиват и изяждат почти изцяло своя гостоприемник. Поради тази разлика, която ги отличава от типичните паразити, те се наричат паразитоиди.

При паразитоидните видове съществува изразена хранителна специализация към отделни систематични групи насекоми и техните стадии, на базата на което те могат да бъдат класифицирани като монофаги, олигофаги и полифаги. В зависимост от стадия на гостоприемника, който бива опаразитен, различаваме: яйчни паразитоиди (семейства Trichogrammatidae, Mymaridae, Scelionidae и др.), ларвни (семейства Braconidae, Ichneumonidae, Aphelinidae, Aphidiidae и др.), какавидни (сем. Pteromalidae) и имагинални (много видове двукрили от сем. Tachinidae). Най-голяма ефективност за целите на биологичния контрол имат монофаги или тесни олигофаги, които са яйчни или ларвни паразитоиди.

С понятието болести на насекомите се означават заболяванията, причинени от вируси, бактерии, гъби и протозои. Възможностите за използване на патогенните микроорганизми в биологичната борба са големи поради бързото им развитие и кратък жизнен цикъл, лесното приготвяне и прилагане на препаратите, бърз ефект, но съществуват някои ограничения като например, климатичните фактори (температура и влажност – при сухо или хладно време активността им силно намалява).

Като метод биологичната борба представлява целенасочено създадени антагонистични взаимоотношения между вредителите по растенията, от една страна, и техните естествени врагове – паразитни и хищни насекоми, хищни акари, хищни паяци, микроорганизми, причинители на болести, птици и други организми, от друга страна.

Този метод включва използването на т. нар. биологични агенти от категориите на паразитни и хищни видове насекоми и акари (ентомофаги и акарофаги, естествени популации или изкуствено размножавани), микроорганизми и продуктите от жизнената им дейност, хищни нематоди и др. за регулиране на популациите на вредителите по културните растения.

Използването на биологичните агенти (ентомофаги и акарофаги) в биологичната борба се осъществява по следните основни начини: интродукция и аклиматизация, сезонна колонизация, и вътреареално разселване.

Интродукция и аклиматизация на биологични агенти. В биологичната борба под понятието интродукция се разбира пренасяне на ефективни биологични агенти в нови райони, а под аклиматизация – приспособяването им към новите условия. Интродукцията и аклиматизацията се използват в случаите, когато в биоценозите съществуват опасни неприятели (най-често пренесени от други страни и континенти) и за тях липсват ефективни местни ентомофаги (акарофаги).

Към интродуцираните биологични агенти се предявяват редица изисквания:

- екологична съвместимост: интродуцираният вид трябва да притежава екологични изисквания, близки до изискванията на своята жертва (гостоприемник). Необходимо е да се подбират видове, които имат по-широка екологична пластичност;
- реакция към плътността на гостоприемника (жертвата): интродуцираните видове трябва да притежават бърза положителна функционална и числена реакция към плътността на гостоприемника (жертвата);

- размножителен потенциал: определя се от продължителността на жизнения цикъл, плодовитостта, способността за преживяване на потомството и др.
- способност за търсене на гостоприемник (жертва): това се проявява особено силно при по-ниска плътност на популацията на вредителите;
- способност за разселване: тя е свързана със способността да търсят гостоприемник (жертва) и с екологичната им приспособимост;
- изисквания към храната: най-полezni са онези биологични агенти, които търсят за храна или за яйцеснасяне своя специфичен гостоприемник, срещу който се използват. Понякога се налага осигуряване на допълнителни източници на нектар или цветен прашец за изхранване на възрастните ентомофаги;
- способност за масово развъждане в лаборатории: важно качество за получаване на необходимото количество биологични агенти.

Сезонна колонизация. Състои се в ежегодно (сезонно) пускане на биологични агенти, размножавани в биолaborатории, в местата с повишена плътност на неприятелите. Необходима е в случаите, когато популациите на естествените ентомофаги и акарофаги не са в състояние да поддържат плътността на неприятелите под праговете на икономическа вредност. От голямо значение е синхронизацията между жизнените цикли на биологичния агент и вредителя за получаване на максимален ефект, особено при паразитоидите и техните гостоприемници. Например яйчните паразитоиди трябва да бъдат активни през времето, когато гостоприемника снася яйца. Сезонната колонизация се осъществява по два начина – по метода на насищане (разчита се на регулиращите възможности на колонизираните биологични агенти) и по метода на заселване (основава се на регулиращите възможности на потомствата на колонизираните биологични агенти).

Вътреареално разселване на ентомофаги. Изразява се в разселване на ентомофаги от зони с по-голяма плътност, в нови райони на ареала, където се срещат в недостатъчно количество.

Местните популации на паразитни и хищни насекоми и акари имат голямо значение за биологичното равновесие на популациите на вредителите. Те имат своята съществена роля за регулирането на вредители пренесени със селскостопански и декоративни растения от други континенти. Местните паразити и хищници не са адаптирани към новите неприятели и се изисква определен период от време, докато те открият и се приспособят към новия хранителен източник.

Често обаче полезната дейност на местните ентомофаги се нарушава от многократната употреба на пестициди, особено на тотално действащи инсектициди. За да може максимално да се ползва регулиращата роля на природните популации паразитни и хищни насекоми, акари и паяци е необходимо те да се подпомагат при изхранването, размножаването и опазването от пестициди. Опазването от токсичното действие на пестицидите е изключително голям проблем, за решаването на който е необходимо коренно да се преустрои борбата срещу неприятелите по културните растения чрез прилагане на интегрирана растителна защита, използване на селективни пестициди; внедряване на биологичноактивни вещества за мониторинг и контрол (феромони, инхибитори на синтеза на хитина при насекоми и акари, ювеноиди) и др.

Местообитанията в хидробиологията се разделят на два основни принципа екологичен и физико-географски. Основните местообитания в хидросферата могат да се разделят на шест основни категории в зависимост от типа на водните среди – морски и сладководни, преходни, подземни води, полярни ледници, атмосферни местообитания и микросредови хабитати.

1. Соленоводни местообитания

Най-голямата част на хидросферата се заема от соленоводните местообитания. В тази категория попадат всички морета и океани. На физико-географски принцип са обособени шест зони: крайбрежни зони и плитководни морета (литорал и сублиторал, заливи, естуари, лагуни и крайбрежни води), континентален шелф (по-широка плитка зона (до ~200 m), където се намират сублиторалният бентос и пелагиалът), големи заливи и естуарни екосистеми Преходни зони между реки и море открито море (пелагиал на шелфа и океана), дълбоководни пояси (Батиял (200 – 2000 m), абисален (2000 – 6000 m) и хадален (> 6000 m).), полярни, умерени и тропически еко-региони (Биогеографско разделение на морската среда според климат, соленост и хабитати.). На екологичен принцип те се разделят на шест основни зони: крайбрежни местообитания (литорал), сублиторал, пелагична част, бентос, заливи и естуари и дълбоководни местообитания.

1.1. Литорал

В най-горният слой, който се намира в приливно-отливната част на бреговете се намира първата соленоводна зона. Тя обхваща най-плитките водни пространства, като достига на дълбочина до приблизително не повече от 5 метра дълбочина. Това е зоната която се намира между най-ниското и най-високото ниво на водата при прилив и отлив. Вълните и теченията оказват силно механично въздействие върху организмите. Литоралът контактува пряко с някой сладководни местообитания (делти на реки например) и поради тази причина е зоната, която най-силно се влияе от променливите характеристики на средата. Температурата, солеността и влажността в литорала често се променят. В него се наблюдава изключително богато биоразнообразие, което се дължи на повечето светлина и хранителна база. Организмите, които населяват тази зона са предимно водни растения риби, мекотели, ракообразни, полихети и бодлокожи. Те са добре приспособени за условията на живот, като са развили различни анатомични приспособления.

1.2. Сублиторал

Непосредствено под литорала се намира зона позната като сублиторал. Ориентировъчната дълбочина е 5 – 200 m. Тази зона е постоянно покрита от вода и достига до края на континенталния шелф. Тук условията са много по-стабилни в сравнение с литорала и промяната на температурата, светлината, солеността и други параметри се извършва много по-плавно. Тя е много важна за производството на кислород и хранителни вещества в световния океан. Това благоприятства развитието на таксономично по-широк кръг организми, чиито популации могат да са многобройни. Сублиторалът е богат на водни растения, мекотели и ракообразни и риби, които се прикрепят за скалите или се заравят в пясъка. Голяма част от видовете, които са характерни за литорала, могат да се наблюдават и в тази зона. Голяма роля за определяне на структурата на зоната играят коралите. Те създават сложна структура, образувайки колонии, повишават устойчивостта на местообитанието към ерозия и осигуряват хранителна база за други организми.

1.3. Пелагична част (пелагиал)

Пелагиал (от ст. гр. *pelagos* – море). Това е водна маса от повърхността до дъното. Пелагичната екосистема се основава на фитопланктона. Животът в пелагиала намалява с нарастване на дълбочината, тъй като зависи от интензитета на светлината, налягането, температурата, солеността и наличността на разтворени хранителни вещества и кислород.

Според дълбочината на водата, пелагичната зона може да се подраздели на пет вертикални области:

1.3.1. Епипелагиал

Обхваща зоната от морското равнище до около 200 m дълбочина. Тази зона се характеризира с най-силна осветеност, респективно количество фитопланктон. В нея се генерира почти цялата първична биомаса.

1.3.2. Мезопелагиал

Обхваща зоната с дълбочина от 200 m до 1000 m. В нея преобладават хетеротрофните организми. Често в тази зона се наблюдават организми способни да генерират собствена светлина (биолуминисценция). В клетките (или извън тях) се намира малка органична молекула, наречена луциферин. При окислението и от ензима луцифераза се освобождава енергия под формата на светлина. Обикновено процесът изисква наличието на други вещества като кислород или аденозинтрифосфат.

1.3.3. Батипелагиал

Обхваща зоната с дълбочина от 1000 m до 4000 m. Тази зона е лишена от светлина. Няма растения. Повечето животни в тази зона оцеляват като консумират детрит, падащ от зоните по-горе – феномен, познат под наименованието морски сняг.

1.3.4. Абисопелагиал

Обхваща зоната с дълбочина от 4000 m до океанското дъно. Много малко организми живеят при тези ниски температури, високо налягане и пълен мрак.

1.3.5. Хадопелагиал

Обхваща зоната с дълбочина от на дълбоките води в океанските падини с дълбочина под 6000 m. В тази зона организми се срещат рядко. Предимно са концентрирани около хидротермалните комини. Това са отвори в повърхността на планета, от които излиза геотермално затоплена вода. Те са често срещани във вулканично активни райони, където тектонските плочи се раздалечат.

1.4. Бентос (като местообитание)

В дълбочинно направление бентосът се разделя схематично на три категории: литорален бентос: дълбочина 0 – 5 m; сублиторален бентос: дълбочина 5 – 200 m и дълбоководен бентос (батиял, абисален, хадален): дълбочина 200 – 11 000 m.

Бентосът обхваща дъното и седиментите, включително скалисти, пясъчни и тинести субстрати. В плитките части условията са динамични – променят се светлина, температура, приливи и вълни, докато в дълбоководния бентос средата е стабилна, тъмна, студена и под високо налягане.

1.5. Заливи и естуари

Те обхващат плитките зони с дълбочина 0 – 30 m. В тази зоана се наблюдават места, на които се смесва сладка и солена вода, което често води до силна промяна в състава на водата. Тези зони са характерни с големи вариации в солеността, която може да се променя сравнително бързо при приливи, отливи или приливни течения. Температурите и киселинността също са силно променливи, което налага специфични адаптации при организмите. Естуарните местообитания са много богати на органична материя, защото реките носят хранителни вещества от сушата, а морето добавя соли и микроелементи. Това ги прави едни от най-продуктивните екосистеми в рамките на хидросферата. Характерно местообитание тук се явяват мангровите (заливни) гори, които са едни от най-ценните водни екосистеми на Земята. Организмите, които обитават тези зони са снабдени с възможността да се адаптират бързо към промените на водата. Голяма част от тях могат да преминават сравнително бързо от соленоводен към сладководен начин на живот. Характерни примери за Черно море са: Морският кефал – *Mugil cephalus*, Атерина – *Atherina boyeri*, скарида – *Palaemon elegans* и други.

1.6. Дълбоководни местообитания

Дълбоководните местообитания обхващат зоните на морското дъно и водната колона извън континенталния шелф, включително батиялния, абисалния и хадалния пояс, с дълбочини от около 200 m до над 6000 m. В тези области липсва светлина, температурата е много ниска (около

2 – 4°C), а налягането е високо, което налага специфични адаптации у организмите. Основната част от биотата е бентосът, представен от полихети, ракообразни, мекотели и иглокожни, които често се заравят в тинести седименти или се прикрепят към твърд субстрат. В пелагиала се срещат свободноплаващи видове като планктон и медузи, които се движат вертикално според хранителната наличност. Според дълбочината си схематично се разделя на 3 зони:

1.6.1. Батиял: 200 – 2000 m. Абиотичните фактори са стабилни, непроменливи. Организмовият свят в батияла е крайно беден. Растения няма. Фауната е представена от животни – няколко вида морски гъби (Spongia), осмолъчвеви корали (Octopodia), малко Бодлокожи (Echinodermata), десетокраки раци, Поgonoфори (Pogonophora).

1.6.2. Абисален: 2000 – 6000 m. Обхваща прехода на континенталния склон и същинското океанско дъно на 3000 – 4000 до 6000 m дълбочина. Тук се намират огромни подводни планински системи – хребети (Средноатлантически, Източнотихоокеански и др.). Екологичните фактори се характеризират с голяма устойчивост във времето: постоянна и ниска температура от 1 до 2°C, постоянна соленост и слабо движение на водната маса. Фауната е сравнително бедна и еднообразна. Голяма част от нея е със стар реликтен произход (с изключение на Северен ледовит океан).

1.6.3. Хадален (Ултраабисал): > 6000 m. Ултраабисала заема океанските падини (над 50 на брой), разположени в периферията на Тихи, Атлантически и Индийски океан. Поне четири от тях превишават 10 000 m дълбочина – Марианската, Тонга, Филипинска, Кермедетска (всичките в Тихи океан). В ултраабисала са установени 35 групи животни, с висока специализация към практически неизменни условия на средата и оскъдни хранителни ресурси. Характеризира се с абсолютна устойчивост на факторите на средата и огромно хидростатично налягане.

2. Сладководни местообитания

Характеристиката и разделението на сладководните местообитания до голяма степен съответства на соленоводните местообитания, но с адаптация към по-ниската соленост и по-малките дълбочини. На екологичен принцип местообитанията се разделят на: литорал (плитката крайбрежна зона на езера и реки.), сублиторал (постоянно потопена крайбрежна зона), пелагична част (свободната водна маса в езера и реки), бентос (дънна зона на реки и езера), речни корита и устия (преходни местообитания при които има смесване на течаща вода с по-бавно стояща вода, както при естуарите), дълбоководни местообитания (при големи езера).

На физико-географски принцип са обособени десет местообитания: големи езера, големи речни делти, планински сладководни екорегиони, ксерични реки, умерени крайбрежни реки, умерени планински реки, умерени заливни реки и влажни комплекси, тропически и субтропични крайбрежни реки, тропически и субтропически планински реки и тропически и субтропически заливни реки.

2.1. Големите езера са сладководни екосистеми които могат да включват вливащи се и оттичащи се реки и различни периферни влажни зони в допълнение към самите езера. Те включва големи тропически, умерени и полярни езера, както и вътрешни морета (Аралско и Каспийско). Примерите включват езерото Байкал в Сибир, езерото Малави в Африка или Мичиган-Хюрон в Северна Америка.

2.2. Големите речни делти са сладководни местообитания при устията на големи реки, където водата се разклонява на множество ръкави и се образуват заливни и блатни комплекси. Те се характеризират с висока продуктивност и богата хранителна база, защото реката носи големи количества хранителни вещества от сушата. Примерите включват делтата на река Нигер и екорегиона на делтата на река Меконг. Екорегионите, съдържащи делти, но не определени от специфична делтова фауна, като екорегиона Долен Мисисипи, не се считат за екорегиони на делтата на големите реки.

2.3. Планинските сладководни екорегиони се, състоят се от малки потоци, реки, езера или влажни зони на по-голяма надморска височина, независимо от географската ширина. Тези екорегиони включват или висок наклон, относително плитки, бързотечащи потоци, с бързеи или комплекси от високопланински влажни зони и езера, както и планински климатични условия. Примерите включват планината Нимба и Западните екваториални кратерни езера в Африка и планините Ориноко Пиомонт и Андите в Южна Америка.

2.4. Ксеричните басейни са водосборни басейни, на които водите не се оттичат към океан или море.) Те имат сезонно или силно променливо течение и обем на водата. Примерите включват долното течение на река Нил или екорегиона Долината на смъртта в САЩ.

2.5. Умерените крайбрежни реки са в умерения климатичен пояс. Вливат директно в море или океан и имат сравнително късо течение. Тези екорегиони се характеризират с речни екосистеми, но могат да съдържат и малки езера, крайбрежни лагуни и други влажни зони. Примерите включват екорегионите на Северното тихоокеанско крайбрежие и Южния Атлантически океан в Северна Америка.

2.6. Умерените планински реки се намират в планински райони на умерения климатичен пояс. Те имат бързо течение, късо и стръмно корито и могат да причинят силна ерозия в ландшафта.

2.7. Умерени заливни реки и влажни комплекси са реки и прилежащи влажни зони в умерен климат, където водата се разлива в блата, лагуни и крайречни влажни зони. Те са богати на хранителни вещества и поддържат голямо разнообразие от растения и животни. Примери: река Дунавска делта, българските лагуни около Бургас.

2.8. Тропически и субтропични крайбрежни реки са широки реки в тропически и субтропически райони с бавно течение и богата крайречна растителност. Те са важни за риболов и миграция на водни организми. Примери: Амазонка (Бразилия), Меконг (Югоизточна Азия).

2.9. Тропически и субтропически планински реки са бързи потоци в планински райони с тропически или субтропически климат, обикновено с каменисто дъно и наситена с кислород вода. Поддържат специализирани видове риби и безгръбначни. Примери: река Вайпоху (Хавай), река Меконг – горен поток.

2.10. Тропически и субтропически заливни реки са реки и устия в тропиците и субтропиците, които образуват естуарни зони с влияние на морска соленост. Те са богати на хранителни вещества и характерни видове. Примери: река Нил – делта, Ганг – естуарни зони.

3. Преходни (естуарни) местообитания

Това са зони, където сладка вода от реки се смесва с морска солена вода, образувайки естуари и лагуни. Солеността и температурата варират, което създава специфични условия за euryhaline видове. Примери: Дунавска делта, река Ганг – устие; характерни организми са *Atherina boyeri*, *Carcinus aestuarii*.

4. Подземни водни местообитания

Включват всички водни системи под земната повърхност – пещери, карстови води, подпочвени извори. Организмите тук са адаптирани към тъмнина, ниска продуктивност и ограничени хранителни ресурси. Примери: *Niphargus sp.* (ракообразни), *Proteus anguinus* (сляп саламандър).

5. Полярни ледени и ледникови местообитания

Обхващат води и ледове в арктически и антарктически региони – реки, езера и морски участъци под лед. Температурите са ниски, а животът се адаптира чрез антифризни протеини и биологични ритми. Примери: микроорганизми като *Styobacterium sp.*, някои видове полихети и ракообразни в ледени морета.

6. Атмосферни водни местообитания

Това са временно водни участъци като локви, дъждовни води, капки върху растения и облаци. Организмите тук са адаптирани към много кратки цикли на влага и суша. Примери: Rotifera, някои микроскопични водни безгръбначни и спори на водорасли.

7. Микросредови хабитати

Те не са основна, класическа категория като литорал, сублиторал или пелагиал. Това са малки локални местообитания, които могат да съществуват в рамките на по-големите зони (литорал, сублиторал, бентос). Пукнатини в скали Под камъни Пясъчни канавки и корени на водни растения

Основни жизнени форми при хидробионтите

8. Планктон

Планктон – това са микроскопични или макроскопични организми, които живеят във пелагиала и се придвижват предимно пасивно, носени от водни течения, вълни и турбулентност, без да могат да контролират ефективно своето местоположение. Морският планктон включва бактерии, археи, водорасли, протозои и дрейфущи или плаващи животни, които обитават солените води на океаните и солените води на естуарите. Сладководните планктони са подобни на морския планктон, но се срещат в сладководните води на езера и реки. Планктоните обикновено се смятат за обитатели на вода, но има и въздушно-капацитетни версии, аеропланктон, които прекарват част от живота си, дрейфувайки в атмосферата. Те включват растителни спори, цветен пращец и разпръснати от вятъра семена, както и микроорганизми, понесени във въздуха от земни прашни бури, и океански планктон, понесен във въздуха от морски пръски. Фитопланктон са автотрофни прокариотни или еукариотни водорасли, които живеят близо до водната повърхност, където има достатъчно светлина, за да поддържат фотосинтезата. Сред по-важните групи са диатомите, цианобактериите, динофлагелатите и коколитофорите. Зоопланктонът са малки протозои или метазои (напр. ракообразни и други животни), които се хранят с друг планктон. Тук са включени някои от яйцата и ларвите на по-големи нектонни животни, като риби, ракообразни и анелиди. Микопланктонът включва гъби и подобни на гъби организми, които, подобно на бактериопланктона, също са важни за реминерализацията и кръговрата на хранителните вещества. Бактериопланктонът включва бактерии и археи, които играят важна роля в реминерализацията на органичния материал надолу по водния стълб (имайте предвид, че прокариотният фитопланктон също е бактериопланктон). Вириопланктонът са вируси. Вирусите са по-изобилни в планктона от бактериите и археите, макар и много по-малки.

9. Нектон

Нектонът включва водни организми, които активно плуват и могат самостоятелно да се придвижват срещу водните течения. Те обитават главно пелагичната част на водните екосистеми – както в соленоводни, така и в сладководни басейни. Нектонните организми имат добре развита мускулатура, обтекаема форма на тялото и ефективни органи за движение (перки, плавници, мускулна опашка). Обикновено са хищници или активни филтратори и заемат високи трофични нива в хранителните мрежи.

10. Бентос (като жизнена форма)

Бентските организми изпълняват важни екологични функции – участват в разлагане на органична материя, стабилизират субстрата и образуват хабитати за други видове. В сублиторалния бентос коралите и макроводораслите създават сложни структури, увеличаващи биоразнообразието. Бентосът е и основен източник на храна за много организми.

Бентосните организми могат да бъдат класифицирани според размера. Макробентосът са организмите, по-големи от 1 милиметър. Организмите с размер между 0,1 и 1 милиметър съставляват мейобентоса. Те включват фораминифери, турбеларии и полихети, често доминират в бентосните хранителни вериги, изпълнявайки роля в обмяната на хранителните вещества, разграждайки мъртвата хранителна маса. Микробентосът са организмите с размер под 1 милиметър; те включват диатомеи, бактерии и редица ресничести. Не всички бентосни организми живеят в седимента; някои бентосни съобщества живеят върху скалист субстрат. Различни типове водорасли, като Rhodophyta (червени), Chlorophyta (зелени) и Phaeophyta (кафяви), са изобилни и разнообразни във фототичната зона върху скалисти субстрати и са важни продуценти в екосистемите.

Тази зона е чувствителна към замърсяване, човешки дейности и промени в морските течения, което влияе върху целия екосистемен баланс.

Биомите на сушата са големи зонални съобщества от организми и средата на обитанието им, чието разпространение се определя главно от зонален климат.

Дъждовни екваториални и тропични гори. Разпространени са в екваториалния и субекваториалните климатични пояси; наричат се още хилея. В Южна Америка най-голямата част на биома се простира в басейна на река Амазонка. На север биома заема Централна Америка, Източно Мексико и Карибските острови. В Африка биомът обхваща териториите около Гвинейския залив и Източен Мадагаскар. В Азия зоната обхваща територии от полуострови Индустан и Индокитай, Индонезия, Филипините. Хилея има в Нова Гвинея и СИ Австралия. Не навсякъде в така очертаните граници властва първичната хилея. Много части от тези райони са заети вторично от други растителни съобщества под влияние на човешката дейност.

Климатът се характеризира с целогодишна висока влажност и висока температура. Средните месечни температури се изменят слабо. Количеството на валежите е между 2000 и 4000 мм, но в някои области то достига 10 000 – 12 000 мм годишно. Светлината в дълбочината на дъждовната гора е силно намалена поради гъстите и сближени корони на високите дървета; до повърхността на почвата достига само 0,1 – 1% от светлината.

Обилните валежи отмиват съединения на калия, фосфора и азота от почвите и така те се обогатяват на железни и алуминиеви окиси, които им придават керемиденочервен цвят. В тях почти липсват калций, фосфор и азот. В почвите не се натрупва хумус, тъй като мъртвите организми бързо се минерализират и тези елементи почти веднага се приемат от растенията.

Особености на растителността. Характерна особеност е голямото разнообразие на дървесни видове – 70% от всички формиращи я видове висши растения. В дъждовните гори се наблюдават най-често 5 основни етажа. Най-горните три етажа са дървесни, следва етаж на храсти и гигантски тревисти растения, а най-долу е разположен етажът на полухрастите и ниските тревисти. Дървесните видове се характеризират с гладки, умерено дебели и слабо разклонени стъбла. Много от тях имат дъсковидни корени, които им придават допълнителна устойчивост, а за видовете, които обитават блатисти райони, са характерни кокиловидни корени. Дървесината няма годишни кръгове, тъй като в екваториалния пояс липсват сезони. Листата на повечето дървета са вечнозелени, твърди и кожести. В хилеята има извънетажна растителност: лиани, епифити (орхидеи, папрати), растения удушвачи (хемиепифити), паразитни растения.

Растителни таксони от биома: сем. *Dipterocarpaceae* (Двукрилоплодни), сем. *Mimosaceae* (Мимозови), *Theobroma cacao* (какаово дърво), лиани от род *Cissus* и род *Passiflora*, сем. *Orchidaceae* (Салепови); растения удушвачи от род *Ficus*, паразитни растения – рафлезия (*Rafflesia arnoldii*).

Животински свят. Фауната на дъждовните гори е много разнообразна и по-богата от фауната на всички останали биомии на Земята. Повечето обитатели на хилеята са стенобионти и са се приспособили към тесни екологични ниши.

Животински таксони от биома: паяци птицеяди, термити (разред *Isoptera*), най-едрият вид мравка – *Dinoponera grandis*, мравки листорези от род *Atta*, пеперуди от род *Morpho*, дървесни жаби, хамелеони (сем. *Chamaeleontidae*), летящ гушер от род *Draco*, растителноядна игуана (*Iguana viridis*), дървесни змии, мамби (род *Dendroaspis*), кралски питон (*Ball python*), птици носорози (сем. *Bucerotidae*), Туканови (сем. *Ramphastidae*), Колиброви (сем. *Trochilidae*), ленивци (сем. *Bradipodidae*), маймуни ревачи (род *Alouatta*), маймуни колобуси (род *Colobus*), сем. Лемури (сем. *Lemuridae*), плодоядни прилепи, леопарди, ягуари, мравояди, панголини.

Екваториалните и тропичните дъждовни гори са най-продуктивният биом на Земята. Количеството на органичното вещество в тях се увеличава през цялата година без прекъсване, тъй като липсват сезонни паузи във вегетацията на растенията. Микроорганизмите в почвата на хилеята превъзхождат по количество останалите биомии до 50 пъти. Дъждовните гори са най-мощният генератор на кислород на планетата (дават около 25% от кислорода).

Сезоннозелени тропични гори и савани. На север и на юг от дъждовните екваториални гори, се намират зони, с редуване на сезонни валежи (летен валежен период) и засушавания. Към

този биом принадлежат мусонните гори в Азия, Северна Австралия, големи територии в Африка, разположени между хилеята и пустините, мозаечно разположени територии в Южна Америка (Бразилия).

Климатът е субекваториален или тропичен мусонен, с неголеми колебанията на температурата, но количеството на валежите през годината е променливо. Има различно дълги влажен и сух сезон (от 2 до 10 месеца). Годишните валежи са от около 1500 мм до 350 мм.

През дъждовните периоди почвите се промиват, а по време на засушаването солите им се изтеглят нагоре. Широко разпространени са червените латеритни почви. Най-богати на хумус са горските почви, а най-бедни – почвите на откритите сухи савани и на терените, заети с бодливи храсти.

Особености на растителността. Основните приспособления на растенията са свързани със запасяване с вода и с намаляване на загубата ѝ. Характерното явление е листопадът като приспособление за намаляване на транспирацията. Растенията имат дребни листа, дебела кутикула, дълбоко разположени устица, листа видоизменени в бодли (кактуси, акации и др.), фотосинтезиращи клонки – филочладии, чадъровидна корона при дърветата. Растенията са приспособени да устояват на пожари. Често срещани са сукулентите. Някои от тях (алое и др.) съхраняват водата в листата си, а други (кактуси, млечки и др.) – в стъблата. Африканският баобаб *Adansonia digitata* има мека и гъбчеста дървесина и задържа голямо количество вода в стъблото си – напр. дърво с височина 20 м съхранява повече от 120 тона вода. Доминиращи в саваните са житните треви.

Растителни таксони от биома: акации (род *Acacia*), мимозови (род *Albizzia*), бутилкови дървета от род *Brachychiton*, *Ceiba pentandra* (памучно дърво), тиково дърво (*Tectona grandis*), санталово дърво (*Santalum album*), трева садина (род *Andropogon*), слонова трева (*Pennisetum purpureum*), храсти от род *Boswellia* (отделят тамян).

Животински свят. Преобладават видове, приспособени за съществуване в условията на сезонните засушавания; горските животни са много по-малко в сравнение с обитателите на откритите територии. Обилието на тревна растителност обуславя големия брой тревопасни животни. Те от своя страна са предпоставка за съществуването на едри хищници. Характерни за саваните са едрите бягащи птици, растителноядни насекоми, ровещи гризачи и др.

Животински таксони от биома: термити (разред *Isoptera*), скакалци; африкански щраус, птица секретар, марабу, антилопи (гну, антилопа импала, индийска антилопа нилгау), газели (газела на Томсон, газела на Грант), биволи, зебри, жирафи, носорози, мечка коала, сиво кенгуру (*Macropus rufus*), индийски слон (*Elephas maximus*), африкански слон (*Loxodonta africana*), тръбозъб (*Orycteropus afer*), лъв (*Panthera leo*), леопард (*P. pardus*), гепард (*Acinonyx jubatus*), хиеново куче (*Lycan pictus*), петниста хиена (*Crocuta crocuta*).

Съобщества на аридните области в тропиците, субтропиците и умерените ширини (пустини)

Съобществата в аридните области се различават помежду си поради това, че са разположени в различни климатични пояси. Общ за всички признак е сухост или аридност. Субтропичните и тропичните пустини и полупустини са разположени в двете полукълба, в зони където няма овлажняване от мусони (Сахара, Намиб, Австралийска пустиня, Атакама, Сонора и др.). Пустините в умерените ширини са разположени предимно в северното полукълбо в централните части на континентите, там където не достига влага от океаните (Каракум, Казълкум, Гоби, студените пустини на Тибет, пустини на Големия Басейн).

Климатът се характеризира с незначително количество на валежите (около 200 мм) и много силно изпаряване. Най-бедни на валежи са тропико-субтропичните пустини поради пониженото атмосферно налягане. В крайбрежните пустини Намиб и Атакама, не падат валежи, но овлажняване има от океански мъгли. Температурите в горещите пустини показват големи денонощни колебания – от 40 – 60° С през деня до минусови стойности през нощта. В пустините на умерените ширини средномесечните зимни температури падат до –20° С.

В аридните области почвите са бедни – хумусът е 2 – 3%. Те имат различно водозадържащо свойство: глинестите и льосовите се овлажняват само повърхностно и бързо изсъхват; пясъчните пропускат бързо водата надолу; в скалните пустини има най-голямо водозадържане; чакълестите и каменистите пустини изсъхват бързо.

Особености на растителността. Растенията имат приспособления за максимално използване на наличната вода и намаляване на транспирацията: дълбоки до 30 м корени; ефемерни рас-

тения, които осъществяват цялата си вегетация за няколко дни; геофити (с грудки, луковици); ксерофити, с приспособления да намалят загубата на вода (листа са силно редуцирани или покрити с гъсти трихоми); сукуленти, които съхраняват вода в листа, клонки, стъбла (кактуси в Северна и Южна Америка (в Сахара липсват кактуси), род *Aloe* в Африка).

Растителни таксони от биома: *Tamarix aphylla* (безлистна ракитица), *Welwitschia mirabilis* (от реликтно сем. *Welwitschiaceae*), кактуси – *Carnegie gigantea* и род *Opuntia*, род *Calligonum*, бял саксаул (*Haloxylon persicum*), род *Salsola*.

Животински свят. Фауната на аридните области е бедна, има малка плътност и е съставена предимно от пустинни форми. Някои животни набавят необходимата им вода единствено от растенията, с които се хранят. Много гризачи и влечуги са активни само нощем, а други изпадат в летен сън. През деня се укриват в убежища, скални пукнатини и др. Поради оскъдната храна много хищници са полифаги (лисица фенек, чакал).

Животински таксони от биома: термити (род *Anacanthotermes*), агамови и сцинкови гущери, рогата пустинна усойница (*Cerasres cerastes*), авиценова отровница (*C. vipera*), пясъчни мишки, род *Oryx* (Саблероги антилопи), едногърба камила *Camelus dromedarius*, двугърба камила *Camelus bactrianus*, каракал, пума, койот.

Склерофилни, иглолистни и лавролистни гори и храстови съобщества на субтропичните зони

Биомът е разположен на север и на юг от тропиците, приблизително между 30 и 45 градуса с. ш. и ю. ш., а най-типичната му част е Средиземноморието. Склерофилни съобщества има в Южна Африка, Северна Америка (Калифорния), Чили, Южна Австралия.

Климатът се характеризира със сухо и горещо лято. Валежите са предимно от дъжд и падат през зимата, със средно годишно количество 500 – 600 мм. Снеговалежите и замръзванията са редки, слаби и краткотрайни.

За субтропичните зони са характерни жълтите и червените почви с много високо (до 10%) съдържание на железни окиси. Те са кисели, с малко хумус и слабо плодородни.

Особености на растителността. Видовете са приспособени да понасят сравнително по-дълъг сух период, а цъфтежът е от декември до май. Приспособления за ограничаване на транспирацията са склерофилия, дребнолистност, гъсто покритие с трихоми, игловидна форма на листата, отделяне на етерични масла. През лятото много дървета и храсти прекарват период на покой без опадане на листата. Широко разпространени са много тревисти растения геофити (с подземни клубени, луковици и коренища) и едногодишни треви (ефемери). Маквисите (наречени още чапарал в Калифорния и финбош в ЮАфрика) са храстови съобщества, които представляват първи стадий в деградацията на вечнозелените дъбови гори.

Растителни таксони от биома: каменен дъб (*Quercus ilex*), корков дъб (*Q. suber*), пърнар (*Q. coccifera*), източен чинар (*Platanus orientalis*), зокум (*Nerium oleander*), дафиново дърво (*Laurus nobilis*), маслина (*Olea europaea*), алепски бор (*Pinus halepensis*), приморски бор (*P. pinaster*), пиния (*P. pinea*), кипарис (*Cupressus sempervirens*), ливански кедър (*Cedrus libani*), атлански кедър (*C. atlantica*).

Животински свят. Най-богатата фауна в биома имат горските и влажните формации. В сухите райони се срещат предимно ровещи гризачи, гущери, змии и насекоми (най-активни през пролетта). Голямо разнообразие показват гризачите, което е обусловено от обилието на семена, луковици и грудки на геофитите. В Евразия и Африка много разпространени са мишките, катериците и сънливците, а в Новия Свят – хомякообразните.

Животински таксони от биома: термити, муфлон, елен лопатар, черноопашат и белоопашат елен, пуду (*Pudu*), кенгуру валаби (*Wallabia*), дивата свиня, пекари.

Тревисти съобщества на степите, прериите и пампата. Тревните съобщества са безлесни области в умерените ширини. В Евразия степите заемат пояс с широчина 1000 км започвайки от делтата на Дунав и достигащи до Източна Монголия и Амурската област на Русия. В Северна Америка прериите са разположени в централната част на континента, до източните склонове на Скалистите планини. Южноамериканската пампа лежи в пределите на Аржентина, около Буенос Айрес.

Климатът се характеризира с хладна и често снежна зима и топло и сухо лято, като изпаряването значително превишава количеството на валежите. Количеството на годишните валежи е 200-500 мм. В Евразия той е рязко континентален, а снежната покривка се запазва до 4 месеца.

В прериите температурният градиент нараства от север на юг. Климатът на пампасите е много по-мек, а количеството валежи превишава 600 мм.

Основни типове почви са черноземните и кафявите. Благодарение на високото съдържание на хумус, те са изключително плодородни. На места се формират т. нар. „солончаки“.

Особености на растителността. Същинските степи са напълно безлесни поради недостатъчното овлажняване и летните засушавания. Преобладават ксерофитни форми и житни треви.

Растителни таксони от биома: гороцвет (*Adonis vernalis*), житни треви от род *Stipa* (Коило), род *Festuca* (Власатка), род *Poa*, *Buchloe dactyloides* (бизонова трева), *Bouteloua gracilis* (трева грама).

Животински свят. Сезонните засушавания, високите температури, дефицитът на повърхностни води и периодичният недостиг на хранителни ресурси силно влияят на животинските обитатели. Растителността е ниска, поради което съществуват малко сигурни укрития и голям брой животни изравят ходове и леговища в почвата. Тревопасните животни живеят на стада и са много подвижни и издръжливи. Степните птици гнездят върху почвата.

Животински таксони от биома: полевки, лалугери, мармоти, мишки от род *Apodemus*, слепи кучета (*Spalax*), прерийни кученца, сайгак, кулан, степен тарпан, бизон, вилорога антилопа, степен пор, невестулка, язовец, вълк, лисица, койот.

Широколистни и смесени гори на умерените ширини. Растат в Европа (от атлантическото крайбрежие на Пиренейския полуостров до южните части на Скандинавския полуостров), Източна Азия и източната част на Северна Америка, в условия на достатъчна влажност през цялата година и хладна зима, през която се прекратява вегетацията.

Климатът се характеризира с топъл период (4 – 6 месеца) и не особено студена зима (3 – 4 месеца). Овлажняването е високо и равномерно през цялата година (500 – 1000 мм).

Почвите са богати на минерални вещества и хумус. Над тях се образува горска постилка, която се разрушава бавно и ги предпазва от бързо изветряване.

Особености на растителността. Гората има един или два дървесни етажа, храстов и тревен етаж. Напролет се развиват голям брой хелиофилни тревисти растения. Извънетажни форми са мъхове и увивни растения (бръшлян, повет, скрипка, дива лоза). Най-характерни за Средна Европа са горите от обикновения бук (*Fagus silvatica*). В смесените гори участват борове, смърч, ела и тис.

Широколистните гори на Средна Европа са най-бедни на видове в биома. Това се обяснява със залежаванията през плейстоцена, когато са изчезнали редица дървесни и други видове.

Растителни таксони от биома: обикновен бук (*Fagus silvatica*), японски бук (*F. japonica*), *Sambucus* (Бъз), *Corylus* (Леска), летен дъб (*Quercus robur*), космат дъб (*Q. pubescens*), цер (*Q. cerris*), обикновен габър (*Carpinus betulus*), дребнолистна липа (*Tilia cordata*), явор (*Acer pseudoplatanus*), бял салкъм (*Robinia pseudoacacia*), гледичия (*Gleditschia triacanthos*).

Животински свят. Основната част от фауната е типично горска. Характерно за някои бозайници (гризачи, мечки) е, че прекарват зимния период в неактивно състояние, а много птици отлитат към топлите климатични зони на юг за зимуване.

Животински таксони от биома: кос (*Turdus merula*), славей (*Luscinia megarhynchos*), голям синигер (*Parus major*), благороден елен, сърна, дива свиня, горска мишка (*Apodemus silvaticus*), катерици, язовец (*Meles meles*), сънливек (*Dryomys nitedula*), диви котки, мечки, вълци, лисици.

Иглолистни и дребнолистни бореални гори (тайга). В Евразия биомът образува почти непрекъснат бореален пръстен, който лежи в пределите на умерено студената климатична зона. Средната ширина на гигантския пояс на тайгата е 1000 – 1200 км. В Северна Америка биомът граничи със смесени гори и прерии на юг, а на север – с тундри.

Климатът се характеризира с дълго зимно застудяване (до 7 – 8 месеца) и със сравнително топъл летен период. Средните зимни температури в някои райони спадат до –30° С. Валежите са в границите 150-500 мм годишно.

Почвите в тайгата са неплодородни; хумусът е груб, поради ниската активност на микроорганизмите. В дълбочина почвите са вечнозамръзнали (смята се, че замръзването датира от ледниковия период), като се разтопяват повърхностно през краткото лято.

Особености на растителността. Иглолистните дървета са студоустойчиви и вегетират кратък период през годината, имат плитка коренова система и задоволяват нуждите си от минерали благодарение на явлението микориза (симбиоза между кореновите власинки и почвени гъби).

Тайгата се характеризира с бедност на дървесни видове и тя има дървесен, подлесов, храстово-тревен и мъхово-лишеев етаж. Дървесният етаж е образуван главно от 4 рода иглолистни – смърч, бор, ела и лиственца. Има добри условия за развитие на торфени мъхове.

Растителни таксони от биома: бял бор (*Pinus silvestris*), кедров бор (*P. sibirica*), смърч (*Picea albies*), ела (род *Abies*), лиственца (*Larix dahurica*, *L. sibirica*, *L. americana*), канадска цуга (*Tsuga canadensis*), космата бреза (*Betula pubescens*), сибирска хвойна (*Juniperus sibirica*), трепетлика (*Populus tremula*), лишей от род *Cladonia* (еленов „мъх“) и род *Cetraria* (исландски „мъх“).

Животински свят. Фауната е предимно горска. В южните участъци навлизат степни форми, а в северните се срещат видове, обитаващи лесотундрата и тундрата.

Животински таксони от биома: листоядни насекоми, сем. *Ipidae* (Корояди), комари, зли мухи, жаби *Rana arvalis*, *Bufo bufo*, *Salamandrella keyserlingi* (сибирски тритон), усойница *Vipera berus*, живороден гущер *Zootoca vivipara*, кръсточовка *Loxia curvirostra*, глухар, синигери (род *Parus*), кълвачи, катерица, кафява мечка (*Ursus arctos*), черна мечка (*U. americanus*), рис, европейска златка, самур, хермелин, невестулка, норка, вълци, росомаха.

Тундри и приполярни пустини. В северното полукълбо биомът обхваща северните части на Европа, Азия и Америка, Гренландия и островите в Северния ледовит океан. В южното полукълбо тундроподобни зони са разпространени на острови северно от Антарктида.

Климатът е крайно суров с ниски температури и малко количество (200 – 400 мм/год.) валежи. Средната минимална температура е от –32 до –56° С. В тези географски ширини Слънцето изобщо не залязва в средата на лятото, а в средата на зимата настъпва полярна нощ със снежни бури.

По време на краткото лято се размразява само горният почвен слой (характерно е заблатяване), а в дълбочина почвата е вечно замръзнала. Наблюдава се торфообразуване; почвата е бедна на хумус.

Особености на растителността. Съществуват само студоустойчиви растения с много къс вегетационен период (до около 6 седмици). Основната растителност е ниска. Дървесна растителност може да се развива само в по-южните части на зоната. Същинските тундри са с растителна покривка предимно от мъхове, лишей и острици, а цветните растения са сравнително малко видове.

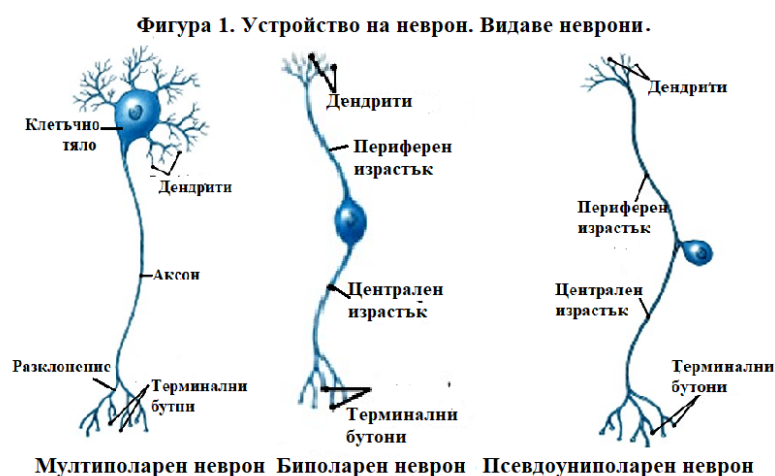
Растителни таксони от биома: *Salix arctica* (полярна върба), *Betula nana* (ниска бреза), лишей от род *Cladonia*, тревисти видове от родовете *Poa*, *Saxifraga*, *Dryas* и др., керегеленско зеле.

Животински свят. Фауната е бедна на видове, но те са много добре приспособени за суровите климатични условия. Дребните бозайници не прекарват зимата в сън, тъй като през краткото лято те не могат да натрупат мастна тъкан и не могат да правят убежища в замръзналата почва.

Животински таксони от биома: тундрова яребица (*Lagopus mutus*), леминги (род *Dicrostonyx* и *Lemmus*), северен елен (*Rangifer tarandus*), заек беляк (*Lepus timidus*), снежен овен (*Ovis canadensis*), овцебик (*Ovibos moschatus*), полярна лисица (*Alopex lagopus*), полярна сова (*Nyctea scandiaca*), тундров лебед (*Cygnus bewickii*).

Нервната система осъществява връзката на организма със средата и го адаптира към непрекъснато изменящите се условия в нея. Тя пуска в ход и регулира дейността на органите и системите, и осигурява функционалното единство на организма. Подялбата на нервната система (НС) се извършва по два принципа: топографски и функционален. Според топографския принцип НС е **централна**, чиито структури са разположени в черепната кухина и гръбначния канал (главен и гръбначен мозък) и **периферна**, чиито структури са извън тези кухини (периферни нерви, възли и рецептори). Според функционалния принцип НС е **соматична**, която осъществява връзката на организма с околната среда и осигурява инервацията на скелетните мускули и **вегетативна**, която регулира и координира дейността на вътрешните органи, кръвоносните съдове и жлезите.

Основната тъкан, която изгражда структурите на нервната система е нервната тъкан. Тя се състои от два основни клетъчни типа: високоспециализирани функционални клетки (неврони) и клетки с поддържаща функция (глиални клетки). Невроните са способни да възприемат дразненията от външната или вътрешната среда на тялото, да се възбудят и да провеждат нервни импулси, а глиалните клетки (невроглия) имат опорна, трофична, защитна и секреторни функции. **Невронът** е основна морфологична и функционална структура на нервната тъкан (Фигура 1). Притежава клетъчно тяло (сома, перикарион); къси, разклонени в близост до тялото израстъци – **дендрити** и дълъг израстък, наречен **аксон** или неврит. Тялото съдържа основната част от цитоплазмата, ядрото и клетъчните органи. Нервният импулс се пренася от дендритите към перикариона и от него към аксона.



По-голямата част от аксоните са покрити с миелинова обвивка, която се образува от клетъчната мембрана на един вид невроглиялни клетки – Шванови клетки (в ПНС) и олигодендроти (в ЦНС). На места миелиновата покривка се прекъсва – т.нар. *прищъпвания на Ранвие*. Миелинът е мастно-белтъчно вещество, което придава белезникав цвят на аксона. Действа като електрически изолатор, предотвратявайки разсейването на импулсите и позволявайки им да „скачат“ между прекъсванията на Ранвие. Миелиновата обвивка е свързана с провеждане на възбуждането. Колкото е по-дебела, толкова по-голяма е скоростта на провеждане. Аксоните в края се разклоняват и завършват с окончания, наречени **терминални бутони**. Невронът има свойства на секреторна клетка. В перикариона се синтезират химични вещества (медиатори или невротрансмитери), които се пренасят до терминалните бутони и имат голямо значение при предаване на нервния импулс от един неврон на друг.

Видове неврони. Класификацията на невроните може да се направи по различни критерии:

1. Според скоростта на провеждане: **А** неврони – богато миелинизирани, провеждат с най-голяма скорост. **В** неврони – слабо миелинизирани, провеждат с по-малка скорост. **С** неврони – немиелинизирани, провеждат с най-малка скорост.
2. Според големината на перикариона: клетъчното тяло варира в широки граници – от 3 – 4 μm до 120 μm и в зависимост от това невроните се делят на – гигантски, големи, средни, малки и много малки.

3. Според формата на клетъчното тяло: звездовидни, пирамидни, крушовидни, вретеновидни, овални и пр.
4. Според броя на израстъците: *многополюсни* (мултиполарни) – имат много дендрити и един аксон и са най-много в нервната система; *двуполусни* (биполарни) – имат два израстъка, изхождащи от двата полюса на тялото. Единият (по-къс) израстък, е централен и е насочен към структурите на ЦНС, а другият (по-дълъг), е периферен, достигащ до рецептори, разположени в различни части на тялото; *псевдоеднополюсни* (псевдоуниполарни) – имат един къс израстък, който Т-образно се разделя на два противоположни клона (периферен и централен).
5. Според функциите невроните биват: сетивни, двигателни и междинни (интерневрони).
6. Според посоката на провеждане на нервните импулси – аферентни (пренасят импулси от периферията към мозъка), еферентни (пренасят импулси от мозъка към периферията) и асоциативни (свързват аферентните с еферентните неврони).

Невроните се свързват помежду си чрез **синапси** (Фигура 2). Те представляват специализирани контакти между две нервни клетки или между нервна и ефекторна клетка (мускулна или жлезиста), чрез които става предаване на нервния импулс. Синапсът има три части: 1. *пресинаптична част* – това най-често е крайното окончание на аксона (мембраната на терминалния бутон). Тази част е разширена и съдържа множество митохондрии и малки мехурчета (везикули) с определено химическо вещество (медиатор). 2. *постсинаптична част* – това е мембраната на следващия неврон. На нея се разполагат рецептори (протеини), които могат специфично да се свържат с медиатора. 3. *синаптична цепка* – пространството между двете части, което е широко около 20 nm. Когато нервният импулс достигне пресинаптичната част, медиаторът се отделя от везикулите, дифундира в синаптичната цепка и се свързва с рецепторите на постсинаптичната част. В резултат на това настъпва деполяризация (възбуждане) или хиперполяризация (задържане) на постсинаптичната мембрана в зависимост от характера на медиатора. Според контактуващите части на невроните синапсите биват: *аксо-соматични*, *аксо-дендритни*, *аксо-аксонални* и *дендро-дендритни*.

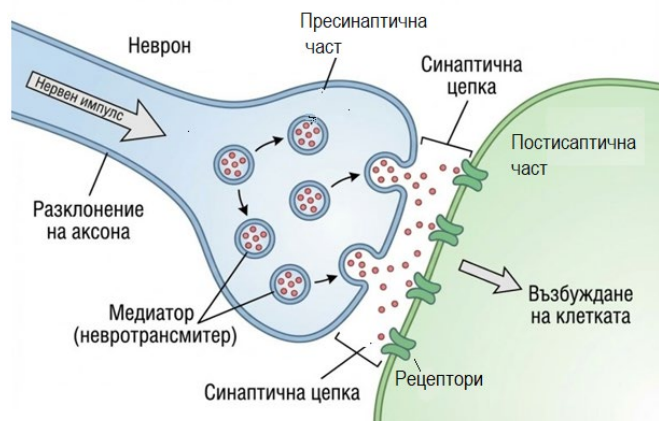
В ЦНС нервната тъкан е организирана в сиво и бяло мозъчно вещество. **Сивото вещество** (substantia grisea) е изградено от телата на невроните, дендритите, невроглия и кръвоносни съдове. **Бялото вещество** (substantia alba) е изградено от аксоните на невроните, невроглия и кръвоносни съдове. Аксоните в бялото вещество се групират и образуват добре оформени снопчета.

Произход. НС произлиза от ектодермата. По гръбната страна на зародиша се появява нервна пластинка (плочка), която към края на първия месец се превръща в нервна тръба. Предният край на тръбата задебелява и от него се обособяват три мозъчни мехурчета (предно, средно и задно), от които по-късно се развиват частите на главния мозък. От задния край на тръбата се оформя гръбначния мозък.

Краен мозък – външно описание на хемисферите и вътрешен строеж

Крайният мозък (telencephalon) се развива от предното мозъчно мехурче във връзка с обонянието, инстинктивното и съзнателно поведение на човека. Той е най-голямата част на главния мозък и представлява 80% от масата му. Нарича се още голям мозък (cerebrum). Изграден е от две **полукулба** (хемисфери), разделени едно от друго с надлъжна цепка, в дъното на която се намира бяло образувание, наречено **мазолесто тяло** (corpus callosum). То е съставено от миелинови нервни влакна, преминаващи от едната в другата хемисфера. Полукулбото има овална издължена форма с *три повърхности*: горновъншна (изпъкнала), медиална (плоска) и долна. По повърхността на полукулбото преминават множество бразди (sulci cerebri), които ограничават мозъчни гънки или извивки (gyri cerebri). От три основни бразди (*централна, латерална и темелно-тилна*), полукулбото се разделя на **четири дяла**: *челен* (lobus frontalis), *теменен* (lobus

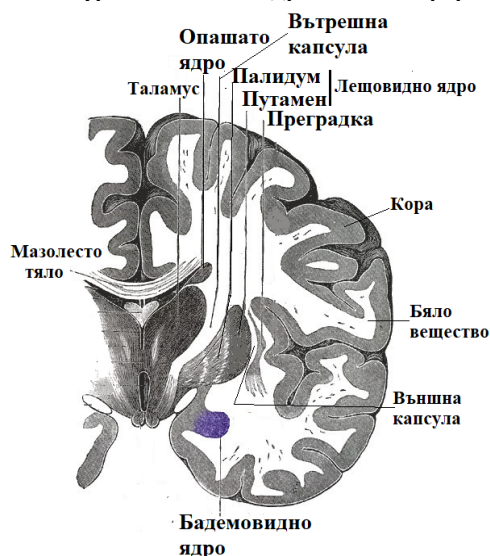
Фигура 2. Устройство на синапс



parietalis), *тилен* (lobus occipitalis) и *слепоочен* (lobus temporalis). Във всеки дял се намират бразди от втори порядък, които ограничават съответни мозъчни извивки (фигура 3). По-важни извивки на полукулбото са: По горно – външната повърхност в **челния дял** – предцентрална гънка (*гирус прецентралис*) и три челни гънки (*гирус фронталис супериор*, *гирус фронталис медиус*, *гирус фронталис инфериор*); в **теменния дял** – задцентрална гънка (*гирус постцентралис*) и две теменни делчета – горно и долно (*лобулус париеталис супериор* и *лобулус париеталис инфериор*); в **слепоочния дял** – три хоризонтални слепоочни гънки (*гирус темпоралис супериор*, *гирус темпоралис медиус*, *гирус темпоралис инфериор*); в **тилния дял** – няколко тилни гънки (*гири оксипиталис*). По медиалната повърхност – поясна гънка (*гирус цингули*), клин (*кунеус*), предклиние (*прекунеус*), парацентрално делче (*лобулус парацентралис*). По долната повърхност – права гънка (*гирус ректус*), орбитални гънки (*гири орбиталис*), парахипокампова гънка (*гирус парахипокампалис*).

Всяко полукулбо се състои от части, с различна филогенетична възраст: *мозъчна кора*, *бяло мозъчно вещество*, *базални ядра*, *странично мозъчно стомахче*, *обонятелен мозък*, *лимбична система*. **Мозъчната кора** (*cortex cerebri*) е най-силно развита и покрива останалите части като плащ. Във филогенетично отношение тя е най-младото образуване на нервната система (неенцефална част). **Бялото вещество** (*substantia alba*) също е неенцефална част. Изградено е от нервни влакна, невроглиа и кръвоносни съдове. Според посоката си нервните влакна са три вида: 1) *асоциативни* – свързват части на едно и също полукулбо. Те биват *къси*, свързващи съседни извивки и *дълги*, свързващи различните дялове на полукулбото; 2) *комисурални влакна* – свързват симетрични части от двете полукулба, влизайки в състава предимно на мазолестото тяло; 3) *проекционни влакна* – свързват кората на хемисферите с други части на главния мозък и с гръбначния мозък. Съобразно посоката, в която провеждат влакната биват *низходящи* – двигателни, достигащи до по-ниско стоящи части на ЦНС и *възходящи* – сетивни, идващи от други части на мозъка до кората. **Базалните ядра** на хемисферите представляват струпвания от сиво вещество (видими при срез) в основата на полукулбата, сред бялото вещество (фигура 3). Към базалните ядра спадат: *опашато ядро* (*nucleus caudatus*) – има форма на запетая и дължина около 7 см. Притежава широка предна част – глава и дълга опашка, която се извива върху таламуса от междинния мозък;

Фигура 4. Базални ядра на хемисферите



нагъната сива пластинка, с дебелина 1 – 2 мм, разположена в страни от лещовидното ядро. От

Фигура 3. Бразди и гънки на хемисферите



лещовидно ядро (*nucleus lentiformis*) – разполага се латерално от опашатото ядро, като се отделя от него чрез слой бяло вещество (*вътрешна капсула*). Има форма на двойно-изпъкнала леща. Състои се от външна, по-тъмна част – *черупка* (путамен) и вътрешна, по-светла част – *бледо тяло* (палидум). Опашатото и лещовидното ядро, заедно с разположеното по между им бяло вещество формират т.нар. *ивичесто тяло* (*corpus striatum*). Двете ядра функционират в тясно взаимодействие с коровите двигателни зони и до голяма степен са отговорни за двигателния контрол на тялото. Имат ключово участие в екстрапирамидната система, осигурявайки плавност, прецизност и координация на произволните движения, както и в регулиране на мускулния тонус. Увреждането на различни части от ядрата предизвиква сложни нарушения в регулацията на движенията – т.нар. паркинсонов синдром (тремор, масковидно лице, скованост на мускулите и др.); *преградката* (*claustrum*) представлява вертикална

него се отделя чрез тънък слой бяло вещество (външна капсула); *бадемовидното ядро* (corpus amigdaloideum) е сива маса, намираща се в дълбочина на бялото вещество в слепоочния дял. То е основна част на лимбичната система. **Страничното мозъчно стомахче** (ventriculus lateralis) е чифтна кухина, разположена във вътрешността на съответната хемисфера (лява и дясна) и е остатък от ембрионалното предно мозъчно мехурче. Състои се от четири части, разположени в различните дялове на хемисферата: *централна част* – в теменния дял; *преден рог* – в челния дял; *заден рог* – в тилния дял; *долен рог* – в слепоочния дял. Във вътрешността на стомахчето има съдов сплит, отделящ цереброспинална течност (ликвор). Чрез отвора на Монро предният рог се свързва с кухината на третото мозъчно стомахче в междинния мозък. **Обонятелният мозък** е свързан с приемане и анализиране на обонятелната информация. Това е филогенетично най-старата част на полукулблото, която у човека е сравнително слабо развита.

Има два дяла – периферен и централен. **Периферният дял** включва няколко, свързани едно с друго, образувания: *обонятелна луковича*, *обонятелен път*, *обонятелен триъгълник*, *обонятелно поле*. Структурите залягат по долната повърхност на челния дял. Те приемат и обработва първичната информация за миризмите, разграничавайки различните аромати. След това предават данните към централния дял на мозъка за по-нататъшна интерпретация. Към **Централният дял** се отнасят главно: *извивка на морския кон* (gyrus hippocampus) – особена гънка на кората, владена (втлачена) в долния рог на страничното стомахче и изолирана с бяло вещество; *бадемовидно ядро* (амигдала). Хипокампът участва в запаметяването на миризмите, а амигдалата добавя емоционален заряд, правейки спомените за различните аромати емоционално наситени. Обонятелният мозък има много връзки с лимбичната система, като някои от неговите структури са част от тази система. **Лимбичната система** включва мозъчни структури, разположени около мазолестото тяло. Тя отговаря за емоционалното състояние, настроенятия, паметта, инстинктите и обонянето. Морфологично към нея се отнасят едни от най-старите образувания на кората: *извивка на морския кон* (хипокамп) – има основна роля при обучение и памет – формиране на краткосрочна памет и нейното преминаване в дългосрочна; *поясна гънка*, *парахипокампова гънка*, *зъбчатата гънка* – ключови корови структури, свързани с внимание, пространствено възприемане и формиране на спомени. Освен корови гънки към лимбичната система се отнасят и редица ядра: *бадемовидното ядро* – обработва емоции като страх и гняв, участва в емоционалната памет и формиране на реакции „борба или бягство“; някои *ядра на междинния мозък* (сисовидни телца, ядра на таламус и на епиталамус). Всички части на лимбичната система са свързани помежду си чрез нервни влакна. Невроните на тази система притежават и многобройни връзки с кората, с мрежестата формация и с хипоталамуса. По този начин в лимбичната система се осъществява интеграция на соматична, вегетативна и обонятелна информация.

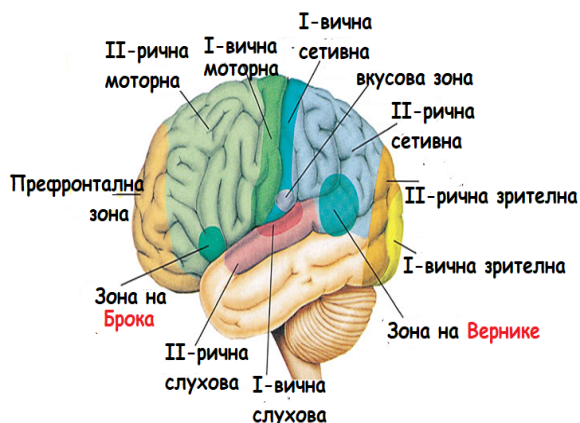
Кора на крайния мозък. Цито- и миелоархитектоника на кората

Кората (cortex cerebri) представлява слой сиво вещество, покриващо повърхността на хемисферите. Дебелината ѝ варира от 1.5 до 5 mm. Тя е силно набраздена и нагъната. Съдържа около 14 – 20 милиарда неврони, които влизат в множество контакти. В строежа ѝ участват разнообразни по форма, големина и функции нервни клетки, които се групират в два основни типа: пирамидни и зърнести (звездовидни). *Пирамидните* неврони са най-многобройните клетки (66%). Тяхната големина варира между 15 – 120 μm . *Зърнестите* неврони са с по-малък размер (8-14 μm), с редуцирана цитоплазма и силно разклонени дендрити. Те са около 33% и съществуват в няколко разновидности (вретеновидни клетки, хоризонтални клетки на Кахал, клетки на Мартиноти, кошничкови клетки и др). В кората клетките се подреждат по определен начин, като образуват слоеве, които се различат по количество и вид на изграждащите ги неврони. Това подреждане на клетките в слоеве се нарича **цитоархитектоника**. В по-голямата част от кората (9/10) клетките образуват шест слоя. Такава кора се обозначава като *еднаква кора* (*изокорткс*). От повърхността към дълбочината слоевете са: I. молекулярен слой – предимно неvroглиялни клетки и преплетени нервни влакна; II. външен зърнест слой – малки зърнести и пирамидни клетки; III. външен пирамиден слой – малки до средно големи пирамидни клетки; IV. вътрешен зърнест слой – малки зърнести клетки; V. вътрешен пирамиден слой – големи пирамидни клетки (гигантски клетки на Бец); VI. полиморфен слой – разнообразни по форма клетки. Останалата 1/10 от мозъчната кора има по-малко слоеве (3 – 4 слоя) и се обозначава като *друга кора* (*алокорткс*). Израстъците на невроните в кората също са подредени в определен ред и това се нарича **миелоархитектоника**. Нервните влакна се разполагат в кората в две посоки: вертикално или хоризонтално. *Вертикалните влакна* според посоката на провеждане са аферентни или еферентни. *Хоризонталните влакна* формират бели ивици, разграничаващи отделните слоеве на кората.

Локализация на функциите в кората

Кората е най-новата формация в строежа на нервната система и в нея са локализирани най-висшите нервни функции като мислене, памет, говор, въображение, планиране, сензорна обработка и пр. На функциите на кората са подчинени пряко или косвено всички останали части на нервната система. Във функционално отношение кората се разделя на различни зони – първични зони (сетивни и двигателни), вторични зони (асоциативни) и третични зони (психични). По-важни зони на кората са:

Първична моторна зона – разположена предимно в предцентралната гънка. От тук започват пирамидните пътища, свързани с волевите движения в противоположната половина на тялото. Увреждането на зоната води до *парализа* на противоположната мускулатура. **Вторична моторна зона** (асоциативна зона) – обхваща задните части на трите челни гънки. От тук се подреждат и съгласуват в последователен ред отделните движения. При увреждане настъпва *несръчност (апраксия)* – невъзможност за координация на отделните движения при изпълнение на сложно действие. **Префронтална зона** (третична зона) – заема предната част на челния дял (челния полюс).



Това е ключова област в мозъка, обработваща когнитивна информация. Регулира социалното поведение, емоциите и вземането на решения. Увреждането на зоната води до разстройство на личността – антисоциално поведение, нарушения в планирането, преценката и контрола на импулсите, постепенна деградация. **Първична соматосетивна зона** – обхваща предимно задцентралната гънка. До нея достига информация за повърхностна и дълбока (проприоцептивна) сетивност. При увреждане настъпва пълна безчувственост. **Вторична соматосетивна зона** (асоциативна зона). Обхваща областта на горното теменно делче. Тук се анализират и синтезират тактилни усещания. При увреждане настъпва **тактилна агнозия** – невъзможност за разпознаване на предметите чрез опипване. **Първична зрительна зона** – обхваща гънки в тилния дял, около браздата на птичата шпора. До тази част достигат първични зрительни усещания (светлинни сигнали). При увреждане настъпва слепота. **Вторична зрительна зона** (асоциативна зона) – в тилния дял, около първичната зона. Тук се анализират и асоциират първичните зрительни сигнали и се различават предметите, разположението им в пространството и т.н. При увреждане на тази част настъпва **зрительна агнозия** – предметите се виждат, но не се разпознават. **Първична слухова зона** – обхваща средата на горната слепоочна гънка. Възприема първични звукови сигнали – честота, интензитет, посоката от която идват и пр. При увреждане на тази част настъпва глухота. **Вторична слухова зона** (асоциативна зона) – в горна слепоочна гънка, в близост до първичната слухова зона. В нея се извършва сложен анализ на звуковете – разпознаване на мелодии, език, емоционални нюанси и пр. При увреждането ѝ болният чува звуците, но не ги разпознава. **Обонятелна зона** – заема малка площ по медиалната страна на слепоочния дял (парахипокампова гънка). Тази зона обработва мирисни стимули и ги свързва с емоции чрез лимбичната система (амигдала, хипокамп). **Вкусова зона** – намира се в долната част на задцентралната гънка. Обработва вкусовите дразнения и ги интегрира с обоняние, допир и температура от устната кухина за цялостно усещане за вкус. **Центрове на речта** – разположени са в доминиращата хемисфера и отговарят за различни аспекти на речта: **двигателен център на устната реч** – в задната част на долната челна гънка (зона на Брока). При увреждане – загуба на говор (**двигателна афазия**); **слухов център на устната реч** – в задната част на горната слепоочна гънка (зона на Вернике). При увреждане болният чува думите, но не разбира техния смисъл (**слухова афазия**); **двигателен център на писмената реч** – отговаря за писането. Намира се в задната част на средната челна гънка. При увреждане – загуба на способност за писане (**аграфия**); **зрительен център на писмената реч** – отговаря за четенето. Намира се около края на страничната бразда. При увреждане – невъзможност за разчитане на написаното (**алексия**).

Дихателната система е от съществено значение за поддържането на хомеостазата, тъй като осигурява постоянен обмен на газове между организма и външната среда. Основните ѝ функции включват доставката на кислород към тъканите, елиминирането на въглероден диоксид – основен краен продукт на клетъчния метаболизъм, и участието в регулацията на киселинно-алкалното равновесие.

Осигуряване на кислород за организма

Дихателната система доставя кислород до белите дробове, където той преминава в кръвта и се свързва с хемоглобина. Така се транспортира до клетките, където се използва за производство на енергия (АТФ). Недостигът на кислород води до нарушаване на клетъчните функции.

Отстраняване на въглероден диоксид

Въглеродният диоксид, образуван при метаболизма, се пренася в кръвта и се отделя чрез белите дробове. Този процес предотвратява натрупването на CO_2 и развитието на дихателна ацидоза.

Поддържане на алкално-киселинното равновесие

Белите дробове, заедно с бъбреците, са основните органи, участващи в регулацията на рН на кръвта. Въглеродният диоксид реагира с вода, образувайки въглеродна киселина (H_2CO_3), която дисоциира на водородни йони (H^+) и бикарбонат (HCO_3^-). Тази система представлява основния буферен механизъм на организма. Когато концентрацията на CO_2 в кръвта се повиши, се увеличава и концентрацията на H^+ , което води до понижаване на рН – респираторна ацидоза. Обратно, при повишена вентилация се елиминира повече CO_2 , концентрацията на H^+ намалява и настъпва респираторна алкалоза. По този начин чрез промени в дихателната честота и дълбочина организмът може бързо да компенсира нарушения на киселинно-алкалното равновесие, поддържайки физиологичното рН на кръвта около 7.4.

Дишането се състои от няколко взаимосвързани етапа.

Външното дишане представлява съвкупност от физиологични процеси, чрез които се осъществява обменът на газове между външната среда и кръвта в белодробните капиляри. То включва три взаимосвързани етапа – **вентилация, обмяна на газовете чрез дифузия и перфузия.**

Белодробната вентилация е механичният процес на движение на въздуха в и извън белите дробове. Тя осигурява непрекъснато подновяване на алвеоларния въздух и поддържа оптимални градиенти на парциалните налягания на O_2 и CO_2 между алвеолите и капилярите. Без ефективна вентилация алвеоларната газова смес би обедняла на кислород и би се натрупал въглероден диоксид, което бързо ще доведе до нарушения в газообмена.

Механиката на дишането включва движенията и разлики в наляганията, които позволяват влизането и излизането на въздуха от белите дробове.

Вдишването при човек, както при спокойно, така и при дишане с усилие е активен процес, при който диафрагмата и външните междуребрени мускули се съкращават. Диафрагмата, основният дихателен мускул, се спуска надолу с около 1 – 2 cm при спокойно дишане и до при дълбоко вдишване, като увеличава обема на гръдната кухина във вертикална посока. Едновременно с това външните междуребрени мускули повдигат ребрата нагоре и навън, увеличавайки предно-задния и страничния диаметър на гръдния кош. В резултат на това обемът на гръдната кухина нараства, интраплевралното и алвеоларно налягане се понижават под атмосферното, което предизвиква навлизане на въздух в белите дробове.

Издишването при спокойно дишане е пасивен процес, дължащ се на еластичното свиване на белия дроб и гръдната стена. След прекратяване на съкращението на инспираторните мускули диафрагмата се отпуска и се издига, намалявайки обема на гръдната кухина. В резултат, алвеоларно налягане се увеличава над атмосферното и това води до изтласкване на въздуха навън. При

издишване с усилие се активират и някои мускули като вътрешните междуребрени и коремни мускули, които повишават налягане в гръдната кухина и ускоряват издишването.

Дихателният цикъл при спокойно дишане се състои от активно вдишване и пасивно издишване, но при физическо натоварване и патологични състояния издишването става активен процес.

Интраплеврално, алвеоларно и транспулмонарно налягане

Вентилацията на белите дробове зависи от периодичните промени в налягането в различните части на дихателната система, които осигуряват движението на въздуха по време на вдишване и издишване. Интраплевралното налягане представлява налягането в плевралната кухина – тънко пространство между висцералната и париеталната плевра, които покриват съответно повърхността на белите дробове и вътрешната страна на гръдната стена. Това пространство съдържа минимално количество плеврална течност, която действа като лубрикант и позволява на двата плеврални листа да се плъзгат плавно един спрямо друг по време на дихателните движения.

Интраплевралното налягане възниква в резултат на противоположно действащи сили: белите дробове имат склонност да се свиват навътре поради еластичните си свойства, докато гръдната стена се разширява навън, под действието на дихателните мускули. Резултатът от тези противоположни сили създава отрицателен градиент на налягането в интраплевралното пространство спрямо атмосферното налягане. Този градиент поддържа белите дробове плътно прилепнали към гръдната стена, като ги държи разгънати и предотвратява пасивното им свиване в състояние на покой. По време на вдишване интраплевралното налягане се понижава още повече, което улеснява разширяването на белите дробове, докато при издишване то се повишава, но остава под атмосферното налягане. Този механизъм е от съществено значение за нормалната белодробна вентилация и за поддържане на стабилното положение на белите дробове в гръдната кухина.

Алвеоларното налягане отразява налягането на въздуха в алвеолите. В началото на вдишването то спада под атмосферното, предизвиквайки навлизане на въздух в белия дроб. В края на вдишването алвеоларното налягане се изравнява с атмосферното и въздушният поток спира. При издишване алвеоларното налягане нараства, предизвиквайки изтласкване на въздуха от белите дробове.

Интраплевралното и алвеоларното налягане са тясно свързани. Понижаването на интраплевралното налягане при вдишване води до спад на алвеоларното налягане и навлизане на въздух в белите дробове, докато повишаването на интраплевралното налягане при издишване (макар че то остава под атмосферното) води до нарастване на алвеоларното налягане над атмосферното и изтласкване на въздуха.

Разликата между алвеоларното и интраплевралното налягане представлява **транспулмоналното налягане**. То отразява силата, която раздува белите дробове. Това е основното „разтягащо“ налягане, което поддържа белите дробове разгънати. Колкото по-високо е транспулмоналното налягане, толкова по-голям е белодробният обем.

Ниското интраплеврално налягане е от решаващо значение за разгъването на белите дробове. Ако то се изравни с атмосферното, например при пневмоторакс, вакуумният ефект се губи и белият дроб се свива – колабира.

Обмяната на газовете чрез дифузия между алвеолите и кръвта е физичен процес, при който газовете преминават през алвеоларно-капилярната мембрана в резултат на разлика в парциалните им налягания.

Перфузията представлява кръвотокът през белодробните капиляри. Тя осигурява транспорт на газовете до и от местата на дифузията. Съотношението между вентилация и перфузия е ключово за ефективността на газообмена и нарушенията в това съотношение, например при белодробна емболия или обструкция на дихателните пътища, водят до хипоксемия и нарушена газова обмяна.

Еластични свойства на белия дроб

Белите дробове притежават естествена еластичност, която им позволява да се разширяват при вдишване и да се свиват при издишване. Мярка за тази еластичност е разтегливостта на белия дроб, която представлява съотношението между промяната в белодробния обем и съответната промяна в транспулмоналното налягане. Колкото по-висока е разтегливостта, толкова по-лесно се раздува белият дроб. При заболявания като емфизем разтегливостта на белите дробове се увеличава вследствие на разрушаване на еластичните влакна, което затруднява издишването и води

до задържане на въздух в белите дробове. При белодробна фиброза или оток, обратно, разтегливостта намалява, което затруднява вдишването и повишава енергийните разходи за дишане.

Важен фактор, определящ еластичните свойства на алвеолите, е повърхностното напрежение, създавано от тънък слой течност, покриващ вътрешната им повърхност. Химичният състав на тази течност позволява генерирането на сили на привличане между молекулите на водата, които се стремят да намалят обема на алвеолата. При липса на противодействие тези сили биха довели до колапс на малките алвеоли и прекомерно разширяване на по-големите – явление, описано със закона на Лаплас.

За да се предотврати този колапс, алвеоларната течност съдържа повърхностно-активно вещество – сърфактант, секретирани от белодробните пневмоцити тип II. Сърфактантът представлява смес от фосфолипиди и белтъци и намалява силите на привличане между молекулите на водата. По този начин той понижава повърхностното напрежение, намалява налягането, необходимо за раздуване на алвеолите, и стабилизира тяхната структура. Освен това сърфактантът увеличава разтегливостта на белите дробове, намалява енергията, изразходвана за дишането, и предотвратява алвеоларния колапс в края на издишването.

Недостигът на сърфактант, характерен за респираторния дистрес синдром при преждевременно родени бебета, води до намалена разтегливост, затруднено раздуване на белите дробове и тежка хипоксия.

Белодробните обеми и капацитети описват механичните възможности на дихателната система и отразяват функционалното състояние на белите дробове и гръдната стена.

Дихателният обем представлява количеството въздух, което се вдишва или издишва при спокойно дишане и при здрав възрастен е приблизително 500 ml.

Инспираторният резервен обем е допълнителното количество въздух, което може да бъде вдишано след нормално вдишване, докато **експираторният резервен обем** представлява въздуха, който може да бъде издишан допълнително след спокойно издишване.

Остатъчният обем е въздухът, който остава в белите дробове дори след максимално издишване, като той има ключово значение за поддържане на алвеоларната проходимост.

Белодробните капацитети представляват комбинации от два или повече обема и дават цялостна представа за дихателната функция.

Инспираторният капацитет включва дихателния обем и инспираторния резервен обем и отразява максималното количество въздух, което може да се вдиша след нормално издишване.

Функционалният остатъчен капацитет е сбор от експираторния резервен и остатъчният обем и представлява обема въздух, който остава в белите дробове в края на спокойно издишване, като той е от съществено значение за стабилността на газообмена.

Виталният капацитет се определя като максималното количество въздух, което може да бъде издишано след максимално вдишване, и често се използва като показател за белодробните функции.

Общият белодробен капацитет включва всички белодробни обеми и отразява максималния обем въздух, който белите дробове могат да съдържат.

Измерването на белодробните обеми и капацитети се извършва чрез различни функционални методи. Спирометрията е основен неинвазивен метод, който позволява измерване на дихателния обем, резервните обеми и виталния капацитет, но не може директно да определи остатъчният обем и функционалният остатъчен капацитет.

Белодробните обеми и капацитети се влияят от редица фактори. С напредване на възрастта настъпват промени в еластичността на белите дробове и гръдната стена, което води до увеличаване на остатъчният обем и намаляване на виталния капацитет. Физическата активност и тренировъчният статус могат да повишат виталния капацитет и ефективността на дихателната мускулатура. Патологични състояния, като обструктивни и рестриктивни белодробни заболявания, водят до характерни промени в белодробните обеми и капацитети, които имат важно диагностично и прогностично значение.

Газова обмяна

Газовата обмяна в алвеолите се осъществява през тънката алвеоло-капилярна мембрана, изградена от алвеоларен епител, базална мембрана и капилярен ендотел. Малката ѝ дебелина и голямата ѝ площ създават оптимални условия за бърза и ефективна дифузия на газовете. Ефективността на газообмена зависи не само от характеристиките на мембраната, но и от функционалното съотношение между алвеоларната вентилация и белодробната перфузия.

Транспортът на кислород в кръвта се осъществява основно чрез свързването му с хемоглобина в еритроцитите, като само малка част от O_2 е физически разтворена в плазмата. Свързването на кислорода с хемоглобина е обратим процес и зависи от парциалното налягане на кислорода. Същевременно, афинитетът на хемоглобина към O_2 се влияе от редица фактори, включително рН, парциалното налягане на CO_2 , температурата и др. физико-химични изменения в хемоглобина, които модулират отдаването на кислород в тъканите. Това представлява динамичен адаптационен механизъм, който осигурява повишено освобождаване на кислород при физиологични състояния с повишени метаболитни нужди, като активна физическа дейност, характеризираща се с увеличено образуване на CO_2 , повишена температура и понижени рН на кръвта.

Транспортът на въглеродния диоксид от тъканите към белите дробове се осъществява в три основни форми. Малка част от CO_2 се пренася физически разтворен в плазмата. Друга част се транспортира под формата на карбамино-съединения, образувани при свързване на CO_2 с аминогрупите на хемоглобина. Най-голямата част от въглеродния диоксид се пренася в бикарбонатна форма, след превръщането му във въглеродна киселина под действието на ензима карбоанхидраза в еритроцитите.

Регулация на дишането

Регулацията на дишането представлява сложен механизъм, чрез който организмът поддържа адекватна алвеоларна вентилация в зависимост от метаболитните нужди и състоянието на вътрешната среда. Тя се осъществява чрез тясно взаимодействие между неврални, хуморални и рефлексни механизми, които действат интегрирано и осигуряват контрол върху дихателната честота и дълбочина.

Неврална регулация

Основната неврална регулация на дишането се осъществява от дихателните центрове, разположени в продълговатия мозък и моста. В продълговатия мозък се намират дорзалната и вентралната дихателна група ядра, които формират основния ритъм на дишането. Дорзалната дихателна група е отговорна предимно за инспираторната активност при спокойно дишане, като изпраща ритмични импулси към диафрагмата и външните междуребрени мускули. Вентралната дихателна група се активира главно при усилено дишане и участва както във вдишването, така и в активното издишване. Дихателните центрове в моста модулират активността на центрите в продълговатия мозък.

Роля на коровия контрол

Кората на главния мозък позволява волеви контрол върху дишането, като човек може съзнателно да задържа дъха си или да променя дихателния ритъм. Този контрол обаче е ограничен във времето, тъй като повишаването на CO_2 и промяната в рН в кръвта активират автоматичните дихателни центрове, които възстановяват нормалната вентилация.

Хуморална регулация

Хуморалната регулация се осъществява чрез хеморецептори, чувствителни към промените в газовия състав и киселинно-алкалното равновесие на кръвта. Централните хеморецептори, разположени в продълговатия мозък, реагират основно на промените в рН на цереброспиналната течност, които отразяват концентрацията на CO_2 в артериалната кръв. Повишаването на CO_2 води до стимулиране на дихателния център и усиляване на вентилацията.

Периферните хеморецептори се намират в каротидните тела и аортната дъга и реагират на понижението на парциалното налягане на кислорода, повишаването на CO_2 или понижението на рН в артериалната кръв. Те имат особено значение при хипоксия, когато активират дихателните центрове и повишават честотата и дълбочината на дишането.

Рефлексна регулация

Рефлексната регулация на дишането се осъществява чрез рецептори, разположени в белите дробове и дихателните пътища. В белите дробове има рецептори чувствителни към разтягането на белия дроб при вдишване и разширяване на алвеолите и участват в рефлекс на Херинг-Бройер. Този рефлекс ограничава прекомерното раздуване на белите дробове, като потиска вдишването и подпомага началото на издишването. Макар да има ограничена роля при спокойно дишане при възрастни, рефлексът на Херинг-Бройер е от голямо значение при новородени и при усилено дишане, като допринася за защитата и ефективността на дихателната функция.

Адаптационни промени в дихателната система под влияние на външни фактори

Дихателната система притежава значителен адаптационен капацитет, който ѝ позволява да отговори адекватно на променящите се изисквания на външната среда и метаболитните нужди на организма. Тези адаптационни промени могат да бъдат краткотрайни или дългосрочни и засягат както вентилацията, така и газообмена и транспорта на газове.

Адаптация към физическо натоварване

По време на физическо натоварване настъпват промени в дишането, изразяващи се в увеличаване на дихателната честота и дълбочината на дишането. Това води до значително повишаване на минутната вентилация, което осигурява адекватен прием на кислород и ускорено отделяне на въглеродния диоксид. Тези промени се инициират както от централни механизми, свързани с дихателните центрове в продълговатия мозък и моста, така и от периферни сигнали, идващи от работещите мускули.

В началните етапи на физическото усилие вентилацията се увеличава още преди повишението на парциалното налягане на CO_2 , което показва ролята на неврогенни компоненти в контрола на дишането. С напредване на натоварването химичните фактори като повишените концентрации на CO_2 , H^+ и млечна киселина – допълнително стимулират дихателния център.

При продължително и системно физическо натоварване се развиват хронични адаптационни промени, известни като тренировъчен ефект. Те включват повишаване на ефективността на дихателната мускулатура, намаляване на дихателната честота в покой и по-икономично използване на вентилацията при субмаксимално усилие. Подобряването на съотношението между вентилация и перфузия води до по-ефективен газообмен и по-добро използване на кислорода в тъканите.

Адаптация към височина

Излагането на голяма надморска височина е свързано с намалено парциално налягане на кислорода, което представлява сериозно предизвикателство за дихателната система. При такива условия, моментният отговор на организма е хипервентилация, инициирана от периферните хеморецептори в каротидните телца. Това води до повишен приток на кислород, но същевременно може да предизвика респираторна алкалоза заради повишеното отделяне на CO_2 .

За да противодействат на настъпващата алкалоза бъбреците засилват екскрецията на бикарбонати, с което се стабилизира рН и това позволява поддържане на високата вентилация. При продължителен престой на височина настъпват хронични адаптации, включително развитие на полицитемия вследствие на повишена продукция на еритропоетин. Увеличаването на броя на еритроцитите и концентрацията на хемоглобин повишава кислород пренасящия капацитет на кръвта. В същото време настъпват физико-химични промени в еритроцитите, които улесняват отдаването на кислорода в тъканите. Увеличава се и капилярната плътност в мускулите, както и броят на митохондриите, което повишава ефективността на аеробния метаболизъм.

При хора, живеещи постоянно на голяма надморска височина, се наблюдава структурна реорганизация на белите дробове, включително увеличен брой алвеоли и по-развита белодробна капилярна мрежа. Въпреки тези адаптации, хроничната хипоксия може да предизвика повишено белодробно съдово съпротивление и развитие на белодробна хипертония.

Влияние на замърсяването и тютюнопушенето

Продължителното излагане на замърсен въздух и тютюнев дим води до функционални и структурни промени в дихателната система. Те включват хронично възпаление на дихателните пътища, нарушена мукоцилиарна функция и намалена белодробна разтегливост.

Хроничното дразнене активира макрофаги и неутрофили, което стимулира освобождаването на проинфламаторни цитокини и протеази, увреждащи алвеоларните стени. Това е в основата на развитието на хроничен бронхит и емфизем, които заедно формират хроничната обструктивна белодробна болест (ХОББ).

Тютюнопушенето намалява ефективността на сърфактанта и предизвиква окислителен стрес, който ускорява клетъчното стареене и апоптозата на епителните клетки. Намалява се еластичността на белодробната тъкан, което ограничава адаптационния капацитет при натоварване и хипоксия.

Определение, същност и особености

Гиляров (1990) определя популацията като „всяка способна към самовъзпроизводство съвкупност от индивиди на даден вид, повече или по-малко изолирана в пространството от други аналогични съвкупности на същия вид.”

От даденото определение би могло да се направят следните изводи:

- 1) за да се говори за популация дадената съвкупност от индивиди от съответния вид трябва да съществува достатъчно дълго време (много на брой поколения) в даденото местообитание. С това са обясняват различията между популациите и кратковременното струпване на индивиди извън мястото на тяхното размножаване;
- 2) за да има популация трябва да се размножават свободно помежду си и те да оставят плодовитото потомство;
- 3) популацията населява определено пространство и е изолирана в пространството по някакъв начин от други сходни групировки на вида, т.е. от други популации.

Популационните системи могат да се разглеждат в два аспекта (Костадинова и др., 2002):

- Еволюционно-таксономичен – популациите се разглеждат като форма на съществуване на вида, елементарна единица на еволюционният процес. В този случай те са звено от веригата – организъм-популация-вид-род и т.н.
- Функционално-екологичен – популациите се разглеждат като звена в биогенния кръговрат на веществата и енергията и елемент от веригата: организъм-популация-биоценоза-екосистема-биосфера. Взаимоотношенията на видовете в дадена биоценоза се осъществяват на популационно ниво.

Двата аспекта на разглеждане фактически са две направления на изучаване на популациите като биологични системи на надорганизмово ниво.

Популацията има свои особености, които я отличават от другите биосистеми (Костадинова и др., 2002):

- Специфичен признак е генетичното родство между индивидите.
- Специфичен признак на популацията е и фенотипното еднообразие на съставляващите я индивиди.
- Важен признак е и принадлежността към дадена екосистема. При това в зависимост от подвижността на вида и особеностите на територията дадена популация може да влиза в състава на една или няколко екосистеми.
- В популацията се поддържа приспособителна хомеостаза в условията на променящите се условия на средата. Тя осигурява съществуването на популацията за неопределено време.

Видът, както и популациите, чрез които той реално съществува в природата, са метаболитно отворени системи, съществуващи във взаимодействие с околната среда и популациите на други видове. Териториалната структура на вида (по Каменов, 1988) се основава на съществуването на различни йерархически типове популации, възникнали в конкретни ландшафтно-климатични условия. Тези популации са *географски*, *екологични* и *елементарни*.

Географските популации са съставени от група индивиди от даден вид, която населява площи с еднакви географски условия за съществуване или ясно обособен географски район. Размерите на заемащата площ са в зависимост от биологията на вида. Възможността за свободно размножаване между индивидите от тези популации води до формиране на общ морфо-физиологичен тип, който ги отличава от съседни географски популации на същия вид. Разликите се свеждат най-вече до различна подвижност на жизнените явления, адаптираност към неблагоприятните условия и др.

Съществуват разлики и в динамиката – брой поколения, темп на раждаемост, тип хранене и др. Независимо от тези особености, географските популации зависят една от друга. Тази зависимост се изразява във възможността за обмен на индивиди и запазване на свободното размножаване между тях. По такъв начин се повишава жизнеспособността на популацията и се дава възможност за възникване на нови преходни популации (Каменов, 1988).

Екологични популации – географските популации могат да се разпаднат на по-ниско рангови, наречени екологични (местни или биотопични популации). Те се състоят от индивиди, оби-

таващи даден биотоп. Тези популации са със сравнително непостоянен състав и показват различен начин на заселване на биотопите в зависимост от тяхната специфика. При благоприятни условия на средата тези популации могат да са постоянни, докато при други условия могат да се образуват временни екологични популации. За екологичните популации е характерна определена плътност и ритъм на биологичните явления. При малко подвижните видове и растенията под екологична популация би следвало да се разбира съвкупността на индивидите от дадения вид, които влизат в състава на една екосистема или биоценоза.

Съществуват и *елементарни популации*. За такива се приемат популации, които живеят в отделните стадии на нееднородните биотопи. Или могат да се образуват, когато местообитанията са много хетерогенни. Те съществуват в пределите на екологичните популации и са взаимно свързани, несамостоятелни, териториални групировки на вида. Елементарните популации, въпреки че не притежават никакви устойчиви морфологични различия, биха могли да се различават по особеностите на поведението си (най-често в периода на размножаване). В мозаечни местообитания постоянно могат да съществуват само елементарни популации, които заемат временно местата с подходящи условия за съществуване.

Свойства и динамика на популациите.

Основни механизми за регулиране на числеността на популациите

Свойствата на популациите са следните (по Odum & Barrett, 2004):

Числеността на популацията е общото количество индивиди на дадената територия. Тя бива два подтипа: *относителна численост* – брой индивиди отчетени за определен промеждутък от време и *абсолютна численост* – цялото количество индивиди в даденото местообитание.

Плътност – представлява броят индивиди или количеството биомаса на единица площ или обем. Различават се *средна плътност* и *екологична плътност*. *Средната плътност* е броя на индивиди или биомаса отнесени към цялото пространство заето от популацията. *Екологичната плътност* е броят индивиди или количеството биомаса на единица заселено пространство.

Методи за установяване на плътността и числеността (по Костадинова и др., 2002).

Тотално преброяване – използва се за големи, добре видими организми, или при такива които се събират периодично на големи групи за размножаване.

Метод на пробните площадки – състои се в преброяване или претегляне на организми или биомаса от пробни (опитни) площадки. Размерът и броят на площадките трябва да е достатъчно голям за да се получи оценка на числеността.

Метод на маркирането с повторно улавяне – приложим само за популации от животни. От популацията се улавят определен брой индивиди, които се маркират по някакъв начин и се пускат отново в популацията. По броят на белязаните индивиди в повторни улови се прави извод за числеността.

Метод без вземане на проби от местообитанието – използва се при неподвижни или слабоподвижни, дребни по размер, обекти. Взима се проба от изследваното местообитание (например почва, листна настилка, мърх, вода и др.) и в следствие се отделят организмите от пробата, чрез различни способы (напр. апарат на Тулгрин) и се преброяват.

Косвени методи – прилага се при животни, които остават видими белези от жизнената си дейност – дупки, убити животни и др. Макар и неточен, този метод, понякога е единственият, който може да бъде приложен за някои видове.

Динамика на популациите – с това понятие се отразяват промените в числеността на популацията във времето. Когато тези два показателя се увеличават с времето, тогава говорим за „растеж на популацията“.

Растеж на популацията

Определя се чрез увеличаването на броя индивиди в популацията за единица време.

Теоретично нарастването на популацията във времето се изразява чрез експоненциална крива. Такъв тип на нарастване се нарича „експоненциален растеж“ (Фиг. 1). Тя се отразява с уравнението (Костадинова и др., 2002):

$$\frac{dN}{dt} = rN$$

където: dN – промяна в броя индивиди;

dt – промяна във времето;

N – начална численост;

r – репродуктивен потенциал (скорост на нарастване).

Общата скорост на нарастване на популацията зависи от възрастовия състав и приноса на отделните възрастови групи в размножаването. В зависимост от възрастовия състав на отделните популации, видът може да има няколко величини на скоростта на нарастване на числеността.

При втория тип растеж популацията в началото бавно започва да увеличава своя размер, след което този процес се засилва рязко, но впоследствие отново се забавя с увеличаване на съпротивлението на средата до достигането на ниво на равновесие. Този тип на нарастване се нарича „логистичен растеж“ (Фиг. 1) и се изчислява по следната формула:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{rN \cdot (K - N)}{K},$$

където: N – изходна численост на популацията;

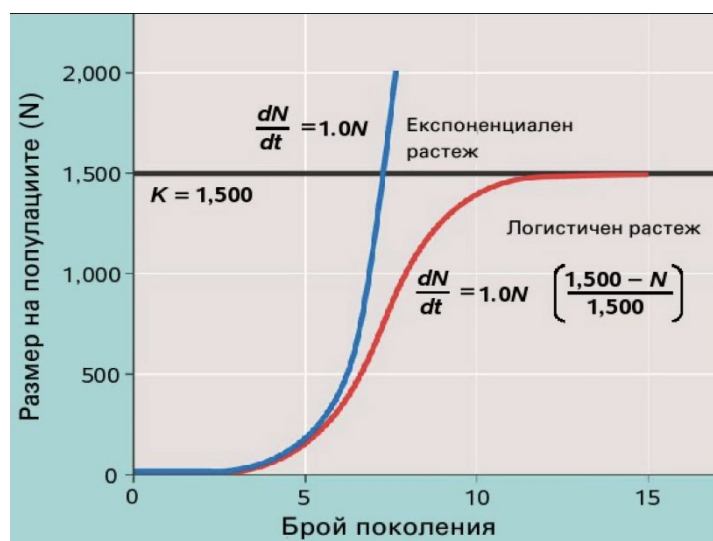
dN – изменението (прираст) на числеността на популацията;

dt – изменението във времето;

r – репродуктивен (биотичен) потенциал;

K – капацитет на нарастване.

Капацитетът на нарастване представлява теоретично максималният брой индивиди, които могат да съществуват в даденото местообитание, в зависимост от наличното място и ресурси.



Фиг. 1. Криви на експоненциален (E) и логистичен (L) растеж на популацията.

Раждаемост – представлява броят на новопоявилите се индивиди, в следствие на размножаването за единица време, отнесени към числеността на цялата популация.

В екологията се употребяват термините *максимална раждаемост* и *екологична раждаемост*.

Максималната или още наречена *абсолютна (физиологична) раждаемост* се изразява чрез теоретично възможното максимално количество индивиди възпроизведено при идеални условия на средата. Тя е постоянна величина за всеки вид.

Под *екологична раждаемост* се разбира увеличаването на броя на индивидите в популацията при конкретните за момента условия. Тя е променлива величина и варира в зависимост от условията на средата, от размерите и възрастовия състав на популацията.

Колебанията по отношение на раждаемостта са огромни – например при паразити, насекоми, риби – яйцата снесени през живота им са от порядъка на милиони, докато при някои бозайници се ражда по едно малко и то на няколко години. При някои видове се наблюдава размножаване в ларвна форма, което води до максимално увеличаване на броя на индивидите (например *Fasciola hepatica*).

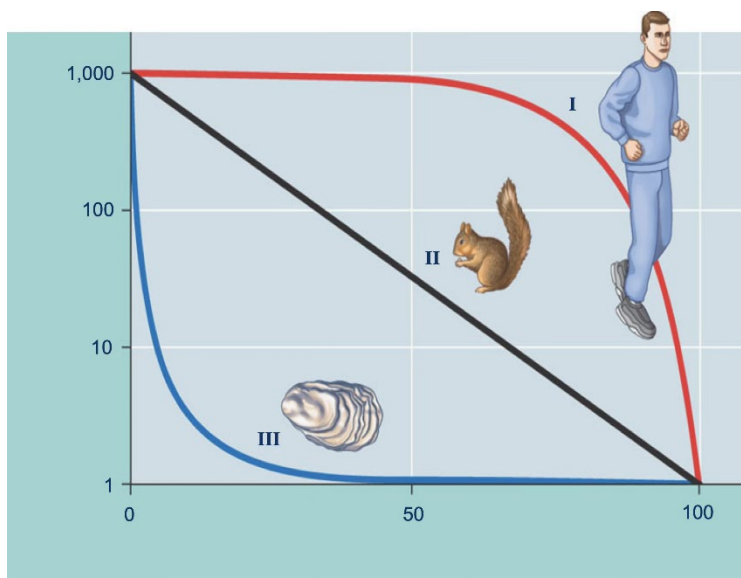
Раждаемостта може да бъде положителна, нулева, но никога отрицателна величина.

Смъртност – изразява броят на умрелите индивиди в популацията за определен период от време.

В екологията се различават – *минимална (абсолютна) и екологична или специфична смъртност*. *Минималната смъртност* представлява броят на умрелите индивиди при идеални условия на средата. *Екологичната смъртност* отразява броя на умрелите индивиди при конкретните условия на средата или броя на умрелите индивиди за единица време от началната численост на популацията (Костадинова и др., 2002).

Преживяемост. За изразяване динамиката на числеността на популацията се използва преживяемостта, която се определя като брой преживели индивиди в популацията за определен период от време. Ако броят на умрелите индивиди е M , то преживяемостта е $P-M$ (от раждаемостта се изважда смъртността).

В екологията преживяемостта се изразява графично чрез така наречените криви на преживяемост (Фиг. 2). Крива от тип I е характерна за видове, които имат ниска смъртност в ранните етапи от своят жизнен цикъл, която се увеличава към крайният етап. Тя е характерна напр. за бозайници, които полагат грижи за поколението. Крива от тип II е характерна за видове, които имат еднакви нива на раждаемост и смъртност през целия си живот (напр. хидра, катерица и др.). И крива от тип III е характерна за видове, които имат високи нива на смъртност в ранните етапи от своят жизнен цикъл (яйца, ларви, неполовозрели индивиди), която намалява към крайният етап от жизненият цикъл. Тя е характерна за повечето безгръбначни животни (най-вече паразити), както и за риби, земноводни и др.).



Фиг. 2. Криви на преживяемост.

Основни механизми за регулиране на числеността на популациите

Повечето реални популации нямат постоянна равновесна плътност за продължителен период от време, а са динамични и променящи се. Популациите могат да се разширяват или свиват поради промени в условията на околната среда или поради промени в тяхната биотична среда. Числеността на популациите могат да се колебаят (флукутират) около капацитета на тяхната среда (K).

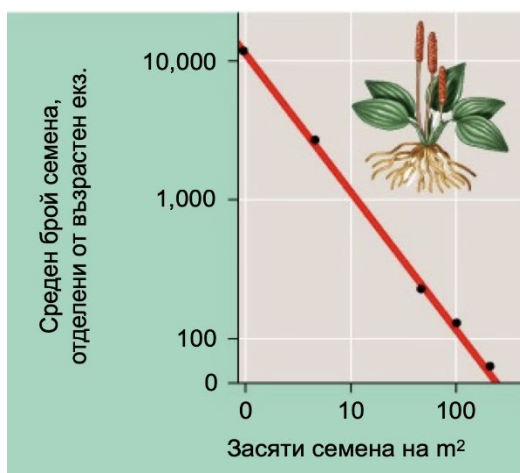
Съществуват две основни групи механизми за регулиране на числеността на популациите:

1. *Фактори, независещи от плътността* (определящи плътността), тяхното влияние не зависи от големината на популацията;
2. *Фактори, зависещи от плътността* (определяеми от плътността), въздействието им върху популацията е функция от нейната плътност.

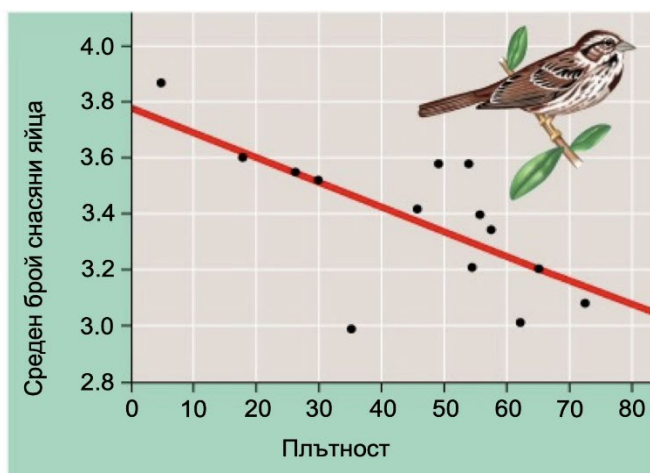
Характерни примери за въздействие на независещи от плътността фактори са силни бури, внезапно падане на температурата и други резки изменения на физичните условия на средата. При такива случаи тези, независещи от плътността, фактори довеждат до смъртта на голям брой организми и реално регулират числеността на популациите.

Влиянието на факторите от втората група обикновено се засилва с приближаването към капацитета на нарастване, но може да съществува и точно обратната зависимост. При факторите, зависещи от плътността, основното влияние става чрез изменение на процесите раждаемост и

смъртност. Изследванията показват, че съществува равномерност в регулацията на числеността, носеща характер на автоматизъм. При увеличаване на плътността едни механизми могат да доведат до смърт на част от индивидите, а други да предизвикат намаляване на числеността чрез блокиране на размножителните процеси (Каменов, 1988).



Фиг. 3. Броя на семената отделени от живовляка (*Plantago major*) намалява с увеличаване на популацията.



Фиг. 4. Броя на снесените яйца от американския славей (*Melospiza melodia*) на о-в Мандарт, Британска Колубия, намалява с увеличаване на популацията и намаляването на хранителните ресурси.

Съществуват и химични механизми за регулация на числеността. Например поповите лъжички при висока плътност отделят по-голямо количество и по-концентрирани химически вещества, които задържат растежа и развитието на другите, по-слаби индивиди. Подобен механизъм при растителните популации е отделянето на специфични алелопатични вещества.

Някои регулаторни механизми са свързани с физиологични и поведенчески реакции. При голяма плътност се появява масова миграция. Това се наблюдава при насекомите, минаващи през различни фази в развитието си (например прелетните скакалци).

Факторите на микроеволюцията, които причиняват индивидуална изменчивост, водят до промяна в честотите на срещане на гени и генотипове в различните популации, т.е. определят динамиката на популациите. Известни са четири основни фактора: *естествен отбор, мутационен натиск, поток от гени и генен дрейф*.

Генен дрейф

Всички *случайни колебания в честотата на срещане на гените в генофонда на малките популации, могат да се означат като генен дрейф*. Дрейф (от английски drift) означава „изместване“.

Ако в дадена популация двата алела на гена A (A и a) се срещат с честота съответно $\hat{p} = 0.40$ и $\hat{q} = 0.60$, честотата на доминантния алел (A) в следващото поколение може да бъде по-малка или по-голяма от 0.40, просто защото сред гаметите, които образуват зиготите на това поколение, алелът A случайно може да се среща по-рядко или по-често от очакваното.

Генният дрейф е напълно случаен процес и представлява частен случай на общото явление, което е известно като „грешки на извадката“ или „вариации в извадката“. Общият принцип е, че размерът на „грешките“, които се получават при формирането на извадката, е обратно пропорционален на големината на извадката. Тоест колкото тя е по-малка, толкова по-големи са ефектите. При организмите този принцип означава, че колкото броят на кръстосващите се индивиди в популацията е по-малък, толкова по-вероятно е промените в алелните честоти, които се дължат на генния дрейф да са по-големи. Тоест ефективността на генния дрейф се определя преди всичко от ефективната репродуктивна величина на популацията.

Когато се знае броят на родителите, участвали в създаването на следващото поколение, и алелните честоти, е възможно да се изчисли вероятността за получаване на определена алелна честота в следващото поколение. За да се направи това е необходимо да се знае какъв е вариансът на алелните честоти в следващото поколение, който е мярка за вариациите, които биха могли да бъдат намерени сред различните по размер извадки (Айала и Кигер, 1987). Ако в генофонда на популацията се отчитат два алела с честота $\hat{p}$ и $\hat{q}$, а броят на родителите е N_e (така, че броят на алелите в извадката, използвана да даде следващото поколение, е $2N_e$), вариансът (s^2) на алелната честота в следващото поколение може да се изчисли по формулата:

$$s^2 = \frac{\hat{p} \cdot \hat{q}}{2N_e}$$

Това уравнение показва *обратната зависимост между размера на ефективната репродуктивна величина (N_e) и очакваните отклонения в алелните честоти*. Тоест устойчивостта на генотипната структура на популацията зависи от нейната ефективна численост.

Под влияние на генния дрейф, различията между малките, изолирани една от друга популации ще нарастват. Едновременно с това вътре във всяка една от тях ще се увеличава честотата на близкородствените кръстосвания, а това ще води до хомозиготизация. Чрез математически анализ е доказано, че честотата на хетерозиготите в популацията ще намалява вследствие на генния дрейф, като стойността (k), с която тази генотипна честота ще намалява за едно поколение може да се изчисли с формулата:

$$k = \frac{1}{2N_e}$$

Например: Ако $N_e = 50$, то за едно поколение, честотата на хетерозиготите може да намалее вследствие на генния дрейф с $1/2 \cdot 50 = 1/100 = 1\%$. При ефективна численост $N_e = 500$ това снижаване ще бъде с 0.1%, а при $N_e = 5\,000$ – ще бъде 0.01% (много ниска стойност).

Колебанията в алелните честоти вследствие на генния дрейф са чисто случайни. Този процес обаче, след известен брой поколения придобива „насоченост“, тъй като честотата на редките алели във всяко следващо поколение ще намалява с по-голяма вероятност, докато се стигне до загубата им (честота 0), а честотата на често срещаните алели ще се увеличава във всяко следващо поколение, докато се стигне до фиксирането им (честота 1). Процесът на изменение на алелните честоти вследствие на генния дрейф ще зависи от два фактора – *ефективната репро-*

дуктивна величина и продължителността на процеса, измерена посредством броя на поколенията.

Крайни случаи на генен дрейф се наблюдават, когато нова популация се основава само от няколко индивида (Айала и Кигер, 1987). Това било наречено от Ернст Маер ефект на родоначалника (англ. founder effect). Популациите на много от видовете, които обитават океанските острови, въпреки че могат да се състоят от милиони индивиди, са потомци на един или няколко колонизатори, дошли там отдавна при случайното си разселване. Подобно явление се наблюдава и в езера, изолирани гори и други екологични изолати. Поради „случайността“ на извадката, алелните честоти в различните локуси на няколкото колонизатори, и на популацията, от която идват, по всяка вероятност се различават. Това може да има трайни последици върху еволюцията на подобни изолирани популации.

Случайни промени в алелните честоти, подобно на случайните промени, които се дължат на ефекта на родоначалника, настъпват и при преминаване на популациите през стеснения (англ. bottleneck effect). При неблагоприятни климатични или други условия на средата, популациите могат силно да стеснят числеността си, поради измиране на голяма част от индивидите. Такива популации по-късно могат да възстановят обичайния си размер, но случайният дрейф може значително да промени техните алелни честоти по време на стеснението, а следователно и в следващите поколения.

Мутационен натиск

Мутациите са ненасочени, случайни изменения на генетичния материал, които възникват спонтанно или под влияние на определени физични, химични или биологични фактори (Алтухов, 2003). Спонтанният мутационен процес е главен източник на нови алели в генофонда на популацията, което води до увеличаване на генетичното разнообразие в популацията. Мутационният процес е не само източник на генно разнообразие, но може да оказва влияние и върху генетичната структура на популацията.

Нека да предположим, че в даден локус има два алела – A_1 и A_2 , и че мутирането от $A_1 \rightarrow A_2$ се осъществява със скорост „ u “ – на гамета за поколение. Ако в даден момент честотата на A_1 е $\hat{p}_0$, в следващото поколение една част (u) от всички A_1 – алели се превръща в A_2 чрез мутиране. След мутирането честотата на A_1 (т.е. $\hat{p}_1$) ще бъде:

$$\hat{p}_1 = \hat{p}_0 - u \cdot \hat{p}_0 = \hat{p}_0(1 - u)$$

След n – брой поколения, честотата на алелите A_1 ще бъде:

$$\hat{p}_n = \hat{p}_0(1 - u)^n$$

това уравнение може да се използва за дългосрочно прогнозиране на съответната алелна честота при еднопосочен мутационен процес (осъществяване на прави мутации). Много често обаче генните мутации са обратими и алелът A_2 може да мутира обратно към A_1 . Нека да допуснем, че алелът A_1 мутира както вече беше посочено до A_2 със скорост „ u “, а алелът A_2 мутира до A_1 със скорост „ v “. Ако в определен момент честотите на двата алела A_1 и A_2 са съответно $\hat{p}_0$ и $\hat{q}_0$, след едно поколение честотата на алела A_1 ще бъде:

$$\hat{p}_1 = \hat{p}_0 - u\hat{p}_0 + v\hat{q}_0$$

Това е така, защото част от алелите A_1 ($u \cdot \hat{p}_0$) се променят в A_2 , но в същото време част от алелите A_2 ($v \cdot \hat{q}_0$) се променят в A_1 . Ако с $\Delta \hat{p}$ означим промяната в честотата на алела A_1 за едно поколение, тогава:

$$\Delta \hat{p} = \hat{p}_1 - \hat{p}_0$$

Ако заместим стойността на $\hat{p}_1$ от по-горе, получаваме:

$$\Delta \hat{p} = (\hat{p}_0 - u\hat{p}_0 + v\hat{q}_0) - \hat{p}_0 = v\hat{q}_0 - u\hat{p}_0$$

По този начин, знаейки скоростта на правите и обратни мутации, и алелните честоти, можем да изчислим какво ще бъде изменението в честотата на единия или другия алел за едно поколение. **Тази промяна в съотношението между алелните честоти, вследствие на мутациите, се нарича мутационен натиск.** Мутационният натиск променя генофонда и генотипната структура на

популацията до момента, в който настъпи равновесие между правите и обратни мутации, т.е. $\Delta\hat{p} = 0$. Ако означим равновесните алелни честоти с $\hat{p}$ и $\hat{q}$, $\Delta\hat{p} = 0$, когато:

$$u\hat{p} = v\hat{q}$$

Този израз показва, че алелните честоти ще бъдат в равновесие, когато броят на алелите A_1 , които мутират в A_2 , е равен на броя на алелите A_2 , които мутират в A_1 .

Скоростта, с която мутационният натиск променя съотношението между алелите в популацията, стремейки се да установи равновесие, зависи както от стойностите на алелните честоти във всяко поколение, така и от различията в скоростта на правото и обратно мутиране.

Мутирането е много бавен процес, който сам по себе си променя генетичния състав на популации с много малка скорост. *Ако мутирането беше единственият процес за генетична промяна, еволюцията би се осъществявала с невероятно малка скорост.* Еволюционното значение на мутационния процес се изразява не толкова в изменението на алелните честоти, колкото в създаването на разнообразие от алели и възникването на нови гени, т.е. в създаването на материал за действие на отбора.

Поток от гени

Различните популации на даден вид сравнително рядко могат да бъдат изцяло изолирани една от друга. Между повечето от тях се осъществяват миграции. ***Поток от гени настъпва, когато някои индивиди се придвижват от една популация на вида в друга и се кръстосват с индивидите в нея*** (Айала и Кигер, 1987). Този фактор не променя алелните честоти за целия вид, но може да ги промени локално, когато алелните честоти на преселниците са различни от алелните честоти в генофонда на местната популация. Нека да приемем, че индивиди от околна популация на даден вид мигрират с определена скорост в дадена местна популация на същия вид, където се кръстосват с местните обитатели. Ако означим частта на преселниците с „ m “, в следващото поколение $(1 - m)$ от гените ще произхождат от местните обитатели, а m – от мигрантите. Ако приемем, че в околните популации определен алел A_1 има средна честота – P , а в генофонда на местната популация честотата му е $\hat{p}_0$, то в следващото поколение честотата на A_1 в местната популация ще бъде:

$$\hat{p}_1 = (1 - m)\hat{p}_0 + mP = \hat{p}_0 - m(\hat{p}_0 - P)$$

Изменението на алелната честота ($\Delta\hat{p}$) ще бъде:

$$\Delta\hat{p} = \hat{p}_1 - \hat{p}_0$$

Като заместим стойността на $\hat{p}_1$ с изведената по-горе, получаваме:

$$\Delta\hat{p} = \hat{p}_0 - m(\hat{p}_0 - P) - \hat{p}_0 = -m(\hat{p}_0 - P)$$

Това показва, че $\Delta\hat{p}$ е толкова по-голямо, колкото по-големи са частта на преселниците и разликата между двете алелни честоти. $\Delta\hat{p} = 0$ само ако $m = 0$, или $\hat{p}_0 - P = 0$.

Следователно, ако миграциите не спрат ($m = 0$), алелната честота ще продължи да се променя, докато не настъпи изравняване на алелната честота между местната и околните популации (т.е. $\hat{p}_0 - P = 0$). Разликата между алелните честоти на местната и околните популации след n -брой поколения на миграции ще се определи по формулата:

$$\hat{p}_n - P = (1 - m)^n \cdot (\hat{p}_0 - P)$$

Ако началните алелни честоти ($\hat{p}_0$ и P) са известни, тази формула позволява да се изчисли ефектът от n на брой поколения на миграции, извършваща се с дадена скорост:

$$\hat{p}_n = (1 - m)^n \cdot (\hat{p}_0 - P) + P$$

Чрез мигриране индивидите избират оптималните условия за съществуване в един или друг момент. Миграциите осигуряват целостта на вида и разпространението по ареала на най-ценните в селективно отношение мутации. Те способстват за регулиране на числеността на популациите. Чрез миграции индивидите заемат нови местообитания. Този фактор на микроеволюцията е тясно свързан с отбора.

Естествен отбор

Естественият отбор е процесът, който спомага за приспособимостта на организмите и регулира разстройващите влияния на останалите процеси (Айала и Кигер, 1987). В този смисъл естественият отбор представлява най-критичният процес на еволюцията, тъй като единствено той има отношение към адаптивната и високоорганизирана природа на живите същества. С действието на естествения отбор се обяснява също и част от голямото разнообразие на организмите, тъй като този фактор спомага за тяхното приспособяване към различните условия на съществуване. **Под естествен отбор се разбира закономерното по-удачно възпроизвеждане на едни генотипове в сравнение с други или това е избирателното възпроизвеждане на алтернативни генетични особености.** Естественият отбор може да се дължи на избирателната преживяемост или на избирателната плодовитост, или на двете заедно. Факторите на средата при посредничеството на отбора повлияват генотипната структура на популациите по такъв начин, че в тях съществуват най-приспособените фенотипове. Различават се *движещ*, *стабилизиращ* и *разграждащ* отбор (Попов, 1999).

Движещият отбор е известен още като направляващ отбор. Той води до прогресивно насочено изменение на генотипната структура на популацията. Осъществява се тогава, когато популацията се приспособява към нова среда, или когато средата на обитание бавно се променя и с това води до промяна и на обитаващата я популация. Този тип отбор може да се илюстрира с явлението индустриален меланизъм.

Стабилизиращият отбор действа тогава, когато дадената популация се е приспособила много добре към средата, която обитава, а самата среда остава стабилна дълъг период от време. В този случай действието на отбора е насочено към елиминиране на неприспособените към тази среда крайни стойности. В една такава приспособена популация, крайните стойности ще възникват непрекъснато под действието на мутационния натиск, потока от гени и разпадането при рекомбинацията. Стабилизиращият отбор в този случай ще има тенденция не към утвърждаване на едно или друго изменение, настъпило в популацията, а към запазване на популацията неизменна. Разликата между стабилизиращия и движещия отбор е тази, че стабилизиращият отбор елиминира изобщо крайните стойности, като запазва средната стойност непроменена, а движещият отбор елиминира едните крайни варианти, като неприспособени към изменящите се условия на средата, с което постепенно измества белега по посока на другите крайни варианти. В природата стабилизиращият отбор се среща често, но трудно се установява, защото не променя средната стойност на белега, която характеризира дадената популация, а само намалява степента на дисперсия около нея, а с това ограничава и изменчивостта в популацията.

Дизруптивният отбор действа противоположно на стабилизиращия отбор. Той се означава още като разрушаващ или разграждащ. Този тип отбор запазва крайните варианти, а елиминира междинните стойности, включително и средната. В резултат на това, ако дадена популация е полиморфна, то полиморфизмът се запазва и засилва, а една мономорфна популация може да се превърне в полиморфна. Тоест дизруптивният отбор може да служи като източник на популационен полиморфизъм. Допуска се, че в природните популации дизруптивният отбор действа в случаите, когато добре диференцираните полиморфни типове имат по-висока селективна ценност в сравнение с недобре диференцираните, и когато една полиморфна популация заема разнообразен терен.

Различните типове отбор реализират своето действие при различни ситуации и променят генотипната структура на популациите по различен начин.

Дарвинова приспособимост (приспособимост)

Параметърът, който се използва за отчитане действието на естествения отбор е *Дарвиновата приспособимост* (наричана понякога селективна стойност или адаптивна стойност). **Дарвиновата приспособимост** (w) – това е *относителната вероятност за размножаване на даден генотип*. Тоест *приспособимостта измерва репродуктивната способност на генотипа* и може да варира в граници $0 \div 1$.

Естественият отбор действа чрез избирателно възпроизвеждане на индивидите от различни генотипни класове, в съответствие с това приспособимостта често се изразява като относителна, а не като абсолютна мярка на възпроизводителната способност. Приспособимостта на генотиповете с най-висока възпроизводителна способност се означава като 1.

Друг параметър, който се използва за отчитане действието на отбора е коэффициентът на отбор (s), който измерва намаляването на приспособимостта на даден генотип. Между коэффициентна на отбор и дарвиновата приспособимост съществува следната зависимост:

$$s = 1 - w \Rightarrow w = 1 - s$$

Коефициентът на отбор може да варира в граници $0 \div 1$. Когато коэффициентът $s = 0$ това означава липса на отбор, а когато $s = 1$ – пълно елиминиране на съответния генотип.

Действието на естествения отбор и приспособимостта на генотиповете се определят от всички онези особености в живота на един индивид, които могат да окажат влияние върху неговия репродуктивен успех. Тези особености се наричат *съставки на приспособимостта*. Главните съставки на приспособимостта са преживяемостта и плодовитостта. Различията в приспособимостта могат да се дължат на една, или няколко съставки на приспособимостта. При отчитане действието на естествения отбор, това, което е от значение, е общата приспособимост, но не и включените в нея съставки.

Биоценозата е съвкупността от популациите на всички живи организми, населяващи даден биотоп. Видовете са свързани с взаимна зависимост и се запазват благодарение на постоянното размножаване в рамките на техните популации Odum (1971). Съгласно това определение характерните особености на биоценозата са:

1. Тя включва цялата маса микроорганизми, гъби, растения и животни;
2. Видовете са свързани помежду си в различни междувидови взаимоотношения;
3. Биоценозата е в непосредствена зависимост от факторите на външната среда;
4. Биоценозите представляват биологични системи, намиращи се в устойчиво равновесие;
5. Индивидите в биоценозата се размножават в своето местообитание, т.е. в самата биоценоза.

Границите на биоценозата могат да бъдат определени по два начина. Физикохимичен подход – например биоценозата на езерото е изолирана от останалите биоценози поради характера на местообитанието или функционален подход – дефиниран от кръговрата на веществата, който е по-интензивен в системата, отколкото извън нея. Територията и границите на биоценозата се определят по съвкупност от признаци и свойства, и на първо място по измененията в растителността. Като се има предвид, че тя е разположена на определена територия, именно границите на тази територия служат като граници на биоценозата.

Много често между различните биоценози, напр. гори и ливади, между гори и блата и др. границите на биоценозата са изразени ясно. В други случаи преходът е постепенен – например когато езерото е оградено от блато, което постепенно преминава в гора. Характерните растения и животни за дадената биоценоза проникват на съседните територии, като се създава особена гранична ивица, наречена *екотон*. При пространствения преход на една биоценоза в друга се увеличава броят на екологичните ниши, и което е особено съществено в случая, не е налице сбор от екологичните ниши, а ново качество, характерно за тази гранична територия. Това ново качество е причина за увеличаване на популациите и индивидите, населяващи тези територии – факт, известен като *правило на екотона* или на *краевия ефект*. Освен, че флората и фауната се отличават със значително по-голямо видово разнообразие, и биологичната продуктивност е по-голяма в сравнение с двете биоценози.

Въз основа на броя на популациите и техните взаимоотношения се различават сложни и прости биоценози.

Сложните биоценози включват множество популации, разположени етажно и свързани помежду си с разнообразни хранителни и пространствени връзки. Те са най-устойчиви към неблагоприятни въздействия. Изчезването на някои видове не се отразява съществено върху строежа и действието им. В изключително сложните биоценози, каквито са тропичните гори, не се наблюдава масово размножаване на отделни видове.

Простите биоценози включват малък брой популации, като някои са с много висока численост. Често те се намират при относително неблагоприятни условия (например в тундрата). Характерно за тях е (особено за агробиоценозите), че при неблагоприятни въздействия, например масова поява на някои видове вредители по селскостопанските култури, се променя структурата на биоценозата.

Биоценозата представлява отворена система, непрекъснато изменяща се и развиваща се под влияние на различни вътрешни и външни фактори, т.е. тя се характеризира с определена динамика. Най-важни са денонощната и сезонната динамика. Във всяка природна биоценоза съществуват групи от организми, жизнената активност на които се променя през различните периоди на денонощието. Определящи фактори за денонощната динамика са светлината, температурата и атмосферната влажност. В зависимост от промените в активността си организмите се делят на дневни и нощни. Поради това действието на биоценозата се променя и представлява динамична величина през отделните часове на денонощието.

Сезонната динамика се определя от биологичните цикли на организмите, които са свързани със сезонността на природните явления. През годината значително се променя активността на растенията и на животните. Такива изменения са периодът на цъфтене и плодоносене на расте-

нията, падането на листата, зимната пауза при автотрофните организми, както и зимният сън, миграцията и др. при животните.

Междувидови взаимоотношения в биоценозите

Формите на взаимоотношения в природата се наричат *биотични фактори*. По своята същност те представляват съвкупност от различните форми на влияние на едни организми върху други. Тези фактори имат разнообразен характер и се проявяват в различна степен между организмите, които живеят заедно. Междувидовите взаимоотношения се осъществяват на ниво популация.

Според Odum (1971) различните форми на взаимоотношения между популациите на различните видове в природата могат да се сведат до три типа – отрицателни (-) или още неблагоприятни, положителни (+) или още благоприятни, и безразлични или нулеви (0). Оценката е на база въздействие на едната популация върху жизнеспособността, нарастването и развитието на другата популация и обратно.

При комбинацията на тези три основни типа взаимоотношения се достига до девет вида, които са: *неутрализъм* – отношенията между популациите са независими и те не си оказват никакво влияние една на друга (0,0); *конкуренция* – двете популации си оказват взаимно неблагоприятно въздействие (-,-). При това конкуренцията може да бъде *пряка*, когато популациите непосредствено и активно се потискат една друга (например борба за храна) и *косвена*, когато двата вида се конкурират за ресурси; *аменсализъм* – едната популация изпитва неблагоприятно въздействие от другата, но самата тя не оказва никакво влияние (-,0); *паразитизъм* – индивиди от единият вид (паразита) използват индивиди от другият вид (гостоприемникът), като източник на храна и временна или постоянна среда на живот, като по този начин влияят върху растежа и развитието им, а понякога могат да предизвикат и смъртта им (+,-); *хищничество* – едната популация въздейства върху другата неблагоприятно в резултат на пряко нападение и унищожение (+,-); *коменсализъм* – единият вид има полза от съжителството, а за другия това обединение е безразлично (+,0); *сътрудничество (протокооперация)* – и двете популации имат полза от съжителство, но тяхното обединение не е задължително (+,+); *мутуализъм* – двете популации имат взаимна полза от съжителството си, не могат да съществуват една без друга и са в тясна функционална връзка.

Някои тези форми на взаимоотношения, разгледани в по-широк аспект, биха могли да се определят като форма на *симбиоза*, носеща различен характер. Изхожда се от становището, че симбиозата е форма на съвместен живот независимо от ползата или вредата, която той носи. От тази гледна точка симбиотични са някои форми на коменсализъм, мутуализъм, но също така и паразитизъм.

Неутрализъм

Неутрализма е взаимоотношение при, което не се установява взаимодействие между индивидите от два или повече вида, но те зависят от състоянието на съобществото като цяло. За да говорим за неутрализъм между два или повече вида, то те трябва да са членове на едно и също съобщество.

Като неутрализъм може да се тълкува например взаимоотношенията между тарантулата и кактусите в пустинята, или взаимоотношението между два пространствено разделени вида. За друг пример на неутрализъм се приема наличието в растителното съобщество на фитопатогенни микроорганизми, които предизвикват заболяване при няколко растения (ендемично разпространение) и липсата на въздействие при растения, които не боледуват. Поради пространствената раздалеченост приемаме, че фитопатогенните микроорганизми инфектират корена на едно растение нямат отношение към големината на популациите на микроорганизмите, обитаващи листата на това растение. Всъщност това не е така, тъй като унищожавайки постепенно растението, фитопатогените лишават от местообитание и микроорганизмите от листната повърхност. В този смисъл на разсъждения вероятно е по-правилно да говорим за взаимоотношения с малка значимост за видовете, а не за неутрализъм. Теоретично почти не съществува в границите на една биоценоза.

Друг често споменаван пример за неутрализъм са зайци, елени и катерици, които живеят заедно в пасища и ливади с липса на взаимодействие между тях. Още примери като пеликани и кроморни, хранещи се в океана, различни пойни птици, които се хранят и гнездят в една и съща гориста местност, и различни микроорганизми, обитаващи различни органи на човешкото тяло.

Пряка и косвена конкуренция

В широк смисъл конкуренцията е взаимодействие на два организма, стремящи се към една и съща цел. Или това е такова взаимодействие, което е предизвикано от сходни потребности към ограничен ресурс на средата.

Съществуват две форми на конкуренция Odum (1971):

- *пряка* – непосредствено взаимодействие между индивидите. Характерна е например за много животни, охраняващи територията си и при борбата за храна. Но обекта на конкуренция, може да е територия, убежища или някакъв друг жизнено необходим ресурс.
- *косвена* – индивидите не си взаимодействат пряко, но реагират на намаляване количеството на даден ресурс от другия вид, т.е. популацията получава толкова, колкото е останало след използването му от другата.

Различават се междувидова и вътревидова конкуренция.

За интензивността на междувидовата конкуренция обикновено се съди по степента на влияние върху скоростта на нарастване или по изменение на състоянието на индивидите, образувачи дадена популация (например по намаляване на размерите им). Често се използват наблюдения върху съставлящите елементи – раждаемост и смъртност.

Междувидовата конкуренция, независимо на какво се основава, може да доведе или до взаимно приспособяване на двата вида, или до принуда единият вид да се пресели на друго място, или да премине към използване на друга храна. Нееднократно е отбелязвано, че видове, водещи сходен начин на живот, не обитават едни и същи места. Ако живеят на едно и също място, те имат някакво различие в потребностите си. Жестоката конкуренция се наблюдава, когато двата вида имат едни и същи потребности. Общеизвестното екологично разделяне на близкородствени видове е получило названието „принцип на конкурентното изключване“ или принцип на Хаузе, който първи го доказва експериментално с видове от род *Paramecium*.

Много и интересни примери за междувидова конкуренция дава островната фауна, представителите на която понякога демонстрират взаимоизключващо се разпределение, макар на континентите да живеят заедно. Радованович (1959) (по Гиляров, 1990) изучава разпространението на гущерите от род *Lacerta* на 46 острова в Средиземно море и установява, че на 28 от тях се среща само *L. melisellensis*, а на останалите само *L. sicula*. Не съществува остров, на който тези гущери да живеят заедно.

Друг пример за конкуренция е разширяването на ареала на един вид за сметка на съкращаването на ареала на друг вид. Така в края на XIX век и началото на XX в Европа се наблюдава намаляване на ареала на *Astacus astacus* (речен рак) и съответно разширяване на ареала на северозапад на близкия му вид *Astacus leptodactylus*. В настоящия момент той е изместил *Astacus astacus* от много реки, а съвместното им съществуване е изключение. Механизмът на изтласкване на един вид от друг не е ясен. Опити са показали, че *Astacus leptodactylus* преживявал във водоеми, в които *Astacus astacus* е загивал поради заразяване с „рачева“ чума. Много вероятно е успешното разпространение на ареала на *Astacus leptodactylus* да е на базата на по-бързото му нарастване, по-високата му плодовитост и способността му да се храни денонощно за разлика от *Astacus astacus*, който се храни само нощем.

Трябва да се има предвид, че, освен конкуренцията, причина за изчезването на даден вид или за промени в ареалите и нишите му може да бъдат и други биотични фактори. Като пример за конкурентно изтласкване дълго време е посочвано изменението на разпространението на два вида зайци – полярен заек (*Lepus arcticus*) и американски заек (*L. Americanus*). Преди над сто години единствено полярният заек е обитавал изследвания остров, като е заемал различни биотопи. Пренесеният на острова американски заек се разпространявал по планинските долини, а полярният останал да се среща във високите безлесни зони. Била предложена проста хипотеза – конкурентно изключване. По-късно се изяснява, че за изчезването на полярният заек от горските райони е виновен хищник – рис (*Lynx lynx*), числеността на който рязко нараснала след внасянето на американския заек. Косвен довод бил още, че полярният заек е изчезнал от тези райони, в които не е проникнал американският заек, но които по характера на растителността са били удобни за преследване от риса. Следователно става въпрос за хипотеза, включваща анализ на взаимоотношенията между два вида конкуренти (полярен заек и американски заек) и един вид хищник (рис).

По принцип съществуването на конкуриращи се видове е възможно при следните обстоятелства (по Гиляров, 1990): 1. Популациите на различните видове се ограничават от различни

ресурси; 2. Хищниците преимуществено изяждат по-силния конкурент; 3. Конкурентното преимущество на видовете се изменя в зависимост от непостоянството на външните условия; 4. Популациите на различните видове са разделени в пространството и времето и заемат набор от местообитания.

Аменсализъм (антибиоза)

Това е взаимоотношение при което единият вид инхибира растежа на другия вид, като ефекта за първия остава неутрален. Пример за това е алелопатията, която представлява директното или индиректното вредно влияние на микроорганизми, водорасли или растения върху други микроорганизми, водорасли или растения, посредством производството на химични съединения, които се отделят в околната среда и наричаме *алелохимикали*.

Под черния орех (*Juglans nigra*) растителността е оскъдна и културите не могат да се развият около ореховите дървета, което се дължи на отровните капки вода, които се стичат от дървото. По-късно това става един от добре изучените примери за въздействието на черния орех (*Juglans nigra*) от Северна Америка върху тревисти растения (картофи, домати, люцерна и др.). Изяснява се, че токсичното вещество е юглон (5-окси-алфаалфа-нафтохинон), отделян от корените, листата и черупките на ореха. В растението токсинът е в свързана форма – 4-глюкозид 1,4,5 – триоксинафталин, който след хидролиза и окисление се превръща в юглон.

Различни автори демонстрират, че извлекци от няколко тревни вида инхибират растежа на ябълката, както и че зрелите плодове на ябълката произвеждат изпарима субстанция, която инхибира нормалното поникване на картофите. Съществуват и много малко изследвания за алелопатията.

Хищничество

Хищничеството в най-широк смисъл е изяждане на един организъм (жертва) от друг организъм (хищник), като жертвата е била жива преди нападението.

Съществуват два основни способа за класифициране на хищниците (по Бигон и др., 1989), макар че нито един от тях не може да се счита за съвършен. Първият е така нареченият *таксономичен способ* – на базата на систематични особености на животните, на особености, свързани с начина им на хранене и на анатомичните особености за това. Вторият е т.нар. *функционален способ*, според който хищниците се делят на две групи – *истински хищници* и *хищници с пасбищен тип хранене*. Според Томпсън (1982) (по Костадинова и др., 2002) истинските хищници убиват своята жертва веднага след като я нападат и през целия си живот убиват много индивиди. Често се изяжда цялата жертва, но има и случаи на изяждане само на част от жертвата. Тук се отнасят най-широко известните животни хищници – тигри, орли, лъвови, богомолки и др.

Хищниците с пасбищен тип хранене в течение на живота си използват много жертви, но изяждат само част от своята жертва. Следователно е почти невъзможно точно да се предскаже леталният изход (иначе биха се отнесли към истинските хищници). Най-често тук се отнасят комарите (които не живеят върху топлокръвните животни, от които пият кръв, за разлика от паразитите, т.е. – няма симбиоза), но тук може да се включат и някои хищни видове пиявици, мухи, които се хранят с части от гръбначни животни и др.

Според Божков (1993) съществуват разлики между тези две екологични групи животни, които се свеждат до следното: хищниците най-често са по-едри от жертвите си, те ги убиват или ги поглъщат направо цели, хранят се обикновено еднократно с жертвата си; паразитите почти винаги са по-дребни от гостоприемниците си, хранят се най-често многократно, обикновено не причиняват смъртта на гостоприемниците или я предизвикват след известно време. Въпреки това, в някои случаи е трудно да се направи категоризиране.

Божков (1993) разделя хищниците при животните на две групи: 1. Хищничество спрямо животни от други видове; 2. Вътревидово хищничество (канибализъм).

Хищничеството е широко разпространено в животинския свят – при 40 – 45% от безгръбначните и във всички класове гръбначни. Съществуват цели класове изключително от хищни видове – например клас Главонози (Cephalopoda), разред Богомолки (Mantodea), от гръбначните разред Шуки (Escociformes) и разред Крокодили (Crocodylia).

Съществува разлика между екологичното понятие „хищник“ и систематичните особености на вида. Например много животни, които се хранят с други животни, не се отнасят към хищниците – синият кит (*Balaenoptera musculus*) – най-голямото животно на планетата, се храни с дребни планктонни рачета и мекотели, които поглъща в огромни количества, но въпреки това не

се счита за хищен вид. Бозайниците мравояди (сем. *Myrmeecophagidae*) се хранят с мравки и термити, но също не се считат за хищници. В същото време лъвът (*Pantera leo*), орелът (*Aquila chrysaetos*), които се хранят с едри животни, са типични хищници. Следователно дотук става ясно, че, когато даден животински вид се храни с друг, който е много по-малък от него, не се счита за хищник и обратно, ако животното, с което се храни, е почти сходни по размери или даже е по-едро, то тогава се говори за хищничество. Съществува и обратният пример – при зелената костенурка (*Chelonia mydas*) – едра костенурка с тегло около 400 кг и дължина 1,50 m в тропичните и субтропичните зони, докато е млада, е хищник и лови различни животни, а с напредването на възрастта ѝ преминава към растителна храна.

При животните с метаморфоза съществуват различия в отделните стадии от развитието им – например жаба (*Pelophylax ridibundus*) – личинките и малките се хранят с водорасли и ротатории, а възрастните – с безгръбначни, а в някои случаи и с дребни рибки, попови лъжички и малки жаби. При определени условия те започват да се хранят с млади жаби от собствения си вид (канибализъм – вътревидово хищничество), следователно изключително трудно е да се постави точна граница между понятията „животни, хранещи се с животинска храна“, и „хищници“.

В някои случаи не е лесно да се определи дали дадено животно е хищник или паразит. Общото и при двата типа взаимоотношения е това, че животните живеят за сметка на други животински организми. Основната разлика, обаче е, че при хищничеството няма симбиоза, докато паразитизма във всичките му форми е симбиотично взаимоотношение.

Преценяването на ролята на хищниците в екосистемите е един от най-важните и значителни въпроси в екологията. На базата на редица изследвания се стига до извода, че хищниците са полезни в екосистемите и необходимо звено в тях.

Слудейкин (по Гиляров, 1990), на базата на 25-годишни изследвания, стига до следните важни изводи за ролята на хищниците в природните екосистеми:

- Взаимоотношенията между хищник и жертва са едни от най-важните исторически фактори за еволюцията на двете групи животни. Усъвършенстването на едните и другите са вероятно взаимно обусловени.
- В резултат на тези взаимоотношения възникват взаимни приспособления – морфологични, поведенчески, които при жертвите имат защитен характер.
- Числеността и разпределението на хищниците зависи от обилието и разпространението на жертвите. Обикновено увеличаването на числеността на хищниците следва тази на жертвите след 1 – 2 години.
- Хищниците могат да задържат нарастването на числеността на жертвите на определено ниво за определено време.
- Хищниците изстребват предимно болни и слаби индивиди, което води до оздравяване на популацията на жертвите.
- Ако животните, които ядат мърша, са многочислени, те могат да изядат до половината от жертвите на хищниците.

Паразитизъм

Паразитите обикновено изяждат само част от своята жертва (гостоприемник). Като правило те рядко причиняват летален изход. За разлика от хищниците паразитът е тясно свързан със своята жертва (има симбиоза). Освен всеизвестните животни паразити към тази група се включват и растения – паразити върху други растения, както и гъби и микроорганизми. На практика паразитизма е най-разпространеното взаимоотношение в природата.

Паразитоиди се наричат група насекоми, обединени на основата на сходство в поведението на възрастните женски при снасянето на яйца и в типа на развитието на личинките. Те се отнасят главно към разред *Hymenoptera* и *Diptera*. Възрастните водят свободен начин на живот, но яйцата се отделят в тялото на други насекоми. Излизайки от обвивката си, личинките се развивали вътре, или на повърхността на своя гостоприемник, който също още не е достигнал възрастното състояние. Отначало вредата е незначителна, но с развитието си личинката почти изцяло изяжда своя гостоприемник. Особеното е, че паразитоидите не предизвикват бързата му гибел (както е при паразитите и хищниците с пасбищен тип хранене), но с времето гибелта му е неизбежна (това наподобява хищниците).

Например у нас към подразред *Parasitica* – паразитни оси, се отнасят семействата *Jehneumonidae* – паразити по насекоми и паяци; *Braconidae* и др.

Най-много паразитни форми се срещат сред тип Първаци, или Едноклетъчни (Protozoa), в голямата група на червеите (Vermes), която обединява няколко отделни типа, както и сред най-големия тип в животинския свят – Членестоноги (Arthropoda). В рамките на тези групи има цели класове и разреди, които са съставени изключително от паразитни видове. Такива са например: в тип Първаци – клас Спорови (Sporozoa); в голямата група на червеите – класовете Смукалници (Trematoda), Цестоди (Cestoda), Акантоцефали, или Бодлоглави червеи (Acanthocephales), и някои други; сред огромния тип Членестоноги – клас Пентастомиди (Pentastomida), разред Въшки (Anoplura), разред Бълхи (Aphaniptera) и други (Божков, 1983).

Съобразно екологичните им и биологични особености, паразитите могат да се класифицират по различни критерии. В зависимост от мястото на гостоприемника, което обитават, паразитите биват (Божков, 1983):

- Ектопаразити (външни) – обитават външната покривка на тялото – кожата и образуванията от нея косми, люспи, пера. Такива са кърлежи, въшки, бълхи, дървеници и др.
- Ендопаразити (вътрешни) – обитават различни клетки, тъкани и органи на гостоприемника. Те могат да бъдат едноклетъчни и многоклетъчни. Едноклетъчните ендопаразити биват:
 - вътреклетъчни (интрацелуларни) – маларийни илазмодии, лайшмании, токсоплазма;
 - извънклетъчни (екстрацелуларни) – трипанозоми, амеби, трихомонаси, ламблии, блантидиуми.

При растенията освен гореизброените паразити могат да се разграничат още халопаразити и хемипаразити. Халопаразитите черпят вода и хранителни вещества от гостоприемника и не фотосинтезират, като например куковичата прежде (*Cuscuta* sp.), а хемипаразитите (или още полупаразити) черпят само вода и минерални вещества и сами извършват фотосинтезата – например белия имел (*Viscum album*).

Коменсализъм

Най-сложният тип положително взаимоотношение в природата е коменсализмът. Това е взаимоотношение при което единият вид извлича полза от взаимоотношението, а ефекта за другия е неутрален. Думата „коменсализъм“ идва от латински – „*con mensa*“, което означава „хранене на обща трапеза“. И именно най-разпространената форма на коменсализъм е *сътрапезничеството* (Радкевич, 1983). Едни видове с хранят с остатъци от жертвите, убити от хищници. Другите форми на коменсализъм включват: *синойкия* – съквартиранство на базата на общо жилище, при която не възникват непосредствени хранителни взаимоотношения (нарича се още „инквизицизм“ – inquilism, като частен случай на тази форма на коменсализъм е, когато единият вид използва нещо отначало създадено, след смъртта на гостоприемника – тогава се говори за „метабиоза“ – metabiosis); *ениойкия* – съжителство върху тялото на друг организъм (нарича се още „фореза“ – phoresy); *ентойкия* – единият от организмите живее в тялото на другия (рибката от род *Fierasfer*, която живее в тялото на *Holothuria tubulosa*). Счита се, че това е единият от пътищата за възникване на паразитизма.

Протокооперация

Протокооперация има тогава, когато и двата организма получават изгода от взаимоотношението и по някакъв начин си помагат. Много важно е да се уточни, че не съществува тясна функционална връзка между тях (няма симбиоза).

Между африканската птица медопоказвач и бозайника медояд възниква протокооперация при намирането на мед, с който и двата вида се хранят. Птицата намира пчелните гнезда и води до тях своя партньор. Бозайникът разравя гнездото на пчелите и изяжда част от меда и личинките на пчелите, а птицата изяжда остатъците. Птицата-медопоказвач лесно може да намери гнездото на пчелите, но не може да го разрови, а бозайника – не може да ги открива (Божков, 1993).

Още един пример за протокооперативна връзка съществува между риби, наречени „санитари“ и техните „клиенти“. Някои видове риби от сем. Labridae (Зеленушки) носят името „санитари“. Те освобождават своите „клиенти“ от ектопаразити, които са се заселили по повърхността на тяхното тяло, по хрилете им или в устната им кухина. „Риба-санитар“ е например видът *Labroides phthiophagus*, както и някои други представители на същия род. Тъй като тези дребни рибки постоянно се намират на определени места, техните „клиенти“ идват при тях и се подлагат на „хигиенни процедури“.

Примери за формирането на протокооперация са взаимоотношенията между листните въшки и мравките. Първите секретират захар под формата на лепкава субстанция, която попада

върху растенията. Мравките добиват тази захар, произведена от листните въшки като по този начин ги предпазват от калинката. Ако обаче популацията на листните въшки се увеличи това би било фатално за обитавания растителен вид, но не и за двата коопериращи се.

Мутуализъм

Най-висшата форма на положителни взаимоотношения е мутуализма, при който имаме облигатна симбиоза. Обединението често е между свършено различни видове (между такива със сходни потребности биха възникнали конкурентни взаимоотношения).

Могат да бъдат различени няколко главни типа мутуализъм, според ползите, възникващи в резултат. Това са:

- Хранителен – изразяващ се в разпадане на съединенията и тяхното храносмилане за партньора или пък доставка на растежни фактори, хранителни вещества чрез синтеза
- Доставка на енергия, главно от фотосинтеза
- Защитен – защита от определени условия на средата или от врагове
- Транспортен – било от неприветлива към приветлива среда или чрез разпръскването на гаметите и зародиши.

Например в моретата взаимна изгода възниква при срещата на ракообразни с някои мещести (Coelenterata). Мещестите се прикрепват към гърба на раците, маскират ги и ги защитават чрез своите копривни клетки, а те получават остатъци от храната на раците и ги използват като транспортно средство. Следователно никой от тях не е напълно зависим, може да живее самостоятелно, но когато са заедно, имат взаимна полза.

Класически примери за мутуализъм са: азотфиксиращите бактерии и бобовите растения (микориза); между растения и животни, опрашители и т.н.; лишките, които са възникнали на базата на мутуалистични взаимоотношения между водорасли и гъби и са изцяло нов организъм със собствена биология и екология, и др.

Симбиотични мутуалисти са например бактерии в чревната флора, като те са отговорни за разпадането на целулозата. Такива бактерии има в гръбначните животни, термити и други членестоноги. Също така разпадането на уреята и усвояването на азота се осъществява от бактериите в търбуха на преживните животни. Именно те синтезират В-комплексните витамини, витамин К и сярсодържащите аминокиселини. Друг пример за симбиотичен мутуализъм са паразитните водорасли, които са главен източник на мастни киселини за плоските червеи. Именно поради това те са изгубили възможността сами да ги синтезират.

Разнообразни типове мутуалистични поведенчески отношения се срещат при обитателите на тропическите коралови рифове. Рибата-клоун (*Amphiprion* sp.) живее с различни актинии (например *Physobranchia* sp., *Radianthus* sp.). Рибата живее сред пипалата на актинията, покрити с копривни клетки, отделящи защитна слуз. По този начин се предпазва от враговете си. Актинията също се възползва от това съжителство. От една страна тя използва остатъците от храната на амфиприоните, които занасят уловената плячка в своя „дом“ и там я изяждат. От друга страна актинията получава и защита, тъй като рибата-клоун напада и разгонва риби, които се хранят с актинията. Според някои учени амфиприоните принасят и друга полза на актиниите, тъй като съдействат за движението на морската вода пред пипалата на тези мещести. Понякога около една актиния плуват десетина рибки *Amphiprion*.

Парамецията, *Paramecium bursaria* или познатото ни чехълче поглъща еноклетъчни зелени водорасли – от рода *Chlorella*. Тя определено е облагодетелствана от храната, синтезирана от цианобактериите. Те от своя страна печелят от въглеродния диоксид, произведен от гостоприемника, а също и от възможността да се преместват в по-светли места. Ако хлорелите експериментално се отделят и двата партньора ще продължат да съществуват независимо. Без хлорелата, парамецията просто става зависима от външни източници за храна. Вероятно някога парамецията е погълнала хлорелата, но не я е смляла, а е установила симбиозно партньорство (Божков, 1993).

Между посочените видове взаимоотношения винаги съществува преход и те се развиват и проявяват и във връзка с етапа на развитие на биоценозата, в която се проявяват. Освен това, всяка популация се намира в много сложни взаимоотношения, често едновременно и отрицателни, и положителни, с останалите популации от съобществото. Това определя изключителната трудност при изучаване и диференциране на точния тип взаимоотношение, влияещо върху динамиката и развитието както на отделната популация, така и на съобществото като цяло.

Екосистема – същност и дефиниция

Всяко съобщество от организми се намира в диалектическо единство и връзка с неорганичната среда – биотопа. Връзката на биоценозата с биотопа има материално-енергетичен характер. Всяка съвкупност от биоценоза и биотоп, в която може да се осъществява кръговрат на веществата и енергията, се нарича екосистема. Одум (1971) дефинира екосистемата като: „всяко единство между живите организми от определен участък и техните взаимодействия с физичната среда, което е организирано така, че потокът на енергията да създава точно определена трофична структура, видово разнообразие и кръговрат на веществата в тази система, се нарича екосистема“.

Екосистемата е основната функционална единица в екологията, доколкото в нея влизат организми и нежива среда, компоненти, взаимно влияещи един на друг и необходими за поддържане на живота в тази форма, в която съществува на Земята. Тя фактически представлява относително самостоятелна структурна единица, в която съобществото на организмите е енергетично свързано с неорганичната среда чрез биогенния кръговрат, който е цялостен и метаболитно затворен. Този процес на трансформация и пренос на материя се осъществява от взаимодействащите си екологични групи на биопроизводителите (продуценти), биопотребителите (консументи) и биоразградителите (редуценти). Продуцентите са автотрофни организми, които съществуват за сметка на неорганичните елементи на средата и произвеждат органична материя. Консументите са хетеротрофни организми, използващи готово органично вещество като източник на енергия. Редуцентите живеят за сметка на мъртвото органично вещество, което разлагат и минерализират. Най-голямо разнообразие в кръговрата на неорганичните елементи внасят консументите, които са представени изключително от животни. Благодарение на тях се ускорява кръговратът на неорганичните елементи в екосистемата и придвижването на веществата в други екосистеми. Това дава основание да се твърди, че и най-голямата екосистема на Земята няма напълно затворен кръговрат на веществата.

Границите на екосистемите трудно могат да бъдат определени, тъй като голяма част от подвижните видове влизат едновременно в състава на няколко биоценози. Сложните междувидови взаимоотношения, определящи функционалната цялост на екосистемите, се отличават с относителна свобода на структурните зависимости между отделните компоненти. В зависимост от динамиката на числеността и биологичната активност на отделните популации, се изменя както посоката, така и интензивността на потока на веществата и енергията.

Организацията на живата материя под формата на екосистеми е едно от необходимите условия за съществуване на живота. Разнообразието на живите организми осигурява тази степен на интензификация на кръговрата, която е необходима за равновесието и неограниченото съществуване на биогенните елементи на Земята.

Трофична структура на екосистемите

Функционалната структура на екосистемата представлява преди всичко хранителни взаимоотношения между организмите и средата. Всяко съобщество може да се представи като хранителна мрежа, която представлява схемата на трофичните връзки между видовете, влизащи в състава му. Хранителната мрежа се състои от няколко хранителни вериги, всяка от които се явява отделен неин канал. Хранителните вериги отразяват пътя на преминаване на хранителните вещества и енергията през различните трофични нива. Всички звена във веригата са взаимно свързани. Опростената схема на една хранителна верига включва трите основни групи организми: продуценти, консументи от различен порядък и редуценти. Те образуват трофичните звена на хранителната верига, през които се извършва предаването на хранителните вещества. Успоредно с предаването на храната се извършва и предаване на енергията, която преминава през различни енергетични нива.

Първото трофично ниво се заема от автотрофните организми – продуценти (П). Това са фотосинтезиращи растения, способни да образуват органични вещества, богати на енергия. Първичните продуценти са важни за всички екосистеми, защото всички останали компоненти на екосистемата зависят пряко или косвено от запаса на енергия, натрупан в тях. Второто трофично

ниво е представено от хетеротрофни организми – консументи. Тревопасните животни се означават като първични консументи (K1), а хранещите се с тях животни образуват третото ниво и се означават като вторични консументи (K2) или първични хищници. Четвъртото ниво се образува от третичните консументи (K3) или вторични хищници – хищни животни, хранещи се с първичните хищници. След отмиране на индивидите мъртвата материя се разгражда от редуцентите (P).

Съществуват различни типове хранителни вериги. Първият вид е хранителната верига на хищниците, която започва от автотрофните растения, след което енергията и веществата преминават към консументите от различен порядък – фитофаги (например насекоми), зоофаги (например пойни птици), които служат за храна на по-едри от тях грабливи птици (консументи от трети порядък). Тази хранителна верига се характеризира с това, че хранителните вещества и енергията се предават последователно през все по-нарастващи по големина консументи.

Хранителната верига на паразитите започва с растителен или животински организъм (гостоприемник), след което хранителните вещества и енергията направо преминават в паразитите, които също могат да бъдат от няколко порядъка.

При хранителната верига на сапрофагите растителните и животински органични отпадъци направо се използват като източник на вещества и енергия от сапрофагите, след които следва последното звено на хранителната верига – редуцентите.

Тези типове хранителни вериги не се срещат в чист вид в природата, тъй като един вид може едновременно да заема няколко нива в една хранителна верига или да участва в състава на няколко хранителни вериги. По такъв начин в екосистемата възникват сложни хранителни взаимоотношения, представляващи единни комплекси от много хранителни вериги, наречени хранителни мрежи. Това са хранителни вериги, свързани помежду си от общи хранителни звена. Колкото по-сложни са хранителните взаимоотношения между отделните видове в биоценозата, толкова по-сложна е хранителната мрежа и по-устойчиво е съответното съобщество.

Предаването на енергията в екосистемата става от нискостоящо към високостоящо равнище, в съответствие с първия и втория закон на термодинамиката (със загуба на топлина). При всеки преход на храната от едно трофично звено на друго се губи голяма част от съдържащата се в нея енергия (80-90%). Това ограничава броя на възможните трофични звена в хранителната верига до 4-5. Колкото тя е по-къса, толкова по-голямо е количеството на достъпната енергия за участващите в нея организми и обратно. В резултат на това намалява и броя на организмите, които могат да се поддържат от тази енергия, т.е. намалява числеността, а се увеличават размерите на отделните индивиди. По-големите размери са свързани с по-нисък интензитет на обменните процеси и следователно с по-малко количество необходима енергия.

Дължината на хранителните вериги зависи от:

- 1) количеството на достъпната енергия, която зависи от ефективността на функциониране на продуцентите;
- 2) ресурсите на местообитанието – наблюдават се случаи на високи стойности на първична продукция и къси хранителни вериги и такива, при които има недостатъчно първична продукция и дълги вериги.
- 3) видовото и функционалното разнообразие на биоценозите;
- 4) създалите се на тази основа регулаторни механизми.

Хранителната структура е най-чувствителното звено в екосистемата и лесно може да бъде нарушена, особено в бедни биоценози. В простите биоценози, изградени от малък брой видове, хранителните вериги са от линеен тип и трофичната структура може много лесно да бъде нарушена при отпадане на един от тях, докато в сложните биоценози хранителните вериги са от тип хранителна мрежа и отпадането на един вид не оказва съществено влияние върху функционалната им устойчивост, тъй като той може да бъде заменен от друг, равностоеен в екологично отношение.

В резултат на протичането на енергия по хранителните вериги всяко съобщество придобива определена трофична структура, която често се използва за характеристика на типа екосистема – горска, езерна, речна, тревна. Трофичната структура е фундаментално свойство на всички съобщества и екосистеми, благодарение на което то се намира в равновесие със средата и участва по определен начин в кръговрата на веществата и използването на слънчевата енергия. При хронични стресови въздействия върху екосистемите, трофичната структура може да се промени до известна степен съобразно с приспособленията на биотичните компоненти към стресовия фак-

тор. Създава се ново равновесно състояние, което не е така устойчиво. При поява на този стресов фактор може да се стигне до деградация на съобществата.

Екологични пирамиди

Трофичната структура обикновено се изгражда в графичен вид под форма на екологична пирамида, тъй като хранителните взаимоотношения на организмите в екосистемата са подчинени на определени количествени закономерности. При построяването на пирамидата чрез правоъгълници се изобразяват хранителните равнища. В основата се разполага продуцентите, над тях първичните консументи, а над тях съответно вторичните и третичните консументи.

Тъй като предаването на хранителните вещества и енергията в хранителните вериги се извършва със значителни загуби, съгласно принципите на термодинамиката, то всяко следващо трофично звено ще съдържа по-малко биомаса и енергия от предходното. От тук следва, че и броят на организмите трябва да намалява в горните нива на хранителните вериги. Когато пирамидата е най-голяма в основата си и постепенно намалява, тя се нарича права пирамида. Когато в основата се пирамидата е по-малка от следващото хранително равнище, тя се нарича обърната пирамида.

Екологичните пирамиди отразяват количествено отношението между биологичните компоненти в екосистемите или в отделни звена на трофичната верига – хищник-жертва и т.н. В зависимост от използваните параметри за характеристика на тези количествени отношения, екологичните пирамиди биват три основни типа:

1) **Пирамиди на числеността** – отразяват броя на индивидите във всяко звено на хранителната верига (числеността на различни функционални биологични компоненти). Според нея броят на индивидите във всяко следващо ниво на хранителната верига е по-малък от този в предходните, а размерите им нарастват обратно пропорционално на броя им. Пирамидата на числеността на популацията може да се обръща или частично да се обръща, т.е. основата може да бъде по-малка, отколкото един или няколко върхни етажа. По този начин се получават по-малки размери на продуцентите и по-големи размери на консументите. Формите на пирамидите на числеността са различни за различните съобщества в зависимост от това малки (планктонни, тревни) съобщества или големи (горски) са размерите на популациите. Пирамидите на числеността общо взето не дават реално представа за функционалната роля на отделните трофични нива и на елементите, които ги формират (популации или части от популации).

2) **Пирамиди на биомасата** – отразяват съотношението на биомасата на организмите, заемащи отделните трофични нива в хранителната верига, в тегловни единици (обща суха биомаса, калорийност или друга мярка на съотношение между общото количество живо вещество за функционалните компоненти). Пирамидите на биомасата по-добре отразяват ролята и съотношението на отделните функционални групи. Съгласно посочената закономерност в повечето сухоземни екосистеми количеството на биомасата във всяко предходно звено на хранителната верига е по-голямо от следващото. В сухоземните хранителни вериги, завършващи с микроорганизми обаче, тази закономерност не е валидна. Тя не се спазва и във водните екосистеми, особено в моретата и океаните, където пирамидата на биомасата е обърната, т.е. основата на пирамидата е по-малка, тъй като първоначалните нива на хранителната верига съдържат по-малко биомаса от следващите. Това обаче не е причина за нарушаване на устойчивостта на водните екосистеми и е възможно поради изключително високата продуктивност на основния продуцент в тях – фитопланктона, поради което той, по-малък по биомаса, може да изхрани следващите нива с по-голяма биомаса. Освен това поради увеличаване на продължителността на живот на видовете, заемащи горните нива на хранителните вериги във водните екосистеми, в тях има тенденция към задържане на биомаса.

3) **Пирамиди на енергията** – отразяват потока на енергия или продуктивността на последователните трофични нива. Установено е, че при използване на данните за числеността се надценява функционалната роля на малките организми в една екосистема, а при използването на данните за биомасата – ролята на едрите организми. Числеността и биомасата във функционалната екология не са подходящи за оценката на ролята на силно различаващи се по отношението интензивност на метаболизма/размери на организмите. Пирамидите на енергията отразяват скоростта, количеството на потока и загубата на енергия от едно трофично ниво към друго. Те не се влияят от други закономерности и винаги имат правилна форма съгласно втори закон на термодинамиката – имат широка основа и се стесняват към върха. Чрез тях могат да се съпоставят

различни екосистеми и да се оцени функционалната роля на едни и същи или на различни популации в тях. Може да се изчислят не само точните количества енергия в отделните звена, но и усвояването и загубата ѝ при преходите.

Поток на енергията в екосистемите

За разлика от веществата, които се движат в затворен кръг, енергията се движи едностранно. При преминаването ѝ от едно хранително ниво на друго, тя постепенно се изразходва. Високата степен на вътрешна подреденост на биологичните системи и нейното поддържане са свързани със значителен разход на енергия, поради което в последното хранително звено на екосистемата достига незначително количество от погълнатата от първото звено енергия. Основна роля в процеса на преноса на енергия в екосистемата играят автотрофите и по-точно количеството биомаса, което те създават и което ще се консумира от останалите трофични нива. Приема се, че до Земята достига около 43% от слънчевата енергия и едва 1% от нея се усвоява от автотрофите. Половината от свързаната при фотосинтеза енергия се изразходва за дишане на растенията, а останалата половина постъпва в хранителната верига. Около 80 – 90% от свързаната енергия на дадено трофично ниво се разсейва под форма на топлина и на следващото ниво постъпват едва 10 – 20%.

Макар и незначително, количеството на енергията, използвана в биогенния кръговрат на веществата, е достатъчно за синтеза на огромно количество биомаса. Цялото количество биомаса, произведено за една година от всички екосистеми на биосферата, се нарича обща биомаса. От количеството на първичната продуктивност зависи ефективността на преноса на енергия от едно звено в друго. За да се прогнозира характерът на движение на енергията в дадена екосистема, трябва да се знаят три различни ефективности на преноса ѝ:

1) **ефективност на консумиране** – процентът на сумарна продукция на едно трофично ниво, който действително се консумира от следващото трофично ниво. За фитофагите (първични консументи) това е количеството енергия, произведено за единица време във вид на чиста продукция от продуцентите, което постъпва в храносмилателния тракт на растителноядните животни. За вторичните консументи това е количеството биомаса, произведено от фитофагите, което се поглъща от хищниците. Останалата енергия се губи или под формата на топлина, или отива директно при редуцентите след смъртта на фитофагите. Счита се, че ефективността на консумиране като цяло е ниска при фитофагите и хищниците.

2) **ефективност на асимилация** – процентът енергия от храната, попадаща в храносмилателния тракт на консументите от дадено трофично ниво, преработена в достъпна и усвояема форма, нужна за растеж или за извършване на работа. Останалата част се губи под формата на екскременти и попада при редуцентите. Установено е, че ефективността на асимилация е ниска при фитофагите и детритофагите, но висока при хищниците, тъй като животинската храна се преработва и асимилира по-бързо и по-лесно в сравнение с растителната.

3) **ефективност на продуциране** – процентът на асимилирана енергия, включена в произведената биомаса. Останалата енергия, попадаща в съобществото, се губи като топлина и за дишане. Ефективността на продуциране е различна и зависи също и от систематичното положение на организмите. Например за безгръбначните е висока (30 – 40%), тъй като те изразходват сравнително малко енергия и по-голямата част отива за образуване на биомаса. При гръбначните животни с непостоянна температура ефективността е около 10%, а при тези с постоянна температура – едва 1 – 2%, защото голяма част от енергията отива за поддържане на телесната температура. За микроорганизмите е характерна висока ефективност на продуциране, тъй като те имат къс жизнен цикъл, малки размери и бързо обновяване на популацията.

Пренасянето на енергията в екосистемата има каскаден характер, а пренасянето на веществата – кръгов (цикличен). В противен случай се създава впечатлението, че биологичните процеси и по-точно кръговратът на веществата могат да изчерпят енергетичните възможности на екологичните системи, в това число и на биосферата.

Кризата със загубата на биоразнообразие е причинена от нарастването на броя на човешкото население, всеобщата бедност и неравното потребление на ресурсите. Според общоприетата класификацията на IUCN (2022) основните заплахи за биологичното разнообразие на Земята са: унищожение, фрагментация и деградация на местообитанията на видовете; предизвикани от човека промени в климата; инвазивни видове; генетично замърсяване; свръхексплоатация на естествени природни ресурси; замърсяване на околната среда и разпространение на болести и епидемии.

Унищожение, фрагментация и деградация на местообитанията на видовете

Загубата на местообитания е основната заплаха за изчезването на видове. Понятието „загуба на местообитания“ включва тяхното пряко разрушаване, но също и щетите, нанесени върху местообитанията чрез замърсяване и/или фрагментация. Когато едно местообитание е деградирало или разрушено, растенията и животните и другите организми, живеещи там, няма къде да отидат и обикновено измират (Примак и др., 2018).

Най-много видове изчезват вследствие на изсичането на горите. В резултат от раздробяването на местообитанията, земеделието, сечите и другите човешки дейности, в много от страните стават твърде малко функционално запазените гори – непокътнати блокове от относително слабо повлияни от човека гори, достатъчно големи, за да поддържат всички аспекти на биоразнообразието. В България унищожаването на горите е започнало още преди Средновековието, като особено интензивно е било по време на Османското владичество. След Освобождението през 1878 г. унищожението на горите е продължило, което довело и до невиджана ерозия.

Други фактори, които водят до загуба на местообитания са миннодобивната индустрия, урбанизацията и пренаселването, замърсяването на въздуха, водите и почвата и глобалните климатични промени. По-едрият по размер организми и тези, които живеят в горите или океаните, са най-чувствителни към изчезването на местообитания. Намалването на видовете в екосистемите води до разрушаване на трофичните мрежи, прави ги по-нестабилни, чувствителни към външни промени и често пъти доминирани от един вид. Това създава по-голяма възможност за поява на каламитети или сринове в популациите на оцелелите видове. Най-застрашените екосистеми в момента са сладководните.

В България влажните зони заемат сравнително малка част от територията на страната, приблизително 0.8%. Поради различни кампании през XX век са загубени над 50% от българските влажни зони. Влажните зони продължават да имат висока природозащитна стойност като представителни места за специфични типове екосистеми, редки за страната. Повечето влажни зони също така са местообитания на голям брой защитени растителни и животински видове (Василев и др. 2013). Пресушаването на блатата в България започва през 20^{-те} години на XX век. Унищожени са блатата с много богато биологично разнообразие, като Карабоаз, Стралджанското блато, Казиченското блато, Островското блато, Драгоманското блато. Това е довело до изчезването на много видове растения и животни, особено такива, които се срещали само в някои от тези блатата. До втората половина на XX век са останали едва 1/20 част от влажните зони в страната. През социализма пресушаването на блатата е продължило, а някои като Баташкото, Мандренското, Скаленското, Рабишкото, са били превърнати в язовири. След 1950 г. много от големите реки били изправени и коригирани, като крайречните низини били пресушени.

Самата р. Дунав също била силно негативно повлияна от човешката дейност. Освен замърсяването, пресушаването на блатата и изграждането на дигите, намалили драстично рибните запаси. Построяването на язовир и електроцентраля „Железни врата“ между Румъния и Сърбия през 1972 г. изменило естествената динамика на дунавските води. Между „Железни врата“ и Видин били основните места за размножаване на есетровите риби в Дунав. Риболовът и хидротехническото строителство довели до рязко намаляване и практическото изчезване на повечето от тези видове, както и някои безгръбначни животни от реката.

Предизвикани от човека промени в климата

Промените в климата са огромна заплаха за биоразнообразието поради многопосочното си действие. То води до пряка промяна на физическите параметри на средата на обитание на живите организми (Kannan & James, 2009). Промените в климата влияят и косвено като спомагат за преодоляването на екологични и географски бариери за различни организми, които са патогенни или инвазивни и разрушават екологичното равновесие в екосистемите, в които нахлуват.

Свърхексплоатация на естествени природни ресурси

В историята на човечеството има много примери, когато прекалената експлоатация на растителни и животински видове е довела до тяхното измиране, а впоследствие и до значими и негативни промени за бита на хората. Преексплоатацията на природните ресурси продължава и днес тя не засяга само сушата, но и океана. Около 25% от световния риболов свърхексплоатира рибните ресурси до невъзможност за възстановяване на популациите в размери, гарантиращи устойчивото им ползване (Цонев, 2020). За много морски видове пряката експлоатация е по-малко важна, отколкото непреките ефекти от комерсиалния риболов. Много морски гръбначни и безгръбначни животни се хващат случайно като *приулов* (или страничен улов) при риболовните дейности и се убиват или увреждат при преработката. Приблизително 25% от улова при риболовните операции се изхвърля обратно в морето (Примак и др., 2018). От друга страна, незаконната международна търговия с диви растения и животни за най-различни комерсиални цели е с огромни мащаби водеща до изчезването на подвидове и видове от дивата природа (Цонев, 2020).

Ловът винаги е бил силен фактор в България, за намаляване и изчезване на видове от Средновековието до наши дни. Особено активна става ловната преса след Освобождението и в началото на XX век. За някои видове, с нисък репродуктивен потенциал, промяната на местообитанията наред с активното ловуване особено в първата половина на XX век води до драстично намаляване на популациите им, от което те не могат да се възстановят и изчезват от фауната на България през втората половина на XX век. Заедно с мерките по увеличаване на дивечовите запаси, започва и войната с хищниците. Популацията на вълка (*Canis lupus*) е доведена до критичен минимум. В страната се срещат около 150 – 200 вълци. Чакалът (*Canis aureus*), който дотогава се среща само в Странджа и е обявен за защитен вид, поради липсата на неговия основен враг, започва експанзия и се разпространява не само в България, но и в цяла Югоизточна Европа и сега се налага контрол на популацията му. Най-пагубният аспект на войната срещу хищниците има започналата през 60-те години на XX век кампания по масово използване на отровни (стрихнинови) примамки за вълци и др. хищници. Това довежда до изтравяне на хищните и мършоядните видове птици. Особено силно пострадват популациите на лешоядите, като черния лешояд (*Aegypius monachus*), белоглавият лешояд (*Gyps fulvus*) и египетският лешояд (*Neophron percnopterus*). Символът на българската природозащита – брадатият лешояд (*Gypaetus barbatus*) напълно изчезва от фауната на България. Много от хищните птици, като гарвана (*Corvus corax*) и др., почти изчезват и им трябват десетилетия, за да възстановят поне частично популациите си.

Решенията за свърхулова на диви животни включват забрана за продажба и транспортиране на месо от диви животни, ограничаване на продажбата на огнестрелно оръжие и амуниции, засилване на правната защита за ключови застрашени видове, обявяване на защитени територии, където ловуването не е разрешено, и най-важното – осигуряване на алтернативен протеинов източник, за да се намали търсенето на дивечово месо (Примак и др., 2018).

Инвазивни видове

Съзнателното или несъзнателно въвеждане в природата на инвазивни чужди видове на места извън техните естествени ареали на разпространение е също сериозна заплаха за биоразнообразието.

Някои от най-опасните инвазивни видове са плъховете, зеленият краб (*Carcinus maenas*), мидата зебра (*Dreissena polymorpha*), червенобузата костенурка (*Trachemys scripta*) и др.

Еволюцията на таксоните на Земята се осъществява в области, затворени от големите природни бариери, като големи реки, морета и океани, планини и пустини. Така често пъти сходни екологични ниши се заемат от таксони с различен произход и еволюция. Така наречените инвазивни видове се появяват, когато човекът съзнателно или несъзнателно им помага да преодолеят тези естествени географски бариери и да заемат нови екологични ниши. Видовете естествено се разпространяват и разширяват ареалите си, но това става в дълги геоложки периоди от време, а

инвазивните видове го правят много бързо. Проблемът е, че в своите естествени местообитания те са получили място в екосистемите в хода на продължителна еволюция и са изградили стабилни взаимоотношения с другите организми. Попадали в нова среда, в която се чувстват добре, те се превръщат много често в проблем за останалите организми и за самите екосистеми, тъй като те нямат еволюционно необходимото им време, за да се адаптират към тях. Тези „чужди“ за дадена територия организми могат да бъдат хищници, паразити или могат просто да се конкурират успешно с местните видове за хранителни ресурси, места за размножаване и др. Появата дори само на един хищник или конкурент на местните видове може да им повлияе негативно, а понякога дори да унищожи напълно техните популации (Цонев, 2020).

Примери за опасни инвазивни видове има и в Европа, в нашата страна – внесеният като ценно медоносно растение американски храст аморфа (*Amorpha fruticosa*), който се е превърнал в истинска напасть по поречието на р. Дунав и на други места в страната, като променя структурата на крайречните гори. Някои интродуцирани от човека в нови райони видове са агресивни, а някои от тях са доказано инвазивни. Например мидата зебра (*Dreissena polymorpha*) е била разпространена случайно в България, като е попаднала във водоемите с баластната вода от трюмовете на корабите. Същото важи и за морският охлюв рапана (*Rapana venosa*), който е пренесен от Японско море у нас през 50-те години на миналия век. Поради отсъствието на естествени врагове (морски звезди) и при наличието на богата хранителна база в Черно море, този хищник започва системно да унищожава мидените полета и така намалява рязко филтрационния капацитет на придънната екосистема, което води до чувствително нарастване на фитопланктона и натрупването на мъртва органика със съответните промени в кислородния режим в крайбрежната зона. След като се разбра, че рапана може да се използва и като храна за хората, след 1990 г. рапана в Черно море става комерсиален вид и днес е постигнала един относително устойчив баланс с черната мида (*Mytilus galloprovincialis*) – главен филтратор в крайбрежните морски води. По-късно обаче други двама пришълци – ктенофората *Mnemiopsis leidyi* (от 1990 г.) и *Beroe ovata* (след 1997 г.) нанасят огромни щети на черноморския риболов, тъй като консумират зоопланктон, яйца и ларви на риби и така оказват негативно влияние върху попълването на рибните запаси. От 1997 г. в Черно море, с появата на *B. ovata*, количеството на *M. leidyi* започва да се понижава (Примаков и др., 2018).

Генетично замърсяване

Ендемичните видове могат да бъдат заплашени от изчезване заради т.нар. генетично замърсяване, т.е. неконтролирана хибридизация с близкородствени на тях и по-масови видове, интрогресия и генетично „замърсяване“. Това води до хомогенизиране или промяна на редките генотипове, особено на ендемични и малочислени видове, които имат широко разпространени или съзнателно размножавани и разселвани от хората близки родственици (Rhymer & Simberloff, 1996). В България такава тенденция е регистрирана при местния подвид на колхидския фазан (*Phasianus colchicus colchicus*), чийто генотип е практически претопен, след като в края на XIX в. започва целенасочено разселване на азиатски подвидове фазани в страната, главно пръстенчат фазан (*Phasianus colchicus torquatus*) (Боев & Герасимов 2007).

Във все по-сериозен проблем се превръщат генетично модифицираните организми (ГМО), които имат генетичен материал, променен чрез генно инженерство с използване на рекомбинантни ДНК технологии. ГМО културите са източник на генетично замърсяване и то не само на дивите форми, но и на културните сортове, получени по пътя на традиционната хибридизация (Zaid, 1999). Генетичното замърсяване може да доведе до унищожаване на уникални генотипове, с което се създава и потенциален риск за сигурността на хранителните ни ресурси. Ще изчезне уникален генетичен материал, което би се отразило на способността ни да продължим да кръстосваме културни сортове и породи с цел получаване на устойчиви на болести и паразити форми.

Замърсяване на околната среда и разпространение на болести и епидемии

Най-разпространената и повсеместна форма на деградация на околната среда е замърсяването, обикновено предизвикано от пестициди и торове от земеделските площи (Примаков и др., 2018). Така например прекомерното използване на изкуствени торове води до изкуствено насищане на почвата с различни биогени и промяна на видовата структура на почвената микрофлора (Цонев, 2020).

Нарастващото разпространение на болести в резултат от човешката дейност и взаимодействието между хората е главна заплаха за много застрашени видове и екосистеми. Причиняващите заболявания организми (бактерии, гъби и протисти) могат да оказват голямо негативно въздействие върху уязвими видове и дори върху структурата на цели екосистеми. Човешката дейност може да увеличи случаите на болестни преносители, каквито са например определени насекоми.

Фрагментацията на местообитанията също така поставя популациите на дивите животни съвсем близко до домашните животни. Болестите по домашните животни могат да се пренесат по-лесно към дивите животни, по които най-често нямат имунитет към тях. Съществува реален потенциал за разпространението на болести от дивите видове към домашните растения, домашните животни и дори към хората при нарастване на честотата на контактите. Във фрагментирания горски местообитания се срещат елени и характерните за тях кърлежи от род *Ixodes*, определяща и висока заразеност с Лаймска болест по животните, а също и потенциална опасност от Лаймската болест и по хората, живеещи в тези райони (Примак и др., 2018).

Законът за биологичното разнообразие определя как се уреждат взаимоотношенията между държавата, общините, юридическите и физическите лица при опазването и устойчивото използване на биологичното разнообразие в България.

Под „биологично разнообразие“ се разбира цялото многообразие на живите организми – от отделните видове и техните популации, до съобществата, местообитанията и екосистемите, както и процесите, които протичат в тях. Биологичното разнообразие се разглежда като неразделна част от националното богатство, а неговото съхранение е не само приоритет, но и задължение за всички държавни и общински органи, както и за гражданите.

Целта на Закона за биологичното разнообразие е да осигури опазването и устойчивото използване на природното богатство на страната чрез създаване на ясна система от правила и механизми. Законът обхваща няколко основни направления.

На първо място, той има за цел да защитава типичните за България и за Европа природни местообитания, както и местообитанията на застрашени, редки и ендемични видове растения, животни и гъби. Тези територии се включват в рамките на Националната екологична мрежа.

Второ, законът урежда опазването на защитените видове от флората, фауната и микотата на страната, включително и на онези, които се използват с икономическа цел или са обект на търговия.

Трето, предвидени са мерки за съхраняване на генетичните ресурси и за поддържане на разнообразието на растителните и животинските видове извън тяхната естествена среда.

Четвъртата цел е свързана с контрола върху въвеждането на неместни видове в природата и повторното въвеждане на местни видове, за да се избегнат негативни екологични последици.

Пето, законът регулира търговията с екземпляри от застрашени видове от дивата флора и фауна, като по този начин допринася за ограничаване на незаконния добив и търговия.

И накрая, той предвижда специална закрила на вековните и забележителните дървета като част от националното природно наследство.

I. Приложение 1: опазване на представителни за Република България и за Европа типове природни местообитания

В Приложение № 1 са посочени типовете природни местообитания, подлежащи на защита съгласно Директива 92/43/ЕИО на Съвета на Европейските общности, известна като Директива за местообитанията. Това приложение съдържа списък на представителните за България и Европа природни хабитати, чието съхранение е от значение за опазването на биологичното разнообразие в рамките на Европейския съюз.

Определението за местообитание, използвано в закона, съвпада по същество с понятието екосистема в екологията. То обхваща цялостни природни системи, включващи живите организми, техните съобщества, неживата среда и процесите, които протичат между тях. В този смисъл всяко местообитание представлява функционална екосистема с характерни биотични и абиотични компоненти.

Разделът на закона, свързан с местообитанията, е резултат от ратифицирането и прилагането на Директива 92/43/ЕИО, чиято основна цел е опазването на естествените хабитати и дивата флора и фауна в рамките на Европейския съюз. В съответствие с тази директива държавите-членки, включително България, са задължени да определят и обособяват специални зони за опазване, които заедно с тези по Директивата за птиците образуват мрежата НАТУРА 2000. В българския закон се предвижда, че защитените зони включват местообитания от Приложение № 1, а тези, които са особено редки или застрашени, се определят като приоритетни за опазване. За тях се изготвят специални мерки и режими на защита.

Освен това, законът урежда и реда за оценка на състоянието на местообитанията, включващи показатели като представителност, площ, степен на запазеност и възможности за възстановяване. Той също така определя изисквания за изготвяне на планове за управление, въвеждане на буферни зони, провеждане на мониторинг и докладване на резултатите, така че да се осигури дългосрочното опазване и устойчивото използване на природните ресурси.

Чрез този нормативен механизъм България прилага на практика общоевропейските стандарти за защита на природните местообитания и осигурява тяхното съхраняване като част от общата европейска екологична мрежа.

НАТУРА 2000 е общеевропейска екологична мрежа, създадена за опазване на най-ценните и застрашени природни местообитания и видове в рамките на Европейския съюз. Тя се изгражда на основата на две основни директиви – Директивата за местообитанията (92/43/ЕИО) и Директивата за птиците (2009/147/ЕО).

Мрежата обединява два вида защитени зони:

- Специални зони за опазване (СЗО) – съгласно Директивата за местообитанията, предназначени за защита на редки и застрашени видове растения, животни и техните местообитания;
- Зони за защита на птиците (ЗЗП) – съгласно Директивата за птиците, осигуряващи местообитания и условия за гнездене, миграция и хранене на дивите птици.

Зоните от мрежата НАТУРА 2000 са свързани помежду си чрез биокоридори – естествени или полуестествени ивици територии, които позволяват движението и обмена между популациите на видовете. Биокоридорите имат ключово значение за поддържането на генетичното разнообразие и устойчивостта на екосистемите.

В България мрежата НАТУРА 2000 включва над 340 защитени зони, които заемат около 34% от територията на страната – едно от най-високите покрития в Европа. Зоните обхващат разнообразни екосистеми – планински, горски, степни, влажни и крайбрежни местообитания, като Рила, Пирин, Родопите, Сакар, Стара планина, Странджа, Дунавската равнина и Черноморското крайбрежие.

НАТУРА 2000 се различава от защитените територии по смисъла на Закона за защитените територии, но и двете форми на опазване се допълват. Законът за защитените територии определя шест категории: резервати, национални паркове, природни паркове, поддържани резервати, защитени местности и природни забележителности. Тези територии са строго регламентирани и се управляват с цел запазване на природните процеси и обекти.

Докато защитените територии имат национален статут и конкретни режими на ползване, НАТУРА 2000 включва и частни земи и дейности, при които се допуска устойчиво използване на природните ресурси, стига то да не нарушава природното равновесие.

В своята цялост системата от защитени територии, зони по НАТУРА 2000 и биокоридори изгражда екологичната рамка на България и гарантира опазването на биологичното разнообразие в съответствие с европейските стандарти.

Някои важни и емблематични типове местообитания включени в Приложение 1 на закона са: естуари и устия на реки, крайбрежни лагуни, съобщества с кафяви, червени и зелени водорасли по скалисти морски дъна, различни типове пясъчни дюни с псамофитна растителност, храстови съобщества с клек *pinus tugo*, храсталаци с хвойна *juniperus* spp., степни тревни съобщества, необлагородени пещери, сенокосни ливади, блата и мочурища и други.

II. Приложение 2: опазване на местообитания на застрашени, редки и ендемични растителни, животински и гъбни видове

„Местообитание на вид“, по смисъла на закона е районът, определен от специфични абиотични и биотични фактори, в който този вид се намира постоянно или временно в някой от стадите на своя жизнен цикъл. Отчасти, това определение се препокрива с определението за екологична ниша в екологията. Приложение 2 на закона включва списък с видове, чиито местообитания са приоритетни за опазване, дори самите видове да не са строго защитени.

Опазването на местообитанията е ключов елемент от защитата на биологичното разнообразие, тъй като съхранява условията, необходими за оцеляването, размножаването и разпространението на видовете. Включването на конкретни местообитания в Приложение 2 осигурява правна рамка за тяхното ограничаване от разрушителни дейности, като строителство, интензивно земеделие, обезлесяване, замърсяване и браконьерство, дори самите видове в момента да не се срещат в тях.

Видовете, за които се прилага това приложение, включват:

1. Застрашени видове – видове, които са изложени на висок риск от изчезване в краткосрочен или средносрочен период.

2. Редки видове – видове с ограничено разпространение или малки популации, които са уязвими на локални заплахи.
3. Ендемични видове – видове, разпространени само в определен географски район или екосистема, чието оцеляване е тясно свързано с наличието на специфично местообитание.

Опазването на местообитанията обхваща различни типове екосистеми – гори, влажни зони, тревни и пасищни площи, скални и пещерни системи, реки и езера, както и морски и крайморски екосистеми. Всяко местообитание има специфични екологични характеристики и функции, които го правят незаменимо за живота на определените видове.

Отчасти, някои местообитания на видове от Приложение 2 могат да се препокриват с местообитания по смисъла на Приложение 1 от закона.

Повечето видове, включени в приложението са и строго защитени от закона, т.е. включени в Приложение 3. Някои, обаче, фигурират само тук и имат само местообитания приоритетни за опазване.

Приложение 2 на Закона за биологичното разнообразие включва застрашени, редки и ендемични животински видове, чиито местообитания подлежат на опазване. Сред тях са различни групи бозайници, като прилепи, земеровки, гризачи и хищници, които са уязвими заради намаляването на подходящите за тях местообитания. Включени са също земноводни и влечуги, като тритони, жаби и костенурки, които зависят от влажни зони, реки и горски местообитания. Част от видовете са риби, включително ендемични и застрашени видове в реките и водоемите на страната. Безгръбначните животни също са представени чрез редки и уязвими видове, като определени нощни пеперуди, пеперуди от родовете *Lycaena* и *Euphydryas*, както и сладководни раци от родовете *Astacus* и *Austropotamobius*, чието оцеляване е тясно свързано със запазването на специфични екосистеми. Приложение 2 включва и застрашени, редки и ендемични растителни видове, като различни орхидеи (*Orchis militaris*, *Dactylorhiza incarnata*), лечебни и ендемични треви и храсти, чието оцеляване зависи от опазването на техните местообитания. Гъбните видове са предимно редки и защитени видове, които се срещат в горски екосистеми и играят важна роля за поддържането на биологичното разнообразие.

III. Приложение 3: строго защитени видове

Приложение 3 на Закона за биологичното разнообразие съдържа списък на строго защитени растителни, животински и гъбни видове. Тези видове са под най-висока степен на правна защита в България, като целта е тяхното оцеляване, възстановяване на популациите и опазване на естествените им местообитания.

За строго защитените видове е забранено умишлено улавяне, убиване или повреждане на индивиди, събиране, притежание, транспорт или търговия с тях, разрушаване или увреждане на местата им за размножаване и отглеждане на малките, както и нарушаване на естествените им местообитания чрез строителство, изсичане на гори, промяна на хидрологичния режим или замърсяване. Нарушаването на тези забрани води до административни наказания и глоби за физически и юридически лица, задължение за възстановяване на щетите върху вида.

Строго защитени хищници са кафявата мечка (*Ursus arctos*), рисът (*Lynx lynx*), видрата (*Lutra lutra*), както и тюлен монах (*Monachus monachus*). Те обитават планински, горски и водни екосистеми и са индикатори за добро екологично състояние на средата. Основни проблеми са незаконен лов, загуба на хабитат и замърсяване на водите. В черноморските крайбрежни райони строго защитени са делфините, като афала (*Tursiops truncatus*) и обикновен делфин (*Delphinus delphis*), както и различни видове морски птици, включително кърмоглав пеликан (*Pelecanus crispus*) и малък корморан (*Phalacrocorax pygmeus*). Главни заплахи са замърсяване, риболовни мрежи и браконьерски дейности. Строго защитени са черен щъркел (*Ciconia nigra*), орел змияр (*Circaetus gallicus*), черен лешояд (*Aegypius monachus*), както и различни видове соколи и сови, които се срещат в горите, влажните зони и откритите терени. Основни проблеми за тях са обезлесяване, смущения по време на размножаване и отровни примамки.

Сред влечугите и земноводните, защитени са шипоопашата костенурка (*Testudo hermanni*), зелена морска костенурка (*Chelonia mydas*), дъждовник (*Salamandra salamandra*), както и редица тритони и жаби, които обитават влажни гори, реки и блата. Тези видове са чувствителни към промени в хидрологията, замърсяване и разрушаване на влажните местообитания.

От безгръбначните някои защитени видове са бръмбари като еленов рогащ (*Lucanus cervus*) и сечкото алпийска розалия (*Rosalia alpina*), както и пеперуди като черен аполон (*Parnassius mnemosyne*) и *Zerynthia polyxena*.

Строго защитени видове, характерни за високопланинските екосистеми, са еделвайсът (*Leontopodium alpinum*), рилската иглика (*Primula deorum*) – български ендемит, както и пиринският чай (*Sideritis scardica*). Те обитават скалисти терени, високопланински ливади и сипеи и са индикатори за съхранени алпийски местообитания. Основни проблеми са незаконното бране, туризмът извън маркираните пътеки и климатичните промени.

В горските и храстови екосистеми строго защитени са видове като странджанската зеленика (*Rhododendron ponticum* ssp. *ponticum*) – терциерен реликт, кримският чай (*Sideritis taurica*), както и редица видове божури (*Paonia*). Главни заплахи са обезлесяването, фрагментирането на хабитата и незаконното събиране за декоративни и лечебни цели.

В черноморските крайбрежни и низинни райони строго защитени са пясъчната лилия (*Pancratium maritimum*), обикновената венерина пантофка (*Cypripedium calceolus*) и много орхидеи от родовете *Orchis*, *Ophrys* и *Epipactis*. Главни заплахи са застрояването на дюните и крайбрежието, унищожаването на влажните зони и интензивното земеделие.

Сред растенията, които обитават влажни зони, реки и блата, защитени са водната лилия (*Nymphaea alba*), блатното кокиче (*Leucojum aestivum*). Тези видове са чувствителни към промени в хидрологията, пресушаване и замърсяване на водите. От групите на папратите и лишеите някои защитени видове са марсиля (*Marsilea quadrifolia*) и определени плауни (*Lycopodium*), които са редки и изискват специфични, ненарушени условия на средата.

IV. Приложение 4: видове с регулирано ползване

Приложение № 4 към ЗБР обхваща т.нар. ресурсни видове – тези представители на дивата флора и фауна, чието ползване (събиране, добив, лов, риболов) по принцип е разрешено, но подлежи на специални регулации, правила и ограничения. Тези мерки са въведени с цел да се гарантира устойчивото ползване на биологичните ресурси, предотвратяването на тяхното изчерпване и запазването на популациите в добро състояние.

Регулирането на ползването се осъществява чрез различни механизми, като:

1. Квоти (допустими количества): Определяне на максимален брой екземпляри или общо тегло (напр. в килограми) за събиране или добив за определен период (сезон/година). Това е особено приложимо за билки, гъби и някои безгръбначни.
2. Сезонност: Дефиниране на конкретен период (сезон) от годината, в който добивът е разрешен. Този период обикновено е извън критични фази от жизнения цикъл на вида, като размножаване, миграция или активно вегетиране.
3. Размерни ограничения: Въвеждане на минимален разрешен размер (дължина, диаметър), под който екземплярите не могат да бъдат добивани (типично за риби, мекотели).
4. Специални режими и разрешителни: Необходими са издадени позволителни от съответните държавни органи (напр. за промишлен добив на билки).

В Приложение № 4 са включени разнообразни групи организми, които имат стопанско, хранително или лечебно значение. Това са преди всичко лечебни растения (билки), сред които попадат мента (*Mentha piperita*), мащерка (*Thymus* spp.), видове липа (*Tilia* spp.) и жълт кантарион (*Hypericum perforatum*). Следващата голяма група са гъбите, като най-често регулирани са манатарката (*Boletus edulis*), пачият крак (*Cantharellus cibarius*) и различни видове трюфели (*Tuber* spp.). Включени са и някои безгръбначни, по-конкретно хранителни мекотели, като градински охлюв (*Helix lucorum*) и черната мида (*Mytilus galloprovincialis*). Сред гръбначните са множество риби, например речен кефал (*Leuciscus cephalus*), шаран (*Cyprinus carpio*) и сом (*Silurus glanis*). От земноводните в Приложението е включена голяма водна жаба (*Pelophylax ridibundus*). Приложение №4 обхваща всички видове, които попадат в категорията ловни птици – като например гривяк (*Columba palumbus*) и зеленоглава патица (*Anas platyrhynchos*), както и ловни бозайници, като сърна (*Capreolus capreolus*), благороден елен (*Cervus elaphus*) и дива свиня (*Sus scrofa*). Всички тези ресурсни видове подлежат на строго регулиране на ползването чрез квоти, сезонност и други ограничения.

V. Приложение 5: Забранени уреди, методи и средства, включително моторни превозни средства, за улавяне и убиване на животни

Приложение № 5 определя стриктен списък с методи и средства, които са абсолютно забранени при улавяне или убиване на диви животни. Тези забрани са въведени, за да гарантират хуманното отношение, избирателността на лова/улова и да предотвратят масовото и неизбирателно унищожаване на популациите.

Забрани, отнасящи се за Бозайници. За улавяне и убиване на бозайници е забранено използването на живи животни (включително слепи или осакатени) като примамки. Забранено е прилагането на звукозаписи, както и на всякакви електрически и електронни уреди, способни да убиват или зашеметяват. Забраните включват също всички средства, свързани със светлина и заслепяване – изкуствени източници на светлина, огледала и други заслепяващи предмети, приспособления за осветяване на целите, както и приспособления за прицел за нощна стрелба, съдържащи електронен преобразувател или увеличител на образа. Като методи са забранени използването на експлозиви, мрежи и капани, които според принципа или условията на тяхното използване са неизбирателни. Не се допуска употребата на арбалети, както и на отрови и примамки с отрова или упойващи средства, или обгазяване и опушване. По отношение на оръжията, забраната важи за полуавтоматични или автоматични оръжия, чийто магазин може да побере повече от два патрона. Има специфични забрани като използването на умрели животни или части от тях за стръв в местообитания на мечки, лов с хищни птици, както и използването на оловни сачми при лов във влажните зони.

Забрани, отнасящи се за Птици. За птиците списъкът е сходен, но включва и допълнителни специфични средства. Забранени са примки, примки с лепило (птичи клей), куки, както и използването на живи птици (включително слепи или осакатени) като примамки. Забранени са звукозаписи и електрически/електронни уреди за убиване или зашеметяване. Средствата, свързани с нощен лов, като изкуствени източници на светлина, огледала, приспособления за осветяване на целите и приспособления за прицел за нощна стрелба с електронен преобразувател, също са забранени. Като методи са изрично забранени експлозиви, мрежи, капани, примамки с отрова или упойващи средства. Отново важи ограничението за полуавтоматични или автоматични оръжия, чийто магазин побира повече от два патрона. Специфични забрани за птиците включват използването на трайни съоръжения (гюмета) за лов на водолюбивы птици и лов с хищни птици. Има ограничения и за използването на моторни лодки с висока скорост (над 5 км/ч, а в Черно море – над 18 км/ч). Изрична забрана е въведена за използването на оловни сачми при лов във влажните зони и на разстояние до 200 м около тях.

Забрани, отнасящи се за Риби. За рибите забраните са концентрирани върху масовия и не-селективен добив: забраняват се употребата на отрова, експлозиви и електрически ток или други зашеметяващи рибата уреди и средства. Като методи за улов са забранени уловът с кърмаци и употребата на тралиращи и драгиращи средства.

Забрани за Транспортни Средства. Забраната обхваща и използването на транспортни средства за преследване и улавяне на животни. Изрично са забранени самолети и движещи се наземни моторни превозни средства.

Защитените природни територии имат особено важно значение за защитата на природата, опазване на биологичното разнообразие и за развитието на науката и културата в обществото. По същество основната цел на обособяването им се свежда до ограничаването на отрицателното антропогенно въздействие в тях, за да се съхрани в по-голяма степен природата (Цонев, 2020). Основният юридически инструмент, чрез който се обявяват, регламентират и управляват защитените територии в страната е Закона за защитените територии (ЗЗТ) от 1998 г. В закона е написано, че предназначението на защитените територии е „опазване на биологичното разнообразие в екосистемите и на естествените процеси, протичащи в тях, както и на характерни или забележителни обекти на неживата природа и пейзажи“ (Пенчев, 2019).

Категоризация на защитените природни територии. Те биват шест категории:

- (1) национални паркове
- (2) природни паркове
- (3) резервати
- (4) поддържани резервати
- (5) защитени местности
- (6) природни забележителности

Тази категоризация се извършва от Министерство на околната среда и водите (МОСВ). Установява се специфична административна процедура по обявяване на защитените природни територии. Те се обявяват със заповед на министъра на околната среда и водите, която се публикува в Държавен вестник. Следващата стъпка е разработване и утвърждаване на планове за управление на защитени природни територии. За национални и природни паркове планове за управление се утвърждават от Министерски съвет, а за всички останали видове защитени територии от Министерство на околната среда и водите (Пенчев, 2019).

Предназначението и режима на опазване и ползване на категориите защитени природни територии са определени както следва:

Национални паркове

За национални паркове се обявяват територии, в чийто граници не попадат населени места и селищни образувания и които включват естествени екосистеми с голямо разнообразие на растителни и животински видове и местообитания, с характерни и забележителни ландшафти и обекти на неживата природа (Георгиев, 2004; 2010; Цонев, 2020).

Националните паркове се управляват с цел:

- а) поддържане на разнообразието на екосистемите и защита на дивата природа;
- б) опазване и поддържане на биологичното разнообразие в екосистемите;
- в) предоставяне на възможности за развитие на научни, образователни и рекреационни дейности;
- г) създаването на предпоставки за развитието на туризъм, екологосъобразен поминък на населението и други дейности, съобразени със статута.

В националните паркове се обособяват няколко зони – *зона със строг режим* (включва резерватите и поддържаните резервати, които запазват статута си), *туристическа зона*, *зона на хижите*, *административните центрове* за управление и спортните съоръжения и *други зони* съобразно конкретните условия.

В тази категория защитени природни територии се забраняват:

- а) строителство, освен на туристически заслони и хижи, водохващания за питейни нужди, пречиствателни съоръжения, сгради и съоръжения за нуждите на управлението на парка и обслужването на посетителите, подземни комуникации, ремонт на съществуващите сгради, пътища, спортни и други съоръжения;
- б) производствени дейности, с изключение на поддържащите и възстановителните мероприятия в горите, земите и водните площи;
- в) извеждане на голи сечи и внасяне на неприсъщи за района видове;
- г) използване на изкуствени торове и на други химични средства;

- д) паша на кози, както и изобщо пашата извън ливадите и пасищата;
- е) събиране на билки, диворастващи плодове и на други растения и животни на определени места;
- ж) събиране на вкаменелости и минерали, увреждане на скалните образувания;
- з) нарушаване на естественото състояние на водни площи, водни течения, техните брегове и прилежащи територии;
- и) дивечовъдна дейност и ловуването, освен при регулиране на числеността на животинските видове; спортен риболов и риборазвъждане на определени места;
- к) замърсяване на водите и терените с битови и промишлени отпадъци;
- л) бивакуване и палене на огън извън определените места;
- м) намеса в биологичното разнообразие и събиране на редки, ендемични, реликтни и защитени видове;
- н) други дейности, определени със заповедта за обявяване и плана за управление.

Природни паркове

За природни паркове се обявяват територии, включващи разнообразни екосистеми с многообразие на растителни и животински видове и на техните местообитания, с характерни и забележителни ландшафти и обекти на неживата природа (Георгиев, 2004; 2010; Цонев, 2020).

Природните паркове се управляват с цел поддържане на разнообразието от екосистеми и опазване на биологичното разнообразие в тях; предоставяне на възможности за научни, образователни и рекреационни дейности и устойчиво ползване на възстановимите природни ресурси при запазване на традиционните форми на поминък, както и осигуряване на условия за туризъм и отдих.

В природните паркове се допуска наличие на селища и курорти, както и дейности, които не замърсяват околната среда. Защитени територии от други категории, попадащи в границите им, запазват статута си.

В природните паркове се забраняват:

- а) извеждане на голи сечи във високостъблените гори, с изключение на тополовите, а в издънковите гори – с площ над 3 ha;
- б) внасяне на неприсъщи за района растителни и животински видове;
- в) паша на кози, както и изобщо паша извън ливадите и пасищата;
- г) събиране на редки, ендемични, реликтни и защитени видове;
- д) събиране на вкаменелости и минерали, увреждане на скалните образувания;
- е) замърсяване на водите и терените с битови и промишлени отпадъци;
- ж) бивакуване и палене на огън извън определените места;
- з) добив на полезни изкопаеми по открит начин;
- и) добив и първична преработка (обогатяване) на метални полезни изкопаеми чрез прилагане на химически и химико-бактериологични методи и цианиди;
- к) дейности и строителство, които не са разрешени със заповедта за обявяване на парка, плана за управление и устройствените и технически планове и проекти;
- л) дейности и строителство, които не са разрешени със заповедта за обявяване на парка, плана за управление на парка и устройствените и технически планове и проекти;
- м) събиране на редки, ендемитни, реликтни и защитени видове, освен за научни цели;
- н) добив на ресурси от морето чрез драгиране и тралиране;
- о) други дейности, определени със заповедта за обявяване и плана за управление.

В природните паркове се обособяват същите зони както и в националните.

Резервати (строги)

За резервати се обявяват образци от естествени екосистеми, включващи характерни и/или забележителни диви растителни и животински видове и местообитанията им (Цонев, 2020).

Резерватите се управляват с цел:

- а) запазване на естественият им характер;
- б) научна и образователна дейност и/или екологичен мониторинг;
- в) опазване на генетични ресурси;
- г) запазване на естествени местообитания и на популациите на защитени редки, ендемични и реликтни видове;

д) развитие на мрежата от представителни за страната ни и Европа екосистеми и застрашени местообитания.

В строгите резервати се забраняват всякакви дейности с изключение на охраната им, посещенията с научна цел, преминаването на хора по маркирани пътеки, включително с образователна цел и събирането на семенен материал, диви растения и животни с научна цел или за възстановяването им на други места в количества, начини и време, изключващи нарушения в екосистемите, потушаване на пожари и санитарни мероприятия в горите, увредени вследствие на природни бедствия и каламитети.

Посещенията се осъществяват с разрешение на МОСВ. Санитарните мероприятия се извършват с разрешение от Министерството на околната среда и водите, издадено след положително научно становище от Българската академия на науките и положително решение на Националния съвет по биологичното разнообразие.

Поддържани резервати

За такива се обявяват екосистеми, които включват редки и/или застрашени диви растителни и животински видове и местообитанията им (Цонев, 2020).

Поддържаните резервати се управляват с цел:

- а) поддържане на природния им характер;
- б) научни и образователни цели и екологичен мониторинг;
- в) възстановяване на популации на растителни и животински видове и местообитанията им;
- г) опазване на генетичните ресурси.

В поддържаните резервати се забраняват всякакви дейности с изключение на тяхната охрана; посещения с научна цел; преминаване на хора по маркирани пътеки; събиране на семенен материал, на диви растения и животни с научна цел или за възстановяване на други места и провеждането на поддържащи, направляващи, регулиращи или възстановителни мерки, потушаване на пожари и санитарни мероприятия в горите, увредени вследствие на природни бедствия и каламитети.

Защитени местности

За защитени местности се обявяват територии с характерни или забележителни ландшафти, включително такива, които са резултат от хармонично съжителство на човека и природата, а също така и местообитания на застрашени, редки или уязвими растителни и животински видове и местообитания (Цонев, 2020).

Управляват се с цел:

- а) запазване на компонентите на ландшафта;
- б) опазване, поддържане или възстановяване на условия в местообитанията, отговарящи на изискванията на видовете и съобществата, обект на защита;
- в) предоставяне на възможности за научни изследвания, образователна дейност и екологичен мониторинг;
- г) предоставяне на възможности за туризъм и за духовно обогатяване.

В защитените местности се забраняват всички дейности, които противоречат на изискванията за опазване на конкретните обекти, предмет на защита.

Природни забележителности

За такива се обявяват характерни или забележителни обекти на неживата природа, като скални форми, скални разкрития с научна стойност, земни пирамиди, пещери, понори, водопади, находища на вкаменелости и минерали, пясъчни дюни и други, които са с изключителна стойност, поради присъщата им рядкост, представителност, естетичност или които имат значение за науката и културата (Цонев, 2020).

Управляват се с цел запазване на техните естествени особености и се обявяват с прилежащата им територия, необходима за опазването им.

В природните забележителности се забраняват всички дейности, които могат да нарушат тяхното естествено състояние или да намалят естетичната им стойност, като възникнали промени се допускат мерки с разрешение на МОСВ и съгласието на собствениците им.

Определените със закона 6 категории защитени природни територии са съобразени както с категориите на IUCN, така и с традициите и особеностите на природозащитното дело в стра-

ната. Към момента в България има 3 национални и 11 природни парка, 90 резервата 55, от които са строги и 35 са поддържани. Броят на защитените местности и природните забележителности се променя значително по-често.

Обявяване, промени и управление на защитените територии

Обявяването и промените в защитените природни територии в България се извършва от министъра на околната среда и водите. Предложения за на национални и природни паркове се дават от министерства и ведомства, областни управители, общини и научни институти, а за всички други категории – от заинтересовани физически и юридически лица. Предложенията се комплектуват с обосновка, площно разпределение на горите, земите и водните площи в предложената територия и проект за заповед за обявяване. Организира се обществено обсъждане на предложенията (Пенчев, 2019).

В срок до една година от представяне на предложенията за паркове и до шест месеца за останалите категории, министърът на околната среда и водите или упълномощено от него лице назначава комисия, включваща представители на МОСВ, Министерството на земеделието и продоволствията, Министерството на регионалното развитие и благоустройството, Държавната агенция по горите, на общините, на собствениците на гори, земи и водни площи и съответните областни управители. Комисията взема решение за приемане или неприемане на предложението, за което съставя протокол. Министърът на околната среда и водите издава заповед съгласно предложението на комисията, в която се включват основаниято, основните цели, категорията, наименованието, площното разпределение на горите, земите и водните площи и режимът на основните дейности в защитената територия. Заповедта се обнародва в Държавен вестник и е необходимо да се внесе от Министерски съвет предложение в Народното събрание за изменение и допълнение на Закона за защитените територии (Пенчев, 2019).

Промените в защитените територии са заличаване, увеличаване или намаляване на площта, прекатегоризиране и промени в режима на дейност.

Обявените защитени природни територии се записват в Държавния регистър на МОСВ, като министерството и неговите регионални органи провеждат и осъществяват управлението и контрола в защитените територии, а също така прякото управление, охраната и възлагането на дейности в тези, които са изключително държавна собственост. Останалите защитени територии се охраняват и стопанисват от съответните собственици и фондодържатели – Министерство на земеделието и продоволствията, Държавната агенция по горите, областни управи, общини, физически и юридически лица, съгласно разпоредбите на ЗЗТ. Поддържащи, направляващи, регулиращи и възстановителни дейности може да се възлагат и на неправителствени организации (Пенчев, 2019; Цонев, 2020).

За всички защитени територии се изготвят планове за управление, съобразени с изискванията на категорията и режима, установен със заповедта за обявяване. Плановете за управление на националните и природни паркове се приемат от Министерския съвет, а за всички останали – от министъра на околната среда и водите след съгласуване с Министерството на земеделието и продоволствията, Министерството на регионалното развитие, Държавната агенция по горите и благоустройството и съответните общини. За определяне на вида и обема на дейностите по ползване на природните ресурси, устройството и строителството, се разработват устройствени и технически планове (Примак и др., 2018; Цонев, 2020).

Промени в плановете се допускат единствено в случаи на природни бедствия като пожари, наводнения, каламитети и др., както и при изменение на обективните обстоятелства, съществували при утвърждаването им.

Охраната на защитените територии, които са изключително държавна собственост и на обектите по Рамсарската конвенция и другите международни договори, се организира от МОСВ. Горите и земите в останалите категории се охраняват съгласно Закона за горите (Пенчев, 2019; Цонев, 2020).

Състоянието на биосферата се изменя под въздействието, както на естествени фактори, така и на антропогенната дейност. Антропогенното въздействие върху околната среда в съвременния свят има глобален характер и представлява основен екологичен проблем. В тази връзка през последните десетилетия все по-широко приложение намира биоиндикацията на нивото на замърсяване, т.е. използване на живи организми и биологични системи вместо или в допълнение към директното многократно измерване на замърсяващи вещества в атмосферата, хидросферата и литосферата.

Понятието мониторинг се налага в международната практика след Конференцията на ООН на тема „Човешката околна среда“, проведена в Стокхолм, 1972 г. (известна още като Стокхолмска Конференция). В резултат на взетите решения редица държави създават специализирани министерства на околната среда и национални системи за екологичен мониторинг.

Един от основните принципи на мониторинга е комплексността, която предполага едновременно наблюдение на състоянието и замърсяването на въздуха, почвата и водите, съчетано със съпътстващи метеорологични, хидрологични и биологични наблюдения. Успоредно с това се отчитат и цикличните изменения на природната среда (например годишните цикли, свързаните със смяната на сезоните). Тези цикли могат да имат, както естествен, така и антропогенен характер (напр. ефекта на отоплителния сезон). Към основните принципи на мониторинга се отнасят още системност, непрекъснатост, дългосрочност, стандартизация на методите, съпоставимост на данните и представителност на наблюденията.

Класификацията на видовете мониторинг може да се направи по различни показатели. Някои от широко приетите са представени по-долу.

1. По териториален обхват

В зависимост от пространственото разпределение могат да се разграничат глобален, национален и регионален мониторинг. В практическо отношение най-сложно се оказва изследването и определянето на регионалното състояние, както и размера на региона, определен по един или друг признак (например Централна Европа, Северна България и т.н.).

(а) глобален мониторинг

Проследява мащабни природни процеси и явления, вкл. глобалното антропогенно въздействие върху биосферата. Използва мрежа от контролно наблюдателни пунктове, разположени в характерни сухоземни и водни местообитания. За целите на сравнителния анализ често се използват територии с различна интензивност на антропогенно въздействие, включително защитени територии, буферни и интензивно повлияни зони.

(б) национален мониторинг

Националният мониторинг се осъществява на територията на отделна държава. В България той се реализира от Изпълнителната Агенция по Околна Среда (ИАОС) чрез Националната система за мониторинг на околната среда (НСМОС). В рамките на тази система ежегодно се публикува Национален доклад за състоянието и опазването на околната среда в Република България, съдържащ отчет по основните компоненти (атмосферен въздух, водни ресурси, земеползване и състояние на почвите, отпадъци и др.). Оценката се извършва на основата на DPSIR модела (Driving forces – Pressure – State – Impact – Response), който позволява проследяване на връзките между източниците на въздействие, натиска върху околната среда, състоянието на нейните компоненти, въздействието върху човека и екосистемите и предприетите управленски мерки. Този подход дава възможност за оценка на ефективността на политиките по опазване на околната среда и за съпоставимост на данните на национално и европейско равнище. В разделите е използвана и възприетата в публикациите на Европейската Агенция по околна среда символика, отразяваща тенденциите в екологичните процеси: положителни; отрицателни и без промяна.

(в) регионален мониторинг

Регионалният мониторинг обхваща определен географски район и в зависимост от степента на антропогенно въздействие включва фонов мониторинг (в относително неповлияни от човешката дейност територии при референтни условия) и импактен мониторинг (в райони с

пряко антропогенно въздействие: промишлени, урбанизирани и транспортни зони). Фоновият мониторинг осигурява данни за изходното състояние на природната среда и служи като база за оценка на измененията и за разработване на стратегии за опазване. Количеството и местоположението на регионалните станции, а също и програмата за наблюдение следва да се установят по такъв начин, че да отчитат своевременно неблагоприятни тенденции на изменения за кратки периоди.

2. По среда на изследване

(а) абиотичен (геофизичен) мониторинг

Включва изследвания на абиотичните компоненти на околната среда (атмосфера, хидросфера, литосфера). Основната трудност във фонове условия е свързана с ниското съдържание на замърсяващи вещества в анализираните обекти. Във връзка с това е необходимо да се използват високочувствителни физико-химични и аналитични методи за анализ, а също така прилагане на техники за обогатяване (концентриране) на взетите проби.

(б) биотичен (биологичен) мониторинг

Биомониторингът е система за наблюдение, оценка на състоянието и прогноза за възможните изменения в компонентите на околната среда чрез използването на биологични обекти. Понятието биоиндикация навлиза в научната литература в края на 60-те години на миналия век. Някои автори разглеждат биоиндикацията като чувствителен отговор във времето на измерими параметри на биологични обекти и системи спрямо антропогенното влияние. Следователно биоиндикатори са организми, части от тях и/или група организми, които осъществяват биоиндикация. Могат да бъдат разделени на биоиндикатори с оптична, химична или физико-биохимична природа. При първите се наблюдават видими промени като забавяне на растежа на растителни видове, обезцветяване на листата или промени в популацията и поведението на което и да е живо същество. За разлика от тях, химичните/акумулативните индикатори се характеризират с акумулация на субстанции, а физико-биохимичните показват например намалена ензимна активност или нарушения на физиологичните функции.

Счита се, че биоиндикаторите са подходящи за дългосрочни наблюдения на околната среда, както и за планиране и контролиране на ефектите от човешките дейности. Според някои автори разликата между биоиндикацията и биомониторинга се състои в това, че биоиндикацията дава качествена оценка на замърсяването, докато биомониторинга е количествен метод за определяне на качествените промени в средата. В края на миналия век се предлага биомониторите да се разделят на чувствителни и акумулативни. Чувствителните биомонитори се използват например във водни екосистеми като показател за стрес с цел да се осигури бързо реагираща предупредителна система. Самите биомониторингови системи за наблюдение могат да се подразделят на екологични изследвания и токсикологично тестиране. Акумулативните биомонитори се разделят за удобство на такива, използвани в сухоземни и във водни екосистеми. И в двата случая биоаккумуляцията на тежки метали е най-пълно изучавана и то по отношение на различни съставни части на екосистемите. Установено е, че мъртвата органична материя и някои групи организми, особено лихенизирани гъби (лишеи) и мъхове, акумулират голямо количество тежки метали. Основната причина за това е високата стабилност на химичните комплекси, формиращи се между йоните на тежките метали и отрицателно заредените органични групи. Още повече, че зарядите на незащитените повърхности осигуряват йонообменни способности, които позволяват последвалата ефективна адсорбция на металните йони. Като най-чувствителни биомонитори в сухоземните екосистеми се определят мъховете. Първоначално те са използвани като монитори на атмосферно замърсяване. Молпските и водораслите са най-използваните биомонитори в морска среда.

Пасивен и активен биомониторинг са двете подразделения на този метод. Първият обхваща наблюдения и химични анализи на биологични обекти в техните естествени местообитания, докато активният е свързан с преноса им в изследвана среда. При активния биомониторинг се разграничават методите трансплантация, тест растения и тест стая. При използването на транспланти, подходящи организми (основно мъхове и лишеи) се пренасят от незамърсен контролен район в замърсен.

Екологичният мониторинг включва наблюдение, оценка и прогноза на антропогенните изменения на абиотичната съставка, както и съответната реакция на екосистемите на тези въздействия. За оценка екологичният мониторинг използва еталонни природни екосистеми (напр. биосферни резервати). Във връзка с това, че антропогенният ефект на фонове равнище често трудно се различава, особено в началния стадий, когато вземането на необходими мерки е най-ефективно, в

системата на мониторинга е необходима детайлна информация за естествените колебания и изменения на природната среда, на фона на които се развиват антропогенните последици. Получените данни се съпоставят с данни за състоянието на околната среда в повлиян район. При подбора на показатели се използват биологични елементи, индикативни за степента на антропогенно въздействие върху околната среда в съчетание с други индикативни физикохимични показатели.

Благодарение на това, че наблюденията обхващат атмосферния въздух, водите, дънните отлагания, почвите и растителността се явява възможност да се получават системни данни за баланса и кръговрата на замърсяващите вещества, техния преход от една среда в друга, натрупване в различни обекти. Важна и неразделна част от екологичния мониторинг се явяват наблюденията на биологичните отзвучи и последици от замърсяването на околната среда. Сами по себе си данните за равнището на замърсяванията на една или друга геофизична среда и даже биоти са недостатъчни, за да се съди за състоянието на биосферата, отделните екосистеми или видове. Само мониторинга на биологическия ефект в съчетание с мониторинга на замърсяването дава основа за оценка състоянието на екосистемите, за техните изменения и за прогнозни оценки на биосферното състояние.

Национална система за мониторинг на биологичното разнообразие

България се характеризира с изключително богата флора и фауна, обусловено от географското ѝ положение и разнообразието на климатични и екологични условия. По обобщени данни страната приютава приблизително 3600 вида висши растения, над 3660 нисши растения, гъби – 3500, лишай – 709, около 27 000 вида безгръбначни животни, 700 вида гръбначни животни, птици над 400 вида, бозайници – 94.

Ендемичните растителни видове в България съставляват около 5% от цялата флора, сравнително висок процент за Европа. Наличната информация за безгръбначните показва, че 8,8% от всички видове, които не са насекоми и 4,3% от видовете насекоми са ендемични. Познати ендемични гръбначни включват 12 вида сладководни риби, 1 подвид земноводни, 4 подвида влечуги, и най-малко 4 подвида бозайници.

В първото издание на Червената книга на България (1984) 158 вида висши растения са определени като застрашени, а 574 вида – като редки. Във второто издание на Червената книга на България (2011–2015), публикувано в три тома („Растения и гъби“, „Безгръбначни животни“ и „Гръбначни животни“), оценката на състоянието на таксоните е актуализирана и хармонизирана с категориите и критериите на Международния съюз за защита на природата (IUCN), като броят и съставът на застрашените видове са променени в резултат на нови научни данни и оценки.

Съгласно Закона за биологичното разнообразие защитените видове се определят в приложенията към закона, които подлежат на периодични изменения и допълнения. В първоначалната редакция на Приложение № 3 към ЗБР (2002) като защитени са включени 90 вида животни (без птици), 331 вида птици и 594 вида растения. Впоследствие списъците на защитените видове са актуализирани с оглед изпълнението на националните и европейските ангажменти на България, включително тези по Директивите на ЕС и Конвенцията за биологичното разнообразие.

На територията на България са представени почти всички основни типове природни местообитания, срещани се в Европа, което се дължи на разнообразието от климатични, географски и орографски условия. Страната притежава множество уникални и представителни съобщества и екосистеми с висока природозащитна стойност и значим принос за европейското биологично разнообразие. В приложенията към Закона за биологичното разнообразие, в съответствие с Директива 92/43/ЕИО за местообитанията, са включени типове природни местообитания от европейско значение, предмет на опазване в рамките на екологичната мрежа Натура 2000. Броят и списъкът на тези местообитания са предмет на актуализация в резултат на хармонизацията с европейските класификации и изисквания. За опазване на местообитанията и видовете законодателството в областта на биологичното разнообразие регламентира защитата на определени групи растения, животни и птици, като списъците на видовете в приложенията към Закона за биологичното разнообразие се актуализират периодично в съответствие с научните оценки и ангажиментите на България към Европейския съюз и международните конвенции. Развитието на националната екологична мрежа (НЕМ), включително мрежата Натура 2000 и защитените територии, е съобразено с националните природни условия и цели за опазване на биологичното разнообразие, като делът на териториите с природозащитен статут се увеличава поетапно. България участва активно в международните природозащитни инициативи, като на нейна територия са опре-

делени Рамсарски места по Конвенцията за влажните зони и обекти на Световното природно наследство на ЮНЕСКО. Страната е включена и в Програмата „Човек и биосфера“ на ЮНЕСКО, като в последните години се провеждат процеси на адаптиране и реструктуриране на биосферните резервати в съответствие със съвременната концепция на програмата.

Независимо от развитието на системата от защитени територии, нейната пространствена структура не е напълно представителна за всички основни типове местообитания в страната. Значителна част от защитените територии са разположени във високопланинските райони, докато някои местообитания – по-специално горските местообитания в равнинните и нископланинските части, речните екосистеми и морската акватория на Черно море – са относително по-слабо представени в мрежата от строго защитени обекти. Териториите, които са напълно или в значителна степен изключени от стопанска дейност, заемат сравнително ограничен дял от територията на страната. Строго защитените територии, включващи резервати и поддържани резервати по смисъла на Закона за защитените територии, заемат малък процент от националната територия, като националните паркове съчетават защитни и регламентирани форми на ползване. Ефективното управление на защитените територии е тясно свързано с наличието на утвърдени планове за управление. Законът за защитените територии предвижда задължително разработване на планове за управление за националните и природните паркове, както и за поддържаните резервати. Въпреки постигнатия напредък, процесът на изработване и утвърждаване на тези планове в редица случаи е продължителен, което ограничава в пълна степен прилагането на целите и режимите на опазване.

Нормативната база за осъществяване на мониторинг на биологичното разнообразие включва Конвенцията за биологично разнообразие (1992, ратифицирана от България през 1996 г.), Директива за опазване на природните местообитания и дивата флора и фауна 92/43/ЕЕС (чл. 11, чл. 17) и Закон за биологичното разнообразие, 2002 (чл. 115(10) – изискване на закона за създаването на НСМБР). Наредба № 2 (2007) определя условията и реда за създаването и функционирането на НСМБР, условията и редът за внасяне на предложения за изменение и/или допълнение на утвърдения списък на основните обекти и схеми. НСМБ е система, проследяваща и обобщаваща промените в биологичното разнообразие на България в дългосрочен план. Тя е основа за взимане на управленчески решения, имащи отношение към опазването на биоразнообразието, като заедно с това обслужва нуждите от информация на възможно най-широк кръг ползватели.

НСМБР включва следните типове обекти:

- видове и типове природни местообитания, които България е задължена да наблюдава по силата на националното законодателство и международни ангажменти;
- видове и природни местообитания с национално значение;
- обекти на трите нива на биологична организация – генетично, видово и екосистемно/хабитатно;
- обекти, съответстващи на тематичните работни програми на Конвенцията за биологично разнообразие (КБР) (напр. земеделско, горско, планинско, вътрешноконтинентални води, морско и крайбрежно биоразнообразие).

По утвърдените списъци обекти на мониторинг са:

- Гъби – 16 вида;
- Висши растения – 194 вида;
- Мъхове – 13 вида;
- Безгръбначни животни – 252 вида;
- Риби – 51 вида;
- Земноводни и влечуги – 21 вида;
- Птици – 310 вида;
- Бозайници – 31 вида;
- Природни местообитания – 65 типа (по Директива 92/43/ЕИО).

НСМБР прилага т.нар. „индикаторен“ подход, по-точно *DPSIR-индикаторен подход* и обхваща обекти на трите нива на биологична организация – генетично, видово и екосистемно. В рамките на този модел индикаторите се групират в няколко основни категории, сред които:

✓ *индикатори за натиск (pressure)*, които отчитат преки и непреки въздействия, причинени от човека, с влияние върху биологичното разнообразие. Непреките въздействия са свързани с демографски, икономически, технологични, културни и управленски фактори, докато преките въздействия произтичат от формите на ползване на земята, експлоатацията на биологичните ре-

сурси, навлизането и разпространението на инвазивни видове, климатичните промени, емисиите на замърсители, фрагментацията и деградацията на природните местообитания и други.

Примери: промени в земеползването (интензификация на земеделието, урбанизация); степен на фрагментация на природните местообитания; интензивност на експлоатацията на биологичните ресурси (дърводобив, риболов); разпространение и численост на инвазивни чужди видове; емисии на замърсители и натоварване с хранителни вещества; влияние на климатичните промени (честота на екстремни събития, температурни аномалии).

✓ *индикатори за състояние (state)*, които отразяват характеристиките на абиотичните компоненти на околната среда (почва, вода, въздух), както и състоянието на биологичното разнообразие на екосистемно/хабитатно, видово и генетично ниво. Те характеризират богатството на биологично разнообразие, целостта, структурата и функционалния потенциал на екосистемите, както и запасите от биологични ресурси.

Примери: площ и степен на съхраненост на природните местообитания; численост и тенденции в популациите на приоритетни и защитени видове; видово богатство и видово разнообразие в дадени екосистеми; състояние на ключови екосистемни функции (първична продукция, трофични връзки); генетично разнообразие на популации от застрашени видове.

✓ *индикатори за отговор (response)*, свързани с мерките, предприети за ограничаване на неблагоприятните въздействия, подобряване на състоянието на биологичното разнообразие и постигане на устойчиво използване на биологичните ресурси. Към тях се отнасят мерките за *in situ* и *ex situ* опазване, както и действията, предприети за повишаване на институционалния и експертния капацитет за изпълнение на ангажиментите по КБР – развитие на законодателство, натрупване на знания и данни, прилагане на технологии и добри практики, осъществяване на мониторинг и осигуряване на необходимите финансови ресурси.

Примери: площ и обхват на защитените територии и зони от Натура 2000; брой и обхват на приети и прилагани планове за управление; изпълнение на мерки за *in situ* и *ex situ* опазване; инвестиции и финансови ресурси за опазване на биоразнообразието; развитие на мониторингови програми и наличност на актуални данни.

Мониторингът на водите е основен инструмент за оценка на тяхното екологично и химично състояние. Той се осъществява чрез съчетаване на физико-химични и биологични показатели, които позволяват идентифициране и анализ на различните видове натиск в съответствие с Рамковата директива за водите 2000/60/ЕС (РДВ).

Според природата на замърсителя можем да ги класифицираме като физични, химични и биологични. Физичните замърсители често са с механичен характер при т.нар. инертно замърсяване и са под формата на дънни утайки (тиня, пясък и др.). Те имат и отрицателно стопанско значение, тъй като увреждат водопроводите, водохранилищата и ВЕЦ. Топлинното замърсяване също е подвид на физичното. Повишаването на температурата на водата може да бъде резултат от използване на водна маса за охлаждане в електроцентралите. При над 28°C настъпват промени в съобществата и съответно в екологичното равновесие. Вредните последствия от топлинното замърсяване са понижаване количеството на разтворения във водата кислород; възпрепятстване размножаването на организмите; нарушаване съотношението между организмите в съобществото (напр. доминиране на синьо-зелени водорасли). Трети подвид на физичното замърсяване е радиоактивното замърсяване, при което при разпада на радиоактивни вещества се освобождава лъчиста енергия, оказваща пагубно въздействие върху живите организми.

Химичните замърсители се подразделят на минерални и органични вещества. Живите организми се нуждаят от макро- и микроелементи. В случаите, когато липсва някой от тези елементи водните басейни се определят като олиготрофни, а когато преобладават – еутрофни. При обогатяване на водите с минерални вещества се повишава продуктивността на екосистемите в процеса на еутрофикация. Много често като следствие настъпва „цъфтеж“ (понижава се прозрачността и количеството на разтворения кислород, променя се мириса поради отделяне на метан, сероводород, токсични вещества). В резултат чувствителни групи организми загиват. До минерално замърсяване могат да доведат изкуствени торове, битовите отпадъчни води (БОВ), животински отпадъци, съдържащи фосфор перилни и миешки синтетични препарати. Органична материя естествено се натрупва във водоемите през есента, когато опадат листата на растенията и при сезонното масово измиране на хидробионти. Органичните съединения се подлагат на разлагане, което консумира значителни количества кислород. Органичните отпадъци с висока БПК¹ могат да бъдат растителни и животински отпадъци (от консервни фабрики, млекопреработващи заводи, кожарски предприятия) или съдържащи сулфит отпадъци (от хартиено-целулозните фабрики). Към биологичните замърсители се отнасят всички патогенни микроорганизми като източници на такова замърсяване са най-често БОВ. Един от биологичните показатели, по който се отчита за наличие на болестотворни организми е общ коли-титър (БДС 2824). В съвременния мониторинг на водите, съгласно европейските стандарти, фекалното замърсяване се оценява чрез определяне на *Escherichia coli* по EN ISO 9308-1.

Една от популярните класификации на замърсяването на водите е според произхода. Според нея замърсяването се дели на естествено и изкуствено. Естественото замърсяване е напр. от есенната шума, която се разгражда аеробно и/или анаеробно под действието на различни организми. Този процес не се понася от водоема като вреден. Но „цъфтежа“ – масовото развитие на фитопланктон довежда до бързо разграждане и изчерпване на наличния кислород. Счита се, че когато самопочиствателните процеси на водната екосистема се справят с отпадъчните продукти, то замърсяването е естествено. Самопочистването е процесът, който довежда повишеното ниво на дадено вещество до първоначалното нормално. В естествения кръговрат на веществата органичните вещества постепенно се разграждат и минерализират. Следва анаеробно разграждане или т.н. процес на гниене. Като всеки естествен процес самопочистването е много важно за екологичното равновесие. Благоприятства се от интензивно движение на водата, което повишава съдържанието на кислород, от сезона (през летния период поради по-високи температури има по-голямо количество бактерии), от светлината, необходима за фотосинтезата. Счита се, че са-

¹ Биохимично потребен кислород (БПК) отразява индиректно наличието на част от биоразградимите въглеродсъдържащи органични вещества чрез количеството на кислорода, изразходван при процесите на дишане.

мопредицивателната сила на един водоем е правопрорационална на видовете растителни и животински организми в него. Изкуственото замърсяване е резултат от задоволяване на нуждите на човека от вода и от производствени дейности. Отпадъчните води биват БОВ, промишлени отпадъчни води (ПОВ) и повърхностен отток по градските настилки. Значително замърсяване предизвикват и дифузни емитери като селското стопанство.

Методите и стандартите за мониторинг на повърхностните води в Европа, съгласно Рамковата Директива за Води (РДВ, Директива 2000/60/ЕС) са насочени към определяне на екологичното състояние на водите спрямо 5 класа (отлично, добро, умерено, лошо и много лошо състояние). РДВ изискваше от страните-членки да постигнат към 2015 г. добро екологично състояние на всички повърхностни водни тела (Чл. 4), съответно добър екологичен потенциал за изкуствените и силно модифицираните водни тела. Състоянието на едно водно тяло се определя на база по-лошото от неговото химично или екологично състояние (Чл. 2, т.17), като екологичното състояние се оценява чрез най-неблагоприятните стойности на биологичните и подкрепящите ги физико-химични елементи за качество (Приложение V, т. 1.4.2). Въведени са три групи елементи за качество при определянето на екологичното състояние за отделните категории повърхностни водни тела (Приложение V 1.1). Биологичните елементи за качество, определени в Приложение V 1.2, се използват за разграничаване на петте класа, докато физико-химичните елементи за качество, които поддържат биологичните елементи, следва да прилагат при разграничаване на трите класа – отлично, добро и умерено екологично състояние (Приложение V 1.2.1 – 1.2.4). Хидроморфологичните елементи за качество трябва да се прилагат за разграничаване на отличното състояние, съпоставимо с естествени, неповлияни от човека условия.

В България мониторингът и анализът на повърхностните води, включително използваните метрики и стандарти за биологични, физико-химични и химични показатели, са регламентирани в Наредба № Н-4/2012 за характеризиране на повърхностните води, изменена и допълнена с измененията, включително от Държавен вестник, бр. 67 от 04.08.2023 г.

Мониторингът на водите се основава на концепцията за структурата и функциите на екосистемите, които са изградени от нежива среда (биотоп) и живи организми (съобщества), намиращи се в непрекъснато взаимодействие помежду си. При отсъствие на антропогенно въздействие в рамките на всяка екосистема се постига относително равновесие между неживата среда и живите организми, което се поддържа от вътрешни регулаторни механизми. Това състояние на водните екосистеми, съгласно Приложение V на РДВ се определя като „референтно“, а организмите, както и условията на неживата среда при които то се проявява се обозначават като референтни условия. Установяването на референтните условия е ключов етап при оценката на състоянието на водните тела, тъй като те служат като база за класификация. Референтното състояние съответства отлично екологично състояние, при което антропогенната намеса отсъства или е минимална.

В рамките на физико-химичния мониторинг *in situ* могат да бъдат измерени показатели като киселинна реакция (pH), електропроводимост (C, $\mu\text{S}/\text{cm}$) и редокспотенциал (Eh, mV) с помощта на портативни измервателни уреди. За пробовземане на води за последващи лабораторни анализи се използват аналитично чисти полиетиленови/стъклени бутилки с цел изключване на замърсяване при пробовземане. Бутилките се подготвят след три отделни измивания с дестилирана и дейонизирана вода. Водните проби веднага се транспортират в съответна лаборатория. Съществено значение има изборът на метод за анализ. Атомно-емисионният спектрален метод (AES или OES) се основава на регистриране и интерпретация на електромагнитно лъчение. По този метод могат да бъдат определени до 72 елемента, като към тях спадат метали, редкоземни и преходни елементи, както и някои неметали (B, P, S, Si). Друг широко приложим метод е ICP-MS (индуктивно свързана плазма с маспектрометрия), при който йоните се разделят и регистрират според отношението маса/заряд (m/z). Това съчетание обуславя отличните аналитични характеристики на метода, по който могат да се определят в различни видове проби до 82 елемента, както и изотопен състав (метали, преходни и редкоземни елементи, неметали, вкл. халогени). Химичното състояние на повърхностните водни тела се оценява в два класа – добро и лошо, които при картографиране се изобразяват съответно със син и червен цвят.

При охарактеризирането на повърхностните води могат да се използват биоиндикаторни организми, като оценката се основава на присъствието или отсъствието на определени видове, характерни за различни нива на замърсяване, както и на анализ на структурата на съобществата (таксономично разнообразие, численост, честота и съотношение между групите организми). Биоиндикаторите могат да принадлежат към различни таксономични групи, вкл. микроорганизми

(бактерии, микроводорасли, протозои) и макроорганизми (макрофити, насекоми, мекотели, риби и др.). Биологичният мониторинг има широко приложение поради редица предимства: регистрира резултата от съвместното действие на замърсителите; отчита екологичните последици от замърсяването; дава възможност да се локализира мястото на въздействие на даден замърсител; характеризира се с висока ефективност и относителна икономичност; получените резултати могат да бъдат представени за по-широк кръг от потребители. Основни характеристики на всяко съобщество са броят на видовете (S) и числеността (N – брой индивиди). Счита се, че по-голям брой видове при относително малък брой индивиди от всеки вид е характерен за по-чисти води, тъй като при такива условия ресурсите са ограничени и не позволяват доминиране на вид с висока численост. По принцип замърсяването води до намаляване на разнообразието на съобществото чрез увеличаване числеността на някои толерантни таксони и/или отпадане на чувствителни видове. При умерено замърсяване или евтрофикация обаче разнообразието може да не бъде значително понижено, но да настъпят съществени промени във видовия състав. В тези случаи толерантните видове изместват чувствителните таксони, като общото разнообразие може да остане сходно с това в неповлияна среда. Индексът на видовото разнообразие H, известен като Индекс на Шанон – Уивър (Shannon & Weaver) е функция от числеността на видовете и равномерността на тяхното разпределение в съобществото. При оптимално състояние на съобществото стойността на H е висока, а при влошаване на условията намалява. Стойности на $H > 3$ са характерни за случаи на олигосапробия, докато стойности $H < 1$ се наблюдават при силно замърсени води. Индексът на видовото богатство d (Индекс на Маргалеф) изразява логаритмична зависимост и зависи от броя видове в съобществото, а не от тяхната численост. В по-чисти води стойността на индекса обикновено е над 8. Индексът на изравненост (e) характеризира равномерността на разпределение на общата численост между отделните видове, докато индексът на доминиране (c) показва степента, в която един или няколко по-толерантни вида доминират в съобществото, особено при влошаване на екологичните условия и нарастване нивото на натиск.

РДВ определя водещата роля на биологичните елементи за качество (БЕК) при оценката на състоянието на водните екосистеми (водните тела), тъй като състоянието на съобществата от водни организми е най-добрият индикатор за настъпилите негативни промени в абиотичната среда. В Приложение V на РДВ (Директива 2000/60/ЕС, 2000) са посочени основните биологични елементи за качество, които се използват: риби, макробезгръбначни, висша водна растителност (макрофити) и водорасли (фитобентос в реки и фитопланктон в езера). Методиките, които ги използват се основават на разбирането, че при нарастване на замърсяването се променят, както видовото богатство (чувствителните видове постепенно изчезват), така и числеността на отделните видове. Различните европейски държави прилагат разнообразни методи за биомониторинг, които преминават през интеркалибрация, за да осигурят унифицирана оценка на екологичното състояние. Например методите, които са базирани на съобществата от дънни макробезгръбначни организми (макрозообентос) са около 77, от които 22 метода представляват са пробни системи, а 55 метода са базирани на други подходи (главно биотични индекси). Самите макробезгръбначните бентосни организми се характеризират със следните предимства: широко разпространение и сравнително лесно пробосъбиране; достатъчно дълъг жизнен цикъл, позволяващ отразяване на промени в околната среда; наличие на таксономични групи с различна чувствителност към замърсяване; бърза реакция при екологичен стрес. Всеки метод за анализ на БЕК финално се представя като изчислен коефициент за екологично качество (EQR). Стойността на EQR варира от 1 до 0, като с 1 се означават референтните условия за всеки биологичен елемент (отлично състояние), а със засилване на антропогенното въздействие стойността на EQR постепенно намалява до 0 (много лошо състояние).

Друга основна насока на хидробиологичния мониторинг е свързана с високата акумулативна способност на някои таксономични групи водни организми. Бриофитите например се прилагат широко за мониторинг на регионални и локални модели на отлагане, на метали и радионуклиди в частност. Оказва се, че много водни мъхове са толерантни към високи нива на тежки метали и токсични елементи. Като допълнение на този метод е въведено използването на транспланти, които позволяват тестиране под влиянието на източник на замърсяване за точно определен период от време. Най-често приложение подходът намира в индустриални и урбанизирани райони.

Пластмасите са едни от най-широко разпространените синтетични материали, създадени от човека. Те се отличават с ниска себестойност, лекота, издръжливост и широк спектър от приложения. През последните десетилетия глобалното производство на пластмаси нараства значително, като устойчивият им масов характер ги прави ключов компонент в опаковъчната индустрия и други сектори, разчитащи на основно на продукти за еднократна употреба. Пластмасовите материали представляват синтетични или полусинтетични органични материали, изградени предимно от макромолекули (полимери), получени чрез полимеризация или поликондензация на мономери с ниско молекулно тегло, произходно въглеродороден. Сравнително лесната обработка на пластмасата дава възможност от нея да се произвеждат предмети с различна форма, както и тънки влакна или фолио. По тези причини пластмасите намират разнообразни приложения – като опаковъчен материал, текстил, топлоизолация, електроизолация, тръби, подови настилки, като компонент в бои, лепила и козметични продукти, в носещите конструкции на машини, в автомобилните гуми и много др. Тези макромолекули имат висока молекулна маса, определена степен на кристалинност и специфична молекулна структура – линейна, разклонена или мрежова, което обуславя техните механични, термични и химични свойства. Добавено към това, пластмасите са устойчиви на естествени процеси на разграждане. Под въздействието на ултравиолетова радиация, температура, механични сили (вълни, течения, абразия) и химични реакции, по-големите пластмасови отпадъци постепенно се фрагментират до по-малки частици – процес, който води до образуването на микропластмаси ($1\mu\text{m} - 5\text{ mm}$) и дори нанопластмаси ($\geq 1\mu\text{m}$). Пластмасата не е биоразградима, не става за храна и не се разгражда напълно в природата. Тя се разпилява. Често не се изхвърля в кошове за смет, а дори и тогава, вятърът може да отнесе продуктите от пластмаса, например найлонови торбички. От сушата този вид отпадъци лесно попадат и в отпадъчните и природни води. В резултат, огромни количества пластмасови отпадъци попадат в околната среда, където се натрупват и оказват значително въздействие върху екосистемите. Тези частици притежават специфични физико-химични характеристики и създават различни екологични и здравни рискове. Класификация на пластмасите според размера им:

Класификацията на пластмасовите отпадъци според размерните им характеристики е от съществено значение за оценка на техния екологичен риск и за разработване на стратегии за мониторинг и управление. В зависимост от физическите параметри и поведението им в околната среда, пластмасите се разделят на четири основни категории: макропластмаси, мезопластмаси, микропластмаси и нанопластмаси:

Макропластмаси

Макропластмасите представляват най-едри частици с размер над 25 mm (някои автори поставят границата при 5 mm). Те включват големи пластмасови изделия като бутилки, торбички, рибарски мрежи, въжета и опаковки. Макропластмасите са най-видимата форма на замърсяване, привличаща общественото внимание поради естетически и екологични последици. В морската среда тези отпадъци често водят до оплитане и нараняване на морски организми, както и до механично увреждане на местообитанията. При дългосрочно излагане на UV-лъчи, солена вода и механично въздействие, те се фрагментират до по-малки размерни класове, служейки като основен източник за образуването на мезо- и микропластмаси.

Мезопластмаси

Мезопластмасите представляват частици с размер между 5 и 25 mm , заемащи междинно място между макро- и микропластмасите. Те често се образуват при частичното разрушаване на по-големи отпадъци, като парчета от опаковки, капачки, фрагменти от рибарски мрежи и др. Макрокар и по-малко изследвани, мезопластмасите оказват важно влияние в екосистемите, тъй като лесно се поглъщат от по-едри морски организми, например риби и мекотели, и могат да се натрупват във веригата по трофичните нива. Тези частици представляват преходен етап към микропластмасите, като процесите на фотодеградация, абразия и хидролиза ускоряват тяхното раздробяване.

Микропластмаси

Микропластмасите са основният обект на изследване в настоящата работа. Те се дефинират като пластмасови частици с размер под 5 mm, които могат да бъдат първични или вторични по произход. Първични микропластмаси се произвеждат умишлено с малък размер за индустриални и фармацевтични цели – напр. микрогранули в козметика, носители в лекарствени форми и полимерни абразиви. Вторични микропластмаси възникват в резултат на разграждането на по-големи пластмасови предмети под действието на физични, химични и биологични фактори. Микропластмасите се считат за един от най-сериозните съвременни замърсители поради тяхната изключителна устойчивост, голяма специфична повърхност и способност да адсорбират токсични вещества и тежки метали. Те могат да бъдат транспортирани на големи разстояния чрез въздушни и морски течения и да се натрупват както в повърхностните води, така и в седиментите. Скоростни изследвания в българската акватория на Черно море показват, че концентрацията на микропластмаси във водни проби достига до 300 – 700 частици/m³, а в седиментите – до 1200 частици/kg сухо вещество. Още по-тревожно е установяването им в тъканите на морски миди, което потвърждава тяхното участие в биотрансфера по хранителната верига. Наличието на микропластмаси в морските биоресурси поражда и фармацевтично-биотехнологичен интерес, тъй като се наблюдава потенциал за взаимодействие между микропластмасовите частици и биологично активни молекули, което може да промени тяхната биодостъпност и токсичност.

Нанопластмаси

Нанопластмасите са частици с размер под 1000 nm, които често се образуват при по-нататъшното разпадане на микропластмасите. Този клас е изключително труден за детекция и характеризиране поради близките му размери до биомолекулите и клетъчните структури. Те могат да проникват през биологични мембрани и да достигат до клетъчни органели, причинявайки оксидативен стрес, възпалителни реакции и генотоксични ефекти. Поради това, нанопластмасите се разглеждат като нововъзникваща заплаха за човешкото здраве и водните екосистеми. Въпреки че количественото им определяне все още е предизвикателство, се счита, че нанофрагментацията на микропластмасите в морската вода е непрекъснат процес, ускорен от слънчевата радиация и физичната турбулентност.

Пластмасата е един от основните химични материали, които причиняват големи екологични проблеми. Някои пластмаси могат да се изтеглят в много тънки нишки или листове (филми). Тези особености са ги направили много популярни за производството на съдове и опаковъчни материали. Найлоните имат високо молекулно тегло и дълги молекули, което ги прави много трудни за биодegradация в природата. Те са с доста инертни свойства и не причиняват химическо замърсяване във водата, тъй като са неразтворими и не взаимодействат химически с много от веществата в нея. Найлоните се разграждат от въздействието на ултравиолетовите лъчи, като първо те се втвърдяват, начупват и разпрашават, т.е. техният полимерен характер се нарушава. Тези отпадъци причиняват огромна вреда във водните екосистеми. Те оказват влияние първо като биват изяждани от различни животни и причиняват тяхната смърт като задръстват стомашно-чревния им тракт. Така животните умират мъчително от глад и болезнено подуване на стомаха. Освен това, водните животни се заплитат в найлоните и умират от удавяне, удушаване или глад. Морските костенурки са най-неблагоприятно повлияни от тях. Костенурките бъркат плуващите прозрачни найлони с медузите, с които се хранят и ги поглъщат. В стомаха на една мъртва морска костенурка, намерена на Хавай, са открити повече от 1000 парчета найлон. Доклад от САЩ заключава, че годишно повече от 100 000 морски бозайници умират заплетени в найлони или погълнали найлони. Общо 75 вида морски птици са известни с това, че поглъщат найлонови отпадъци. Този брой включва 36 вида птици, срещащи се в Южна Африка. Едно проучване показва, че 90% от малките на синия буревестник имат найлонови отпадъци в стомасите си, инцидентно попаднали в тях когато възрастните са ги хранили. Южноафриканските птици са най-силно повлияните от найлоновите отпадъци по света. Учени са доказали, че найлоновите отпадъци, плуващи на повърхността на Световния океан, намаляват количеството на планктона – началото на най-значимата хранителна верига на планетата. Като цяло, неразтворимите вещества в морската вода се утаяват по-бавно, отколкото в речната, поради което те замърсяват крайбрежната зона, когато липсва постоянно водно течение, което да ги отнесе далече от мястото на вливането им.

Остров от твърди отпадъци с размерите на континент се носи във водите на Тихия океан между Хаваите и Калифорния. Гигантска купчина от твърди отпадъци, която се разраства с всяка изминала година, и трови обитателите му в района между Хавайските острови и бреговете на Калифорния. Боклученият остров, който е получил името Голямата тихоокеанска камара (The Great Pacific Garbage Patch), е с територия 2 пъти по-голяма от тази на щата Тексас – вторият по големина щат в САЩ с територия 678051 km². Грамадата се състои от над 3.5 млн. t отпадъци, 80% от които са пластмасови. „Айсбергът“ от боклук бил открит за пръв път през 50-те години, като оттогава всяка десетилетие площта му нараства 10 пъти. Учените описват и механизма на формиране на боклучената грамада. Празните опаковки и торбички през канализацията попадат в океана, където 2 течения ги носят към Голямата тихоокеанска камара. Тъй като теченията в района се завихрят, отпадъците се „набиват“ здраво един в друг и островът продължава да расте на ширина и височина. Камарата се намира в неутрални води и далеч от корабоплавателните маршрути, затова никоя държава не предприема усилия за разчистването ѝ. Голямата тихоокеанска камара е особено опасна за здравето и живота на птиците и останалите морски обитатели. Продуктите на петролна основа, които се разграждат за десетилетия, покриват огромна площ в океана, която е част от хранителната зона на животните. Изследване на Greenpeace показва, че боклученият остров застрашава с поглъщане на пластмасови материали или заплитане до смърт в отпадъците общо 267 вида морски обитатели. Еколозите очакват проблемът да продължи да се задълбочава, но посочват, че хората могат да ограничат разрастването на Боклучения континент посредством намаляване потреблението на пластмасови торбички и опаковки, разработването на по-лесно и бързо разградими пластмаси и създаването на алтернативни биоматериали – заместители на пластмасите. Природозащитниците се борят за премахването на огромното океанско сметище, но посочват, че за това ще са необходими международни усилия и милиарди долари. Те уточняват, че без всеобща международна инициатива, нито едно правителство няма да се заеме с почистването на неутрални води, не само от своите, а и от отпадъците на много други държави.

Детергентите са едни от най-широко разпространените химични замърсители във водни екосистеми, а тяхното въздействие е многопластово – от промени във физичните характеристики на водата до токсични ефекти на ниво клетка, организъм и екосистема. Комбинираният натиск от повърхностноактивни вещества (ПАВ), фосфати и съпътстващите химикали прави този тип замърсяване особено значимо при оценката на антропогенното въздействие върху водните тела. Системният мониторинг, технологичните иновации и устойчивото потребление са ключови за ограничаването на негативните ефекти. Детергентите могат да бъдат прахообразни, течни и под формата на пасти, като най-широко приложение имат прахообразните и гранулираните (75%). Според своето предназначение могат да се разделят (най-общо и условно) на перилни и почистващи средства. През последните десетилетия употребата на синтетични детергенти нарасна значително поради широкото им приложение в битовата хигиена, индустриалното почистване и редица технологични процеси. Това доведе до постоянно и масово постъпване на ПАВ в природните водни системи. Основният източник на детергентно замърсяване са битовите отпадъчни води. Други важни пътища включват: промишлени източници, особено текстилната, хранително-вкусовата и фармацевтичната индустрии; оттичане от урбанизирани територии, включително дъждовна канализация; недостатъчно пречистване или заобикаляне на пречиствателни станции при аварии или високо натоварване; селскостопански дренаж, съдържащ остатъци от препарати за почистване на съоръжения и оборудване. Тези пътища водят до постоянно и хронично замърсяване, което засяга както повърхностните, така и подземните води. Въпреки напредъка в пречистването на отпадъчни води, значителни количества детергентни компоненти достигат до реки, езера и морски екосистеми, предизвиквайки комплексни химични, физични и биологични въздействия. Настоящата глава разглежда основните типове ПАВ, техните свойства, пътища на постъпване във водната среда и свързаните с тях екологични проблеми. Детергентите представляват смеси от активни и спомагателни вещества, създадени за намаляване на повърхностното напрежение и за улесняване на разтварянето и отстраняването на замърсители. Основните им компоненти включват: повърхностноактивни вещества (ПАВ); анионни ПАВ (например линейни алкилбензенсулфонати – LAS) – най-разпространени в битовите препарати; катионни ПАВ: използват се в омекотители, дезинфектанти и промишлени процеси; често притежават висока токсичност за водните организми; неионогенни ПАВ включват етоксилирани алкохоли и други биоразградими съединения; амфотерни ПАВ: използвани в козметиката и медицината; допълнителни съставки. Детергентите съдържат още фосфати, ензими, ароматизатори, оптически избе-

лителни, консерванти и антиреотични добавки. Някои от тези вещества са устойчиви, биологично активни или съдържат токсични елементи като азот и фосфор.

Всички синтетични миешки препарати представляват сложна композиция от няколко компонента, взети в определено съотношение, като всеки от тях има определено предназначение: повърхностно активни вещества (ПАВ) = сърфактанти (англ. surfactants) – вещества, които разтварят мазнините и навлажняват повърхностите; абразивни вещества – твърди частици за изтъркване; омекотители – намаляват количеството на карбонатните съставки на водата; оксиданти – за избелване, дезинфекция и разграждане на органични вещества; ензими – за разграждане на мазнини, протеини и въглехидрати; пенорегулатори; други съставки.

Повърхностно активни вещества (ПАВ) (наричани в чуждата литература тензиди) са изкуствено или синтетично получени вещества, които влизат като основни компоненти на миешките и перилните препарати, използвани в бита и промишлеността. Те имат две основни функции, а именно – да понижат повърхностното напрежение на течността, в която се разтварят, и да образуват стабилна емулсия или суспензия с частиците на замърсителя. Естествените ПАВ са познати още от древността и са известни на всички като сапуни. Това са алкални соли на висшите мастни киселини – стеаринова, палметинова, кокосова и други. Те са водоразтворими и имат специфичните особености на всички дифилни съединения – т.е. структура на молекулата, в която има хидрофилна част („глава“), съдържаща една или няколко полярни групи. Втората част на молекулата е хидрофобна „опашка“, представляваща дълга алифатна верига, понякога може да съдържа и арилни части. Синтетичните ПАВ са вече многобройна група от съединения, получени посредством методите на синтетичната химия от различни суровини. Детергентите са станали едни от най-разпространените вещества, замърсяващи водната среда. В икономически развитите страни, където те се употребяват много широко, концентрациите на повърхностно активните вещества в отходните води съставляват 5 – 15 mg/l. При това детергентите трудно се поддават на почистване и във водоемите се изхвърлят 50 – 60% от тяхното начално количество. Те навлизат в хидросферата от канализационните води на селища или заводи и посредством водните артерии достигат в крайна сметка до Световния океан. Омекотителите също не са безвредни субстанции. Употребата на полифосфати се счита за една от основните причини за еутрофикацията на водоемите. Големите екологични катастрофи в някои езера в Швеция, Големите мечи езера в САЩ и т.н., след подробни изследвания се обясняват именно с внасянето в тях на значителни количества фосфати, толериращи силното развитие на водната растителност. Като резултат се стига до забрана за използването на фосфати като омекотяващи компоненти на перилните препарати (САЩ – 1976 г., Швеция – 1986 г.), а в Европа се прилагат препоръки за намаляване на фосфатите до нула. В ЕС годишното потребление на детергенти, съдържащи фосфати, е около 1.8 млн. t – стойност, еквивалентна на фосфорно съдържание от 110 000 t, от които 90 – 95% се употребяват в домакинските перилни и почистващи препарати. За сравнение, използването на фосфати в изкуствените торове е еквивалентно на около 1.25 млн. t. Най-характерният признак за присъствие на детергенти във водоемите се явява образуването на дебел слой пяна, особено на водните прагове, водопадите и шлюзовете. Този слой пяна може да достигне на височина повече от метър, при което се възпрепятства достъпа на кислород. Способността за пенообразуване се проявява още при концентрация от 1 – 2 mg/l, при което тя се съхранява при преминаването през някои канализационни и почистващи системи. Концентрацията на детергентите в речните води възлиза на 0.3 – 1.0, а понякога и 1.5 mg/l, като се счита, че максималната допустима концентрация във водите е 0.3 mg/l. Установено е, че концентрация от 1.0 mg/l предизвиква масова гибел на планктона, 3.0 mg/l предизвикват масова смърт на дафнии, а 5.0 mg/l водят до понижаване на рибните ресурси. Детергентите се изливат във водното пространство главно при пречистването на отпадъчните води. Вредата от детергентите е голяма, защото те преминават през пречиствателните съоръжения без изменение.

Макар част от ПАВ да се разграждат сравнително бързо, други притежават устойчиви ароматни структури или образуват метаболити с по-висока токсичност. Биоразградимостта зависи от температурата, рН, съдържанието на органична материя и наличието на специфични микроорганизми. Ефектите на детергентите във водните екосистеми включват: намаляване на повърхностното напрежение; ПАВ променят повърхностното напрежение на водата, което води до нарушения в газообмена и светлопропускливостта, както и до промени в поведението на разтворените органични вещества; образуване на пяна – пяната образува физическа бариера на водната повърхност, ограничава достъпа на кислород и светлина и създава неблагоприятни условия за

риби, фитопланктон и макрозообентос. ПАВ често образуват комплекси с тежки метали, пестициди и органични токсиканти, повишавайки тяхната разтворимост и биодостъпност. Това може да увеличи токсичността на смесени замърсявания. Фосфатите, съдържащи се в много детергентни формули, ускоряват биогенната продукция и стимулират цъфтежите на водорасли (еутрофикация). Това води до: изчерпване на разтворения кислород, образуване на токсични цианобактериални маси, масова смърт на риби и безгръбначни, натрупване на органични седименти и вторична анаеробизация. В редица държави употребата на фосфати в детергентите е ограничена или забранена именно поради риска от еутрофикация. Високи концентрации на ПАВ: инхибират микробните популации в активната утайка, нарушават биологичното разграждане на органични вещества, водят до проблеми като разпенване и намалена ефективност на пречистване, увеличават количеството на недоразградени органични вещества, достигащи природните води. Това води до вторично замърсяване и натрупване на токсични метаболити.

Ефективното управление включва на детергентите и управлението на водите включва: ограничение на фосфатите и въвеждане на биоразградими ПАВ, модернизация на пречиствателни станции (мембранни технологии, адсорбция, озонация), мониторинг на ПАВ в повърхностните води и седименти, въвеждане на екологични стандарти и екомаркировки за препарати, обществена осведоменост и насърчаване на устойчиви продукти.

Директива 91/271 за пречистването на градските отпадъчни води (UWWTD), според която третичното пречистване (което отстранява фосфатите) е задължително изискване към станциите за пречистване на отпадъчните води, обслужващи агломерации с над 10000 еквивалентни единици за брой население, и които се оттичат в райони, податливи на еутрофикация. Регламентът №648/2004 на Европейския парламент, подписан на 31 март 2004 г., засяга детергентите (почистващи средства). Документът цели изграждането на вътрешен пазар за детергенти и налага пряко на производителите определени точни изисквания, които трябва да бъдат изпълнени. В него се дефинират методите за изпитване на биоразградимост и етикетирание на детергентите с цел по-добра защита на околната среда и потребителите. Регламентът е въведен в българското законодателство чрез Закона за изменение и допълнение на закона за защита от вредното въздействие на химичните вещества и препарати, приет на 29 юли 2010 г. и обнародван в „Държавен вестник“ бр. 63 на 13 август 2010 г. Детергентите съдържат продукти, наречени тензоактивни или повърхностно активни вещества, които позволяват да се намали повърхностното напрежение на течностите, да се подпомогне омекването на повърхностите и да се улесни измиването. Тези вещества могат да имат токсично действие върху водната фауна и флора. В тази връзка, от 1970 г. досега европейското законодателство е създавало пет директиви. В този период основната му задача е била да се избегне създаването на пяна, което е твърде видимо доказателство за присъствието на тензоактивни вещества в околната среда. Регламентът № 648/2004 се стреми да консолидира законодателството в тази сфера, замествайки петте директиви и въвеждайки понятието „биоразградимост“. Европейското законодателството става по-рестриктивно по отношение на всички видове тензоактивни вещества и подлага детергентите на по-стриктни методи на изпитване по отношение на крайната биоразградимост (не толкова на началната биоразградимост). В следващите години този регламент неколккратно е изменян, съответно с: Регламент (ЕО) № 907/2006 на Комисията от 20 юни 2006 година; Регламент (ЕО) № 1336/2008 на Европейския парламент и на Съвета от 16 декември 2008 година; Регламент (ЕО) № 219/2009 на Европейския парламент и на Съвета от 11 март 2009 година; Регламент (ЕО) № 551/2009 на Комисията от 25 юни 2009 година; Регламент (ЕС) № 259/2012 на Европейския парламент и на Съвета от 14 март 2012 година.

Едни от главните замърсители на водната среда са нефтът и нефтопродуктите. Те се характеризират със сложен състав, включващ широк набор въглеводородни съединения, всяко от които на свой ред може да се разглежда като самостоятелен токсикант. Чрез сепариране и дестилация нефтът може да бъде разделен на фракции, включително на газообразни въглеводороди (метан, етан, пропан-бутан), бензин, газьол (нафта), керосин, мазут, смазочни масла, парафин, асфалт. Използва се като суровина за производство на голям брой продукти. „Нефтен разлив“ е всяко изхвърляне на нефт във водата, опасно за здравето на хората или околната среда, независимо от причините и обстоятелствата, предизвикали това изхвърляне. „Нефтен петно“ е повърхностно разпределен нефт в морската вода. В наши дни нефтът е най-разпространеното вещество замърсител на природните води. По различни оценки постъпването на нефт в Световния океан (към 1979 г.) съставлява 1.64 – 15.0 млн. t годишно. Поради нарасналата нефтодобивна промишленост в съвременното и особено в зоната на континенталния шelf, може да се приеме постъпване на нефт от над 30 млн. t

годишно. Замърсяването на водите с нефт и нефтопродукти е в резултат на изливане по време на различни човешки дейности. Приблизително еднакъв процент се пада на източниците на замърсяване, разположени във водите на Световния океан и на сушата. Най-значими източници във водна среда са танкерите, нефтените сонди и различни типове аварии. Друг източник във водна среда е например водният транспорт. На сушата най-големият замърсител с нефтопродукти е автомобилният транспорт. По процент той надхвърля много от източниците във водна среда и е съпоставим със замърсяванията на водата от танкери. От сушата нефт и нефтопродукти постъпват и от най-различни отрасли на промишлеността. Естествените източници на свободно постъпващ във водата нефт са нефтоносните райони, разположени на континенталния шелф по бреговете на Южна Калифорния, в Мексиканския и Персийския залив, в Карибско и Арабско море, по северното крайбрежие на Аляска и Канада, по бреговете на Индонезия и някои други части на Световния океан. Към 1979 г. постъпването в природните води на нефт от такива източници възлиза на 0.5 млн. t годишно. Значително замърсяване на водните обекти се забелязва при нефтодобива. При сондажите от дълбоките пластове постъпва определено количество вода с високо съдържание на нефт и нефтени киселини, което се определя от дълбочината на пласта и хидро-геологическата обстановка. Неправилното действие и техническите неизправности при нефтодобива водят до залпови изпускания на нефт. Така например, в резултат на течове в миналото в района на Санта Барбара (Калифорния), нефтът е покрил акватория от океана с площ 2072 km², а общият обем на разлетия нефт след 100 дни от неговото изпускане е 15 млн. l. Силно замърсяване на водната среда произлиза при транспорта на нефта. В настоящето много висок процент нефт се превозва по морски път. Необходимо е да се подчертае, че именно в резултат на почистването на резервоарите на танкерите и изхвърлянето на баласт в Световния океан постъпват почти 30% от общото количество нефт. Известно количество нефт попадат във водите и при течове от нефтопроводи и при неговия превоз чрез други видове транспорт. Морският транспорт също допринася за този тип замърсяване. Количеството на морските съдове, работещи с горива от нефтената промишленост, се доближава до 100% с увеличаване на тяхната мощност. За 1970 г. световният флот е наброявал 52 444 съда, като от тях танкерите са 6103. В наши дни числата са значително по-високи. Повече от 70% от обема на нефта, попадащ в Световния океан, е в резултат на експлоатация на тези съдове, без отчитането на танкерите, като това са течове от бу-кери и при почиствания на трюмовете. Известно количество нефт се губи и при непълното изгаряне на горивото, което ясно се вижда по следата, която оставя плаващия съд зад себе си. При старите съдове тази загуба се оценява средно на 250 g на 1 km път. Най-голямо количество нефт в Световния океан постъпва от сушата – около 60% от общия обем, чрез автомобилния транспорт. През миналия век е изчислена загуба на 10 – 11 l за година от един лек автомобил, а общото количество нефт, постъпващ в Световния океан по този начин, е възлизал на 2.1 – 2.2 млн. t годишно. Значително количество нефт постъпва във водна среда под формата на нефтопродукти, много от които са токсични. При различни отрасли на промишлеността се отделят съединения като метан, пропан, бутан, етилен, фенол, бензол и др. Известно количество нефт постъпва от сушата и в резултат на течове от нефтохранилища, от промишлени площадки и др. Голяма вреда за природата чрез нефтени замърсявания нанасят различните курортни зони, разположени по крайбрежието на моретата и океаните, а във вътрешността на страните – и по язовирите. По този начин се нарушава и естетическата привлекателност на плажовете, ограничава се възможността за къпане на хората и практикуването на водни спортове. Мазутът по плажовете полепва много лесно за дрехи, обувки и по тялото на човека, а отстраняването му е изключително трудно. Във връзка с активното взаимодействие между атмосферата и хидросферата, особено Световния океан, огромно количество въглеродороди с нефтен произход постъпват във водна среда от въздуха. По някои изчисления над 90 млн. t въглеродороди с нефтен произход постъпват в атмосферата в резултат на различни домакински дейности. От тях около 10% навлизат в Световния океан. На базата на тези данни може да се предположи, че приблизително 9 – 10 млн. t въглеродороди с нефтен произход постъпват във водна среда, като се отчита и това, че около 10% от веществата в атмосферата попадат върху сушата и оттам вторично навлизат и във водата. Като цяло, ежегодно в Световния океан се внасят над 15 млн. t нефт и нефтопродукти. Отчитайки, че разпространението на 1 тон нефт средно съставлява 12 km² акватория, може да се направи извод, че потенциално 150 – 180 млн. km² от повърхността на Световния океан е покрита с тънък слой нефт. Независимо от условността на тази преценка (в действителност нефтът коагулира, разнася се от течения и др.), тя дава представа на общите мащаби на въглеродородното замърсяване на водната среда. Много изследователи например отбелязват, че нефтените петна между Европа и Северна Америка силно се увеличават. За-

мърсяването на водоемите с нефт нанася значителна вреда върху хидробионтите. Наличието на нефт в количества от 10 g/m^3 вода е вече пагубно за рибите. При това бензинът е значително по-токсичен, докато тежкият мазут оказва по-слабо отровно действие. Нефтените разливи в реките създават бариери, които са непроходими за видовете риби, чувствителни към въглеродородни замърсявания. Така се възпрепятстват миграциите през техния размножителен период. В резултат на нефтени разливи са регистрирани случаи на масова смърт на птици. Само в Северно море и Атлантическия океан ежегодно загиват 150 – 450 000 мекотели, птици и морски бозайници. В крайбрежните райони, особено тези със забавен водообмен (например заливи), се наблюдава почти пълно унищожаване на морската флора и фауна. В някои реки, силно замърсени с нефт и нефтопродукти, е наблюдавано и запалване. Пример за това е река Кайахога в щата Охайо, САЩ. Много токсиканти, присъстващи в нефта и нефтопродуктите, и по-точно канцерогенните многоядрени въглеродороди, могат да се акумулират в хидробионтите и да се предават по хранителната верига с нарастваща концентрация. Така например, количеството на ароматните въглеродороди, акумулиращи се във фитопланктона, може да достигне до 3 t/km^2 площ от океанската повърхност за една година. По този начин нефтеното замърсяване в крайна сметка води до директна опасност и за човека. Нагледен пример за това е, че концентрацията на канцерогенните въглеродороди в мидите в района на пристанище Тулон (Франция) е достигала до $1.1 - 3.4 \text{ mg/kg}$ сухо вещество. При попадането на токсичните съставки в рибата, в случаите когато тя не загива, а отровните вещества се натрупват в мускулните и тъкани, съществува реална опасност за човека. Изхвърлен на брега нефтът попива дълбоко в пясъка като уврежда организмите, които го обитават. Той също здраво залепва по крайбрежните камъни като унищожава водораслите, мекестите, мекотелите и другите животни върху тях. Бозайниците, обитаващи водна среда – тюлени, морски видри, също загубват термоизолиращата способност на козината си и могат да загинат от преохлаждане (хипотермия). Нефтът и нефтопродуктите могат да увредят очите и ослепяват морските бозайници, след което те умират мъчително. Бозайниците поглъщат силните токсини като ближат козината си, което също води до тяхната гибел.

Битовите отпадъчни води се образуват в резултат на комунално-битовата дейност на населението, като в зависимост от благоустроеността на населеното място и жизнения стандарт те се различават по количество и качествен състав.

Качествените параметри на отпадъчните води отразяват тяхното физично, химично и биологично състояние и са основа за избора и ефективността на методите за пречистване. Въведени са следните обобщени показатели, отразяващи наличието на органични вещества според техния общ химичен състав и биоразградимост.

Биохимично потребен кислород (БПК) – отразява индиректно наличието на част от биоразградимите въглерод-съдържащи органични вещества чрез количеството на кислорода, изразходван при процесите на дишане. Първият тест за определяне на БПК е разработен през 30-те години на миналия век. БПК се определя по стандартни методики в стандартни условия: водна проба се поставя в стандартен съд, съдържащ определено количество въздух и инхибитор за нитрифициращите микроорганизми, след което се държи в темпериран шкаф при температура 20°C в продължение на определен стандартен период от време. Най-често използвания стандарт е БПК₅ – инкубиране на пробата за 5 денонощия. В обобщение БПК илюстрира отстраненият от водата разтворен кислород, който е необходим при биологичното окисление (разграждането) на органичната материя от аеробни микроорганизми. БПК на отпадъчни води най-често е 110 – 440 mg/L и трябва да се сведе до около 20 mg/L в пречистените води.

Химично потребен кислород (ХПК) – отразява индиректно наличието общо на почти всички биоразградими и бионеразградими органични вещества чрез количеството на $K_2Cr_2O_7$, изразходван за тяхното химично окисление. Показателят ХПК се определя по стандартни методики с използване на силен окислител ($K_2Cr_2O_7$) в присъствието на катализатор (Ag_2SO_4), HCl и реактиви, ограничаващи разходването на окислителя за окисляване на неорганичните вещества във водната проба.

Параметрите БПК_x и ХПК са в определено съотношение в зависимост от вида и количеството на субстрата и условията на околната среда. Това съотношение, получено в определени условия се използва за оперативен контрол и управление на съответните съоръжения в ПСОВ. За битови отпадъчни води съотношението ХПК/БПК₅ обикновено е в границите 2 – 3, което показва преобладаващо биоразградимо органично натоварване.

Перманганатна окисляемост (ПО) – отразява индиректно наличието общо само на някои от биоразградимите и бионеразградимите органични вещества чрез количеството на $KMnO_4$, изразходван за тяхното химично окисление.

Общ органичен въглерод (ООВ) – отразява индиректно наличието на въглерод в органичните вещества чрез количеството на $CaCO_3$, получен при неутрализацията на CO_2 , който се отделя при тяхното химично окисляване (ХПК).

Всеки от отбелязаните по-горе качествени показатели има определени количествени измерения. Количественото измерение на всеки качествен показател се представя чрез тегловната концентрация на съответното вещество, отразяващо индиректно съответния качествен показател (mg/l, g/m³). Освен с тегловната концентрация, всеки от качествените показатели може да бъде изразен и чрез общото тегло на съответното вещество, отразяващо индиректно съответния качествен показател, отнесено към определен период от време (kg/денонощие, t/денонощие, t/година). Така се дефинира понятието „товар на съответния органичен замърсител“.

Наред с конвенционалните пречиствателни съоръжения, отпадъчните води могат да се пречистват и при т.нар. природни или естествени условия. Подобни системи за децентрално пречистване са много важни за управление качеството на отпадъчните води. За малки населени места (до 2000 ЕЖ) се препоръчва децентрално пречистване с разделна канализационна система, като дъждовните води се третираат чрез т.н. „фланкиращи мерки“ (отвеждане с канавки, ригули, попитвателни езера за дъжд и др.).

Такива системи комбинират природни процеси със сравнително прости и гъвкави технологични схеми на пречистване, които могат да бъдат реализирани с минимални инвестиционни и експлоатационни разходи, при запазена ефективност на пречистването. Пример за такъв тип

системи са напоителните и филтрационните полета. Напоителните полета са специално подготвени обработваеми участъци, предназначени за напояване на растящите там селскостопански култури с предварително утаени отпадъчни води, при което последните се освобождават от замърсителите. Филтрационните полета са специално подготвени пропускливи терени, предназначени само за пречистване на отпадъчните води в периодите, когато напоителните полета не се нуждаят от напояване. Отпадъчните води, инфилтрирали през напоителните и филтрационните полета се събират и отвеждат чрез специално изградена за целта дренажна система, състояща се от открити или (най-често) закрити канали (тръби). Дренажните канали обикновено са с дължина до 120 m и се изграждат през разстояние 8 – 16 m. Закритите дренажни системи осигуряват по-добра аерация на по-голяма дълбочина. В дренажната система попада само част (около 50%) от подаваната върху полетата отпадъчна вода. Останалата се губи чрез изпарение и при транспирацията на растенията.

Друга система са биоезерата, които са естествени или изкуствени плитководни водоеми (с дълбочина 0,5 – 3 m), предназначени за пречистване на отпадъчни води. Лагуните имат същото предназначение и се различават от биоезерта по своята по-голяма дълбочина (над 4 m). При правилна експлоатация (предписано органично натоварване) биоезерата и лагуните осигуряват много висок пречиствателен ефект по отношение на БПК, азот и фосфор.

Влажните зони са използвани за пречистване на отпадъчни води по целия свят от стотици години. Съществуват исторически сведения, че в Китай този подход съществува още от 2000 г. пр.н.е. Едва през петдесетте години на миналия век, свойствата на изкуствените влажни зони (ИВЗ, constructed wetlands) са проучени детайлно, първоначално в Института Макс Планк от Kathe Seidel и по-късно в университета Гьотинген, съвместно с Rheinhold Kichuth. ИВЗ са инженерни съображения, близки до природни местообитания, предназначени да пречистват отпадъчни води по природосъобразен начин. Състоят се от басейни с пропусклив субстрат, най-често пясък и чакъл, и растения хигрофити (най-често тръстика, папур, ирис и др.). Основното им приложение е да третират битови отпадъчни води, но са подходящи и за промишлени води, както и за дъждовни води. Замърсителите се отстраняват чрез комплекс от физични, химични и биологични процеси. Растенията играят ключова роля в процесите на пречистване, предоставяйки субстрат и подходящи микроместообитания за микроорганизмите и филтрацията на водите. Типичната ИВЗ с хигрофити е плитък басейн с почва с дебелина 20 – 30 cm и дълбочина на водата 20 – 40 cm. Отпадъчната вода преминава през влажната зона и се пречиства в резултат на процеси като седиментация, филтрация, окисление, редукция, адсорбция и утаяване, след което се оттича. Жизнената дейност на микроорганизмите и техният метаболизъм са в основата на функционирането на ИВЗ като пречиствателно съоръжение. Те са основен фактор за намаляване на органичния въглерод и някои биогенни замърсители. Микробиалната активност включва трансформация на неразтворими органични и неорганични вещества в разтворими, променящи редокспотенциала на субстрата, както и процеси на нитрификация/денитрификация на амоняка и азота.

Различават се три основни типа ИВЗ:

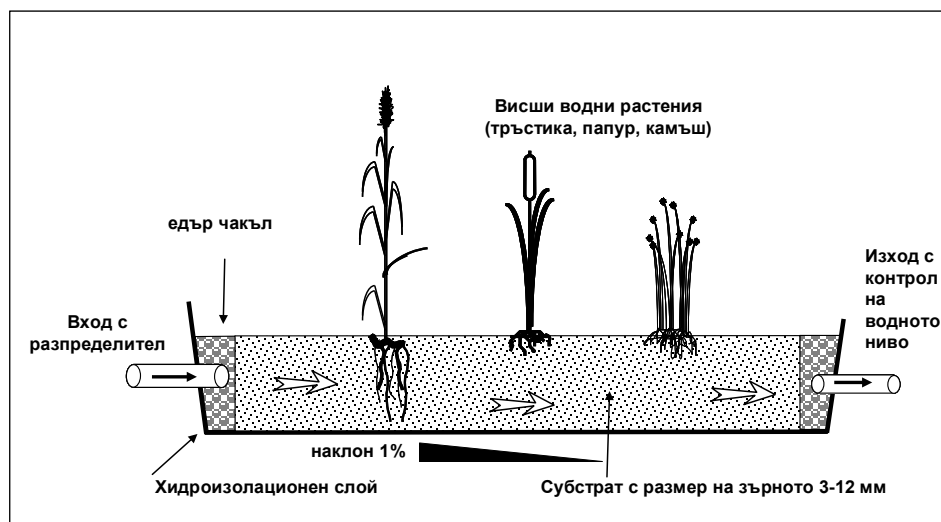
- със повърхностен поток (с открито водно огледало; Surface Flow Constructed Wetlands);
- със субстратен поток (ССП);
- хибридни системи, които комбинират горните два типа.

Първият тип ИВЗ са с висока гъстота на макрофитите и имат отворени водни пространства. Наподобяват естествени езера и блата, и най-често се използват за третично, т.е. последно стъпало на пречистване. При вторият тип ИВЗ водното ниво се поддържа под повърхността. Могат да бъдат разделени на такива с хоризонтален ток, които се захванват с отпадъчни води непрекъснато (Фиг. 1), и с вертикален ток, при които захванването е периодично.

Характерни са предимно анаеробни процеси. Намират приложение, както за първично, така и за вторично ниво на пречистване. Макрофитите индиректно подпомагат важни процеси като изолация по време на студени периоди, предоставят субстрат за прикрепените бактериални видове, освобождават през корените си вещества с антимикробни свойства. Директната им роля се състои в акумулирането на биогени в биомасата.

Различните групи водни растения обуславят специфични процеси в ИВЗ. Така например свободно плаващите макрофити са високо продуктивни и принадлежат към най-бързо развиващите се растения. Поддръжката на ИВЗ от такъв тип обаче изисква значителни разходи, поради което те не намират широко приложение. ИВЗ с видове с плаващи листа като *Nymphaea* spp. и *Nuphar lutea* също са с ограничено разпространение. Потопените макрофити от своя страна са

вкоренени в субстрата и усвояват биогени основно от него. Такива видове изискват добра аерация на водата и поради това се препоръчват за ИВЗ, предназначени за третично пречистване. Най-често се използват видовете *Myriophyllum spicatum* и *Ceratophyllum demersum*, които поддържат голямо количество перифитон, който има допълнителен ефект при очистването на замърсителите. Потопените и свободно плаващите видове показват и по-високи концентрации на хранителни вещества от видовете с плаващи листа. Освен това е установено, че ИВЗ, чиито клетки са засадени с повече от един вид хигро- и хидрофитни растения, притежават по-висока ефективност при отстраняване на патогенните микроорганизми.



Фиг. 1. Схема на ИВЗ със СПП с хоризонтален воден ток (по Терзийски, 2006).

Основните механизми, по които протича пречистването са представени на Табл. 1. В ИВЗ с повърхностен ток на водата органичните замърсители се отстраняват главно при метаболитните процеси на микроорганизмите, както на прикрепените, развиващи се около различните части на растенията, така и на свободно живеещите.

Табл. 1. Механизми на очистване в ИВЗ.

Замърсител	Механизъм на очистване
Суспендирани частици	Седиментация Филтрация
Разтворими органични замърсители	Биологична деградация (аеробна и/или анаеробна)
Фосфор	Адсорбция Усвояване от растенията
Азот	Амонификация, последвана от нитрификация и денитрификация Усвояване от растенията Адсорбция
Метали	Адсорбция и обмен на катиони Усвояване от растенията Окисление/редукция
Патогени	Естествено отмиране Хищничество UV радиация Отделяне на антибиотици от корените на растенията

ИВЗ-процесите са много ефективни при пречистването на неразтворени (суспендирани) вещества. Основната част от отстраняването им се осъществява в първите метри след системата за разпределение на водата, чрез филтрация и седиментация в субстрата. Обикновено отпадъчни води, преминали през ИВЗ са със съдържание на по-малко от 20 mg/L суспендирани вещества, независимо от първоначалната им концентрация на входа.

Отстраняването на БПК₅ в системите за биологично пречистване при естествени условия се осъществява частично чрез утаяване и задържане на суспендираната органична материя в празните пространства на субстрата. Разтворимото БПК₅ се намалява основно чрез микробиологично разграждане от микроорганизми, развиващи се върху повърхността на частиците на субстрата и в ризосферата на макрофитите. Малки количества кислород достигат до корените на растенията чрез дифузия и кореново отделяне, което създава локални аеробни зони, в които протичат аеробни процеси на разграждане на разтворимата органична материя. В тези процеси участват две основни функционални групи микроорганизми: аеробни хемоорганотрофи (хетеротрофи), които окисляват органичната материя и минерализират органичния азот до амониев; и хемоавтотрофни нитрифициращи бактерии, които окисляват амониевия азот първоначално до нитрити, а след това до нитрати.

Редуцирането на фосфора в ИВЗ се осъществява главно в резултат на неговото имобилизиране чрез химични реакции с алуминий, желязо и калций, минералните компоненти на глините, микробиологичната дейност, усвояването от растенията, както и чрез други физикохимични процеси, включително адсорбционната способност на субстратните частици. Фосфорът в отпадъчните води обикновено се среща под формата на ортофосфати, полифосфати и органично свързан фосфор. В резултат на биологичното окисление значителна част от органичния фосфор се минерализира и преминава в ортофосфатни форми (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}).

Патогените се редуцират по време на преминаването на отпадъчните води през системата чрез процеси като утаяване, седиментация, адсорбция от биомасата, хищничество, естествено отмиране. От гледна точка на човешкото здраве най-опасни са патогенните бактерии, паразити и вируси, като основните пътища за пренасянето на болести от отпадъчните води са директният контакт, аерозолният транспорт и включването им в хранителните вериги. Много от тези пътища са силно ограничени или липсват при ИВЗ, особено при системи със субстратен ток на водата и без открита водна повърхност. Наблюденията показват, че в райони с изградени ИВЗ за третиране на отпадъчни води не се установява повишена честота на заболявания или паразитни инфекции.

Определящо за продължителността на жизнения цикъл на ИВЗ е правилното ѝ управление. По литературни данни една правилно конструирана и поддържана ИВЗ за пречистване на БОВ работи без особени проблеми около 20 години след което се налага подмяна на субстрата със свеж и повторно засаждане на растителност. При системите с повече от една клетка се осигурява по-голяма гъвкавост за обслужване на самите клетки, част от които могат да бъдат в режим на покой. Има множество практически техники, които спомагат за удължаване живота на клетките на ИВЗ. Типична техника е оставянето в покой на една клетка чрез засушаване за определено време, докато другите са активни.

Развитието на човечеството е тясно свързано с водата, която е ключов ресурс за трите измерения на устойчивото развитие: икономическо, социално и екологично. Екосистемите от своя страна осигуряват естествения кръговрат на водата. Неустойчивото водопотребление и неефективното управление на водните ресурси водят до деградация на екосистемите и загуба на екосистемни услуги. В този контекст акцентът се поставя върху екоцентричен подход в управлението на водите и върху инвестиции за опазване и възстановяване на екосистемите.

Екологичното законодателство на ЕС в областта на водите включва десетки Директиви като основните са обобщени по-долу.

Рамковата Директива за Води (Директива 2000/60/ЕС) очертава рамката от действия и мерки в областта на водната политика на ЕС. Директивата е създадена за защита на повърхностните (вътрешни, трансгранични, крайбрежни) и подземните води с цел:

- да се предотврати по-нататъшното влошаване качеството на водите, да се осигури опазване и подобряване на състоянието на водните екосистеми и на екосистемите от сухите и заблатените райони (влажни зони), директно зависими от водните екосистеми;
- да се осигури устойчивост на водоползването чрез дългосрочно опазване на количествените и качествените параметри на водните ресурси;
- да се достигне по-висока степен на защита и подобрене състоянието на водната околна среда чрез специфичните мерки за постепенно снижаване на водните емисии или неволните изливания, съдържащи опасни вещества;
- да се осигури прогресивно снижаване на замърсяването на подземните води, да се предотврати по-нататъшното им замърсяване и да се смекчат вредните ефекти от наводненията и сушите.

Основни принципи при управлението на водните ресурси съгласно Директивата са:

- информиране и консултиране с обществеността и всички заинтересовани страни;
- отчитане на местните географски, климатични и стопански особености на страните членки на ЕС при внедряване на Рамковата директива;
- адаптиране на предвидените мерки и мероприятия с достиженията на научния и техническия прогрес.

Директивата относно управление на качеството на водите за къпане (Директива 2006/7/ЕО) определя мониторинга и класификацията на качеството на водите за къпане, тяхното управление и предоставянето на информация на обществеността.

Директивата за пречистване на отпадъчни води от населени места (Директива 91/271/ЕО) касае събирането, пречистването и изпускането на отпадъчни води от населени места (битови, производствени и дъждовни). Страните-членки следва да гарантират, че всички агломерации са снабдени с колекторни системи за отпадъчните води в населени места, както следва: за тези с еквивалент жители (ЕЖ) над 10 000 – най-късно до края на 2010 г.; съответно при ЕЖ между 2 000 и 10 000 – най-късно до 2015 г. Директивата изисква определяне на т.н. „чувствителни зони“ и „по-малко чувствителни зони“ на територията на всяка от страните-членки на ЕС и в зависимост от чувствителността на водоприемника, необходимата степен на пречистване на отпадъчните води, изпускани в него е различна. Директивата е изменена с Директива 98/15/ЕО.

Директивата относно оценката и управлението на риска от наводнения (Директива 2007/60/ЕО) има за цел да определи рамка за оценка и управление на риска от наводнения, като се стреми да намали неблагоприятните последици за човешкото здраве, околната среда, културното наследство и стопанската дейност, свързани с наводненията. Плановите за управление на риска от наводнения следва да се съсредоточат върху предотвратяването, защитата и подготвеността. С оглед да се предостави повече място на реките, държавите – членки следва да вземат под внимание, където това е възможно, поддържането и/или възстановяването на заливните равнини. Елементите на плановите за управление на риска от наводнения се преразглеждат периодично и при необходимост се актуализират, като се отчитат вероятните последици от промяната на климата върху появата на наводнения. Принципът на солидарност е от голямо значение в контекста на управление на риска от наводнения.

Директивата за създаване на рамка за действие на Общността в областта на политиката за морска среда (Рамкова директива за морска стратегия 2008/56/ЕО) установява рамка, в границите на която държавите – членки предприемат необходимите мерки, за да се постигне и поддържа добро състояние на околната среда в морската среда до 2020 г. За целта се разработват и прилагат морски стратегии, които трябва да се основават на екосистемен подход при управлението на човешките дейности и да гарантират, че общият натиск на тези дейности е в границите, съвместими с постигането на добро състояние на околната среда, както и че не е застрашена способността на морските екосистеми да се справят с предизвиканията от човека промени, като в същото време позволяват устойчивото използване на морските продукти и услуги от сегашното и от бъдещите поколения. Морските води под суверенитета и юрисдикцията на държавите-членки на ЕС включват води в Средиземно море, Балтийско море, Черно море и североизточния Атлантически океан, включително водите около Азорските острови, Мадейра и Канарските острови. Поради трансграничната същност на морската среда държавите – членки следва да си сътрудничат, за да осигурят координираното разработване на морски стратегии за всеки морски регион или подрегион.

Законът за водите е националният нормативен акт, който урежда собствеността, управлението и опазване на водите на територията на Република България като общонационален, неделим природен ресурс. Законът се отнася за повърхностните води и водите на устията на реките, подземните, включително минералните води, вътрешните морски води и териториалното море. Изключително право за управление на водите на национално ниво е дадено на Министерския съвет чрез Министерството на околната среда и водите. Целта на закона е да осигури интегрирано управление на водите в интерес на обществото и за опазване на здравето на населението (чл. 2). За управлението на водите на национално ниво Министерският съвет приема национални програми в областта на опазването и устойчивото използване на водите. Важна част от управлението на водните ресурси е въвеждането на разрешителния режим за ползване и водоползване на водни обекти, регламентирано чрез Закона за водите. Около водоизточниците и съоръженията за питейно-битово водоснабдяване и водоизточниците за минерални води, се установяват санитарно-охранителни зони. Отделен член от закона забранява в крайбрежните райони складиране на пестициди, депониране и третиране на отпадъци, строителство на животновъдни ферми, строителство на стопански и жилищни постройки, миенето и обслужването на транспортни средства и техника, засаждането на трайни насаждения с плитка коренова система.

В заключение, законодателството на Европейската общност и националното законодателство – Закон за опазване на околната среда, Закон за водите, наредби, националните стратегически и планови документи – Национална стратегия за управление и развитие на водния сектор, Планове за управление на речните басейни, Планове за управление на риска от наводнения, Морска стратегия, национални програми в областта на опазването и устойчивото развитие на водите, са рамката, в която се извършва управлението на водите в България. В допълнение следва да се има предвид, че България е страна и по няколко международни конвенции в областта на водите: Конвенция за сътрудничество при опазването и устойчивото използване на р. Дунав, Конвенция за опазване на Черно море от замърсяване и Конвенция за опазване и използване на трансграничните водни течения и международните езера.

При управлението на водите в България се следват принципите на интегрираното управление и изискванията на Рамковата директива за водите (2000/60/ЕС). Основната цел е опазване на водните ресурси, осигуряване на тяхното устойчиво използване и постигане на добро екологично и химично състояние на водните тела. Управлението се реализира чрез ясно разграничени функции между централни и териториални органи на изпълнителната власт.

Водеща роля има Министерството на околната среда и водите (МОСВ), което разработва и прилага държавната политика в областта на управлението и опазването на водите. МОСВ отговаря за нормативната уредба, стратегическото планиране, координацията с европейските институции и изпълнението на международни ангажименти. Министерството утвърждава плановете за управление на речните басейни и програмите от мерки, както и осъществява контрол върху дейността на подчинените му структури.

Практическото управление на водите по териториален принцип се осъществява от Басейновите дирекции, които са основни органи за управление на ниво речен басейн. В България те са четири – за Дунавския, Черноморския, Източнобеломорския и Западнобеломорския район (Табл. 1). Басейновите дирекции издават разрешителни за водовземане и заустване, водят регистри на

водоползвателите, разработват и прилагат планове за управление на речните басейни и следят за количественото и качествено състояние на водните тела. Планът за управление на речните басейни (ПУРБ) е основният стратегически документ за интегрирано управление на водите на ниво речен басейн и се разработва в съответствие с изискванията на РДВ. Основната цел на ПУРБ е постигане и поддържане на добро екологично и химично състояние на повърхностните и подземните води, както и предотвратяване на тяхното влошаване. Планът съдържа характеристика на речния басейн, анализ на антропогенните въздействия и натиска върху водните тела, оценка на риска от непостигане на екологичните цели, програми за мониторинг и програма от мерки за подобряване на състоянието на водите. ПУРБ включва също икономически анализ на водоползването и механизми за обществено участие. Плановите се разработват за шестгодишен период и се актуализират циклично. Планът за управление на риска от наводнения (ПУРН) е стратегически документ, насочен към намаляване на неблагоприятните последици от наводненията върху човешкото здраве, околната среда, културното наследство и икономическата дейност. Той се изготвя в съответствие с Директивата за наводненията (2007/60/ЕС) и се базира на предварителна оценка на риска от наводнения, карти на заплахата и риска от наводнения, както и анализ на уязвимостта на засегнатите територии. ПУРН определя цели за управление на риска и включва мерки за превенция, защита и повишаване на готовността, като пространствено планиране, инженерни и природосъобразни решения, системи за ранно предупреждение и информираност на населението. Подобно на ПУРБ, ПУРН се разработва и актуализира за шестгодишен програмен период, като координацията между двата плана е ключова за устойчивото управление на водите.

Табл. 1. Басейнови дирекции в България

Басейнова дирекция	Основни реки и водосбори	Район за управление на водите	Териториален обхват
БД „Дунавски район“	Дунав и притоците му: Искър, Янтра, Осъм, Вит, Лом, Огоста, Тимок	Дунавски район за управление на водите	Северна България и части от Западна България
БД „Черноморски район“	Камчия, Провадийска, Батова, Ропотамо, Велека, Дяволска	Черноморски район за управление на водите	Източна България и Черноморското крайбрежие
БД „Източнобеломорски район“	Марица и притоците ѝ: Тунджа, Арда, Вьча, Чепеларска	Източнобеломорски район за управление на водите	Южна и Югоизточна България
БД „Западнобеломорски район“	Струма, Места и техните притоци	Западнобеломорски район за управление на водите	Югозападна България

Контролът по спазване на екологичното законодателство и условията в разрешителните се осъществява от Регионалните инспекции по околната среда и водите (РИОСВ). Те извършват проверки на обекти и дейности, които могат да окажат въздействие върху водите, налагат административни мерки и санкции при нарушения и участват в процедурите по оценка на въздействието върху околната среда (ОВОС) и екологична оценка.

Научно-методичната и мониторингова основа на управлението на водите се осигурява от Изпълнителната агенция по околна среда (ИАОС) и нейните регионални лаборатории (РЛ). Те извършват мониторинг на повърхностните и подземните води, анализират физикохимични, химични и биологични показатели, поддържат националните бази данни и изготвят оценки за състоянието на водните тела. Данните от мониторинга служат като основа за управленски решения и за отчитане пред национални и европейски институции.

Съгласно Националната стратегия за управление и развитие на водния сектор от 2012 г. и Плана за действие към нея в краткосрочна (2013 – 2015 г.), средносрочна (2016 – 2021 г.) и дългосрочна (2022 – 2037 г.) перспектива, в България се отчита недостиг на достатъчно пречиствателни станции за питейни води (ПСПВ), както и остаряла водопреносна мрежа за повърхностните водоизточници. В допълнение се посочва замърсяване от антропогенното въздействие и фонов замърсяване за подземните водоизточници. В допълнение се посочва наличие на замърсяване, обусловено от антропогенно въздействие и фонов замърсяване на подземните водоизточници. Допълнителен проблем представляват недостатъчният брой и капацитет на пречиствател-

ните станции за отпадъчни води (ПСОВ), както и екологично несъобразеното земеползване и промишлена дейност.

Същевременно България е една от най-богатите в Европа страни на минерални води, което позволява тяхното многостранно използване. Капацитетът на хидроенергийните системи задоволява комплексните нужди на водоползватели и водопотребители (напояване, питейно-битово и промишлено водоснабдяване, рекреация, рибовъдство), както и нуждите на енергийния сектор. Големите хидроенергийни съоръжения се поддържат в много добро техническо състояние, а страната се характеризира с високо ниво на изграденост на язовири. Идентифицираните потребности в някои ограничени райони на страната могат да бъдат удовлетворени чрез изграждане на нови язовири или чрез надграждане и оптимизация на съществуващите съоръжения.

Преобладаващата част от действащите водоснабдителни активи (водовземни съоръжения, водопроводна мрежа, помпени станции, хидрофори, водомери и др.) са въведени в експлоатация преди 1980 г. и са изградени от материали, основно етернитови и стоманени тръби, чийто експлоатационен срок е изтекъл. В значителна част от водопроводната мрежа се наблюдават напреднали процеси на корозия и натрупване на отлагания, което създава рискове за качеството на питейната вода. Констатираните загуби на вода са изключително високи и се дължат основно на физически течове – както видими, така и скрити – от водопроводната мрежа, както и от кранове, връзки, резервоари и различни шахти. Значителни обеми вода се губят и при изпразване и пълнене на мрежата по време на аварии, поради недобра конструкция и/или преоразмеряване на системата, както и поради неефективна работа на граничните кранове между хидравличните зони.

Почти всички изградени и експлоатирани ПСПВ (около 46% от населението е свързано към ПСПВ) са с остаряло оборудване и се нуждаят от спешна реконструкция и модернизация, особено на филтърните съоръжения, както и от въвеждане на автоматизиран контрол върху остатъчните количества на използваните реагенти (хлор и алуминий). Процентът на изграденост на канализационната мрежа в страната е сравнително нисък (около 61%), като значителна част от нея е с изтекъл амортизационен срок и висок дял на инфилтрация на чужди води. Нивото на изграденост на ПСОВ също остава недостатъчно. Почти всички ПСОВ, изградени и въведени в експлоатация в края на миналия век, се нуждаят от реконструкция и технологично обновяване. В много случаи се установява несъответствие между степента на изграденост и проводимостта на канализационната мрежа и капацитета на съществуващите ПСОВ.

Значителна част от хидромелиоративните съоръжения в страната са стари и амортизирани. Последните такива системи са изградени в началото на 90-те години на XX век, като болшинството датират от 60-те и 70-те години, а някои – още от 50-те години на миналия век. Поради това те не могат да функционират ефективно. Използваемостта на капацитета на хидромелиоративните системи през последното десетилетие се оценява на под 10%, което се дължи основно на драстичното намаляване на площите с поливни култури и промяната в тяхната структура.

Управлението на качеството на водите в България изисква интегриран и дългосрочен подход, който съчетава модернизация на водоснабдителната и канализационната инфраструктура, ефективен мониторинг, контрол върху източниците на замърсяване и прилагане на принципите на устойчивото и екоцентрично управление на водните ресурси. В контекста на европейското законодателство и Рамковата директива за водите приоритет следва да се даде на опазването на водните екосистеми, намаляването на загубите на вода, подобряването на пречиствателните процеси и възстановяването на нарушените водни тела. Само чрез координирани действия между институциите, инвестиции в инфраструктура и прилагане на научно обосновани управленски решения може да се гарантира дългосрочното качество и устойчиво използване на водните ресурси в страната.

Отпадни води – произход, състав и основни показатели за замърсеност. Отпадните води (ОВ) представляват води, чийто физикохимичен и биологичен състав е променен в резултат на човешка дейност и които съдържат разтворени и суспендирани замърсители от органичен и неорганичен произход. Те включват битови, промишлени и селскостопански води, както и смесени потоци, в които често присъстват дъждовни и инфилтрационни води. Пречистването на отпадни води се разглежда като контролирано преобразуване на замърсителите чрез метаболитната активност на микроорганизми, при което органичните и неорганичните вещества се използват като източници на енергия и хранителни елементи. Основната цел е редуциране на органичното натоварване, биогенните елементи и микробиологичния риск до нива, съвместими с изискванията за заустване или повторна употреба.

Показатели за замърсеност на ОВ. Основните показатели, които характеризират ОВ и служат като база за избор на подходящ метод за тяхното пречистване са:

Органолептични. Органолептичните показатели (цвят, мирис и външен вид) дават първоначална качествена информация за произхода и степента на замърсяване на отпадните води. Потъмняването на водите, както и наличието на неприятни миризми, са индикатори за развитие на анаеробни процеси и образуване на редуцирани съединения като сероводород и амоняк. Тези характеристики имат ориентировъчен характер, но са важни при първичната оценка на състоянието на водите и избора на подходяща технология за пречистване.

Физикохимичните показатели включват температурата, рН, съдържанието на разтворен кислород и мътност и др. Температурата оказва влияние върху скоростта на биохимичните реакции и активността на микроорганизмите, като повишаването ѝ ускорява метаболитните процеси, но едновременно с това намалява разтворимостта на кислорода. рН е критичен параметър за протичането на биологичните процеси, тъй като повечето микроорганизми, участващи в пречистването, функционират оптимално в неутрална или слабо алкална среда. Разтвореният кислород определя аеробния, аноксичния или анаеробния характер на процесите и насочва метаболитните пътища на разграждане на органичната материя. Мътността е свързана основно със съдържанието на суспендирани вещества – неразтворими органични и неорганични частици, които могат да пренасят адсорбирани органични съединения, метали и микроорганизми и поради това влияят върху ефективността на механичното и биологичното пречистване; те се отстраняват предимно чрез механично пречистване и утаяване.

Химична потребност от кислород (ХПК). ХПК е интегрален показател за съдържанието на окисляеми, главно органични вещества във водите и намира широко приложение при оценката на качеството на повърхностни, подземни и отпадъчни води, както и при контрола на пречиствателни съоръжения. Показателят се определя чрез химично окисление на съдържащите се във водата вещества със силен окислител, като количеството изразходван окислител се приравнява по стехиометричен електронен баланс към еквивалентно количество кислород и резултатът се изразява в $\text{mg O}_2/\text{L}$. В зависимост от използвания окислител се различават бихроматна и перманганатна окисляемост. При бихроматната окисляемост органичните вещества се окисляват с калиев бихромат в силно кисела среда при нагриване, като методът осигурява почти пълно окисление на органичната материя и се приема за референтен. Получените стойности на ХПК позволяват ориентировъчно определяне на съдържанието на органична материя чрез емпирична зависимост между масата на органичната материя и количеството кислород, необходимо за нейното пълно окисление.

Биохимична потребност от кислород (БПК) представлява количеството кислород, консумирано от аеробни микроорганизми при биологичното окисление на органичните вещества при стандартни условия (най-често БПК₅ при 20°C). Този показател отразява биологично разградимата фракция на органичното замърсяване и е пряко свързан с ефективността на аеробните биотехнологични процеси. Съотношението БПК/ХПК служи като индикатор за пригодността на водите за биологично пречистване.

Общ азот. Азотът в отпадните води присъства в органична форма, като амониев, нитритен и нитратен азот. Той е ключов биогенен елемент, но при високи концентрации води до евтрофикация на водните екосистеми и токсични ефекти. Биологичното отстраняване на азота се осъществява чрез последователни процеси на нитрификация и денитрификация, изискващи строго контролирани аеробни и аноксични условия.

Изборът на подходящ метод за пречистване се основава на натоварването, концентрацията на замърсителите, наличната площ и изискванията към качеството на пречистените води. Биологичните методи за пречистване условно се разделят на екстензивни и интензивни. Двата подхода се различават по степента на технологичен контрол, концентрацията на биомасата и скоростта на протичащите биохимични процеси.

Екстензивни методи за биологично пречистване на ОВ. Основават се на използването на естествени или слабо модифицирани екосистеми, в които разграждането на замърсителите се осъществява от спонтанно формирани микробни консорциуми. Процесите протичат при минимална намеса и ограничен технологичен контрол, като основните фактори, определящи ефективността им, са климатичните условия, температурата, светлината и времето на задържане. Обща характеристика на екстензивните методи е необходимостта от значителни площи и сравнително дълги хидравлични времена на престой, което обуславя ниската скорост на пречистване, но и ниските експлоатационни разходи. Към тях се отнасят:

Биологични езера. В биологичните езера пречистването се осъществява чрез съвместната дейност на аеробни, факултативно анаеробни и анаеробни микроорганизми, разпределени по дълбочина на водния слой. В повърхностните зони доминират аеробни процеси, подпомагани от фотосинтезата на водорасли, докато в по-дълбоките слоеве протичат анаеробни процеси на минерализация на органичната материя. По този начин се реализира постепенно намаляване на органичното натоварване и частично отстраняване на азотните съединения.

Оросителните и филтрационните полета използват почвата като естествен филтър и реактор, в който замърсителите се адсорбират и разграждат от богатата почвена микрофлора. Основна роля играят аеробните бактерии, актиномицетите и плесенните гъби, като най-интензивните процеси протичат в повърхностните, добре аерирани слоеве.

Изкуствени влажни зони (конструирани влажни зони) представляват екстензивни системи, които имитират процесите във влажни екосистеми. Те включват плитки басейни със субстрат (чакъл/пясък/почва), засадени с висши водни растения (напр. *Phragmites australis*, *Typha*, *Scirpus*), като пречистването се реализира чрез микробни процеси в ризосферата, утаяване, адсорбция и усвояване на биогенни елементи. На практика се прилагат за битови и слабо натоварени промишлени отпадни води, инфилтрати от депа и довършващо третиране на вторично пречистени води, особено в малки населени места и децентрализирани системи, където са приоритет ниската енергийна консумация и опростената експлоатация.

Предимствата на екстензивните методи се изразяват в простото конструктивно оформление, ниската енергийна консумация и високата устойчивост. Основните им недостатъци са свързани с голямата необходима площ, зависимостта от сезонни фактори и ограничената възможност за прецизен контрол на процесите, което ограничава приложението им при високо натоварени води и строги изисквания към качеството на ефлуента.

Интензивни методи за пречистване на ОВ. Те представляват основния технологичен подход в съвременните пречиствателни станции, когато се изисква висока степен на контрол, компактност на съоръженията и надеждно постигане на нормативно определени показатели за качество на пречистената вода. Характеризират се с висока концентрация на активна биомаса, ускорени кинетични процеси и възможност за прецизно управление на основните технологични параметри като време на престой, кислороден режим, натоварване и температура. За разлика от екстензивните системи, при които процесите протичат при близки до естествените условия, интензивните технологии използват изкуствено създадена среда, която оптимизира микробната активност и позволява значително намаляване на необходимите площи.

Технологичните процеси за интензивно пречистване на ОВ включват три етапа: механично, биологично аеробно и биологично анаеробно пречистване. Постъпващите в пречиствателните станции отпадни води се подлагат на механично пречистване, чиято цел е отстраняване на едрите водонеразтворими примеси, минерални частици, пясък и чакъл, както и плаващи вещества и „леки“ фракции. Механичните методи включват пресяване през решетки и сита, утаяване в първични утайтели и регулиране на скоростта на водния поток за гравитационно отделяне

на твърдите частици. Този етап има подготвителен характер и е насочен към намаляване на механичното натоварване и осигуряване на стабилни условия за последващите биологични процеси. Когато механичните методи не са достатъчни, като допълнителен етап може да се включи химично пречистване на ОВ за отстраняване на фино дисперсни, колоидни или специфични замърсители. Основните химични процеси включват коагулация, флокулация и дезинфекция. Коагулацията се използва за дестабилизиране на колоидните частици чрез коагуланти и образуване на по-едри агрегати, а флокулацията подпомага тяхното нарастване и отделяне чрез утаяване. Дезинфекцията се прилага за намаляване на микробиологичния риск при заустване или повторна употреба на пречистените води. Химичните методи намират приложение и в предварителните етапи на пречистване и в комбинирани технологични схеми при отпадни води със сложен или специфичен състав.

Интензивните методи за аеробно пречистване на ОВ се основават на метаболитната активност на спонтанно възникнала биоценоза в състава, на която около 70% представляват живи микробни клетки и до 30% – твърди неорганични частици. В зависимост от конструктивните особености на апаратите за аеробно пречистване на ОВ, спонтанно възникналата биоценоза се нарича активна утайка или биофилм. Качественият състав на биоценозата се изменя в зависимост от състава на постъпващите за пречистване ОВ и конкретния технологичен режим на пречистване. Интензивното аеробно пречистване на ОВ може да се осъществи в два типа реакторни системи – аеротанкове и биофилтри. Пречистването в аеротанковете се осъществява с активна утайка, а в биофилтрите – с биофилм.

Най-широко прилаганата технологична схема за аеробно пречистване на ОВ включва: първична преработка на ОВ за механично пречистване в метални сита и първичен утаител; вторична преработка на ОВ за биологично пречистване в аеротанк и вторичен утаител и третична обработка за аеробно обезвреждане на активните утайки от аеробния стадий. Аеротанковете (биобасейни) представляват затворени железобетонни резервоари с дълбочина 2–4 m, ширина 5–8 m и дължина до 150 m, снабдени с аериращи устройства. В аеротанковете постъпващите за пречистване ОВ се инокулират с флокули от активната утайка на биодegradантите. В зависимост от хидродинамиката на потоците и начина на смесване на ОВ и активната утайка, аеротанковете биват: с изтласкване, със смесване, комбиниран тип и с имобилизирани клетки. В реакторите с изтласкване активната утайка се смесва с ОВ при постъпването им в апарата, когато концентрацията на замърсителите е най-висока. Развитието на културата от биодegradанти се подчинява на закона на Моно за периодичен микробен растеж в дълбочинни условия. Недостатък на този тип аеротанкове са високата хетерогенност на условията в различните зони на апарата и необходимостта от предварително разреждане на ОВ поради риск от умиране на активната утайка вследствие токсичното действие на замърсителите. Тези недостатъци са преодоляни в известна степен в аеротанковете със смесване, при които ОВ и активната утайка се смесват постоянно по цялата дължина на апарата. По този начин се поддържа постоянна концентрация на замърсителите в целия обем на аеротанка, а развитието на биодegradантната култура се подчинява на закономерностите на дълбочинна хемостатна култура. В реакторите от смесен тип се съчетават особеностите на аеротанковете с изтласкване и със смесване. В първата част активната утайка контактува с ОВ с висока степен на замърсеност и се развива като дълбочинна периодична култура, а във втората част апаратът функционира като смесител, при който активната утайка се развива по законите на дълбочинното непрекъснато хемостатно култивиране. Аеротанковете с имобилизирани клетки действат на принципа на изтласкването, като в тях са разположени инертни носители („четки“), върху които се адсорбират клетките от активната утайка и се формира биофилм.

Състав на активната утайка. Активната утайка представлява тъмночервени до кафяви флокули, съставени основно от бактерии, протозои и в по-малки количества червеи, плесенни гъби, дрожди и водорасли. Микроорганизмите са адхезирани към повърхността на твърди частици чрез продуцирани слизести вещества (зооглеи), които обединяват различни биодegradиращи микроорганизми в общи агрегати. Ключова роля за формирането на зооглеята видът *Zooglea ramigera* – аеробни, Грам-отрицателни бактерии, устойчиви на продължителни анаеробни условия, като при наличие на кислород възстановяват нормалния си метаболизъм. Те разграждат органичните замърсители в ОВ и секретират полизахариден гел, действащ като свързващ агент между микробните клетки и твърдите частици и предизвикващ образуване на флокули в аеротанковете. Те притежават способност да акумулират фосфор в клетките си под формата на гранули, което допринася за отстраняването на фосфорсъдържащи органични съединения, вклю-

чително пестициди и миешки средства, както и да усвояват редица ксенобиотици. В състава на активната утайка участват и бактерии от родовете *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Thiobacillus* и др., които осигуряват окислителното разграждане на органичните вещества, процесите на нитрификация и денитрификация, както и трансформации на сяра и желязо. Съотношението между капсулообразуващите и некапсулообразуващите бактерии в активната утайка се определя чрез коефициента на зооглейност (Kz). Някои нишковидни микроорганизми, като *Thiotrix* spp. и *Sphaerotilus natans*, могат да предизвикат нежелани процеси на набъбване на активната утайка, които нарушават флокулирането и утаяването ѝ. Съществено значение за нормалното функциониране на активната утайка имат протозоите, които регулират числеността и състава на бактериалната популация. Качествените активни утайки съдържат приблизително 10–15 протозойни организми на 10^6 бактерии, като това съотношение се изразява чрез коефициента на протозоиност (Kp). Ефективността на аеробното пречистване се повишава с нарастване на стойностите на Kz и Kp и зависи от температурата, рН, концентрацията на разтворен кислород, интензивността на разбъркване, количеството и възрастта на активната утайка.

Аеробно пречистване на ОВ в биофилтри. Биофилтрите са съоръжения за аеробно пречистване на ОВ, при които, микроорганизмите се намират в неподвижно състояние. Представяват цилиндрични стоманено-бетонни съоръжения на дъното, на които има монтирана решетка, върху която е разположен порест инертен материал. По повърхността му са адсорбирани клетките на м.о.-биодegradанти под формата на биофилм, т.е. клетките се намират в имобилизирано състояние. ОВ се подават през оросителни устройства, осигуряващи равномерен контакт на ОВ с повърхността на биофилма. Скоростта на подаване на ОВ в биофилтъра е ниска, което осигурява пълноценно разграждане на замърсителите чрез по-продължителен контактът между двете фази. Аерацията на биофилма се осъществява чрез подаване на въздух отдолу нагоре, в противоток на постъпващата в биофилтъра ОВ. В конструктивно отношение биофилтрите могат да бъдат с естествена или принудителна аерация. Биофилмът се образува бавно за $\approx 15 - 30$ денонощия, през които се подават ОВ с по-ниска концентрация на замърсители. Това създава условия клетките постепенно да се адаптират към условията в биофилтъра, биофилмът да се формира за всяка конкретна партида ОВ и по този начин да се осигури най-пълно разграждане на замърсителите. Счита се, че оптималната височина на биофилма е 2,0 – 2,5 cm, защото при по-голяма дебелина се нарушава дифузията на кислорода до клетките. Основен недостатък на биофилтрите е осигуряването на адекватна аерация, респективно концентрация на кислород, за биодegradантите. В повърхностните слоеве на биофилма условията са аеробни, но в дълбочина се създават анаеробни условия. Поради това пречистването на ОВ в биофилтрите не трябва да се разглежда като строго аеробен процес, а по-скоро като комбинация от аеробно и анаеробно разграждане. Дебелината на биофилма се регулира чрез дебита на подаваната за пречистване ОВ или чрез използването на два последователно свързани биофилтъра. В качествено отношение микробният консорциум в биофилма е по-разнообразен в сравнение с активната утайка. Характерно за биофилмите е интензивното развитие на плесенни гъби, които в активната утайка са в незначителни количества. По повърхността на биофилма се срещат плесени от родовете *Aspergillus*, *Fusarium* и *Geotrichum*, а в дълбочина – *Sepedonium* и *Ascoideae*. Разрастването на гъбния мицел може да затрудни аерацията и да доведе до задръстване на биофилтъра, което е недопустимо, тъй като ще възпрепятства процесите на биофилмообразуване. Освен гъби, биофилмът съдържа бактерии, сходни с тези в активната утайка (*Zooglea*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Nitrosomonas*, *Nitrococcus*, *Nitrobacter*, *Enterobacter*, *Sarcina* и др.), както и водорасли от групите *Cyanophyceae* и *Chlorophyceae*. Предимствата на аеробното пречистване в биофилтри са високата ефективност при отстраняване на органичните замърсители чрез конкретно формирана биоценоза и ниските експлоатационни разходи. Недостатъците се свързват с влошен кислороден масообмен при нарастване дебелината на биофилма и ограничена пригодност за отпадни води с висока концентрация на органични съединения, тъй като това води до неконтролиран микробен растеж и риск от задръстване; поради това често се налага предварително разреждане.

Анаеробното пречистване на ОВ има за цел преработването и обезвреждането на отработените активни утайки, отделени във вторичните утаители и представлява заключителният етап от цялостната технологична схема за пречистване на ОВ. При анаеробната ферментация (АФ) на органичните замърсители в активните утайки се осъществява конверсията на органичните макромолекули до метан, CO_2 , H_2 и незначителни количества от други газове под действието на саморегулираща се смесена симбиотична микробна култура. Тя включва три групи бактерии:

Ацидогенните бактерии продуцират екстрацелуларни ензими с хидролитично действие – протеази, липази, целулази, пектинази и др., които хидролизират сложните макромолекули на високомолекулните органични замърсители до органични киселини, мастни киселини, алкохоли, кетони, витамини и газове. Към тази група се отнасят факултативно анаеробни и облигатно анаеробни Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии от родовете *Clostridium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* и някои видове от разред Enterobacterales.

Ацетогенните бактерии разграждат образуваните от ацидогенните бактерии нискомолекулни мастни киселини и алкохоли, като продуцират оцетна киселина, H_2 , CO_2 , NH_3 и малки количества H_2S . Към групата на ацетогените бактерии се отнасят Грам-положителни и Грам-отрицателни коковидни и пръчковидни бактерии от родовете *Acetobacter*, *Clostridium*, *Butyrobacterium*, *Synthrobacter*, *Synthromonas* и др.

Метаногенните бактерии са представени от облигатни анаеробни Грам-положителни и Грам-отрицателни пръчковидни, коковидни и извити бактерии от родовете *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanosarcina* и *Methanospirillum*. От продуктите на ацетогенните бактерии, метаногенните синтезират метан по уравнението: $4H_2 + CO_2 = CH_4 + 2H_2O$.

За нормалното протичане на метановата ферментация метаногенните бактерии се нуждаят от макроеlementи C, P, N, S, K, Na, органични субстрати като аминокиселини, витамини и биостимулатори. Съдържанието на отделните хранителни субстрати трябва да осигурява съотношение C:N:P = 93:5:1. Оптималната стойност на pH за провеждане на процеса е в интервала 7.0 – 7.8. В зависимост от температурния оптимум микрофлората, която участва в процесите на анаеробно пречистване на ОВ се разделя на мезофилна (32 – 38°C) и термофилна (50 – 55°C). Понастоящем промишлените процеси за анаеробно пречистване на ОВ се провеждат при мезофилни условия, с цел избягване на необходимостта от загряване на преработваните утайки. Процесите на обезвреждане на активните утайки се интензифицират чрез прилагане на разбъркване, което има за цел да предотврати утаяването на биомасата и образуването на локални области с повишена киселинност. При оптимални условия за протичане процесът на анаеробна преработка на активните утайки е с продължителност 10 – 30 дни. Образуваната газова смес съдържа до 70% метан и CO_2 . В резултат на АФ обемът на отделяните утайки от пречиствателните станции за ОВ значително намалява, а съдържанието на органични замърсители в утайките се понижава с около 50 – 60%. След сушене утайките могат да се използват като тор, добавка към фуражите на животните или източник на енергия.

Твърдите отпадъци (ТО), подлежащи на биотехнологична преработка, представляват хетерогенна група материали с различен произход, състав и степен на биоразградимост. Техният вариабилен състав определя необходимостта от предварителна характеристика преди избора на метод за третиране. Според произхода си твърдите отпадъци, могат условно да бъдат разделени на: **Твърди битови отпадъци**, в чийто състав влизат както биоразградими, така и небiorазградими компоненти. За биотехнологичните процеси значение има преди всичко органичната им част, особено хранителните остатъци, хартията и други материали с високо съдържание на органично вещество. **Растителни отпадъци от селското стопанство**, като стъбла, листа, слънчогледови пити, семенни обвивки, царевични кочани и други лигноцелулозни материали. Те са богати на полизахариди и представляват важен възобновим ресурс за биотехнологична преработка. **Животински отпадъци**, които се отличават с по-сложен химичен състав, висока влажност, висок микробен товар и по-висок санитарен риск. **Отпадъци от хранително-вкусовата промишленост**, при които често се срещат органично богати субстрати като меласа, млечна суроватка, шротове, брашна и други съдържащи въглехидрати и белтъци материали. Те съдържат органична фракция, която може да бъде подложена на микробно разграждане, стабилизиране или целенасочена биоконверсия в продукти с практическа стойност.

Определящо значение за пригодността за биотехнологична преработка на ТО имат физични параметри като: **Плътност** – определя условията за транспортиране, складиране и технологична обработка на отпадъка. **Морфологичен състав** – показва съотношението между отделните компоненти и има съществено значение при избора на подходящ метод за преработка. **Фракционен състав** – характеризира размера на частиците и влияе върху смесването, аерирането и достъпността на субстрата за микроорганизмите. **Влажност** – ключов показател за протичането на биотехнологичните процеси, тъй като определя водния режим на средата и съществено влияе върху микробната активност.

Химичният състав определя пригодността на ТО за компостиране, анаеробно разграждане или за ензимна и микробна биоконверсия. Важни са съдържанието на органични вещества, минерални примеси, азот, фосфор, въглерод и реакцията на средата, тъй като определят хранителната обезпеченост и технологичната пригодност на субстрата. В зависимост от характера на органичната фракция отпадъците могат да съдържат лесноусвоими за микроорганизмите вещества, като белтъци и скорбяла, или по-устойчиви компоненти, които се разграждат по-бавно и изискват по-продължителна обработка.

Биологичните свойства също имат съществено значение, тъй като микробният състав на отпадъка определя възможността за протичане на биотермични процеси. Санитарното му състояние е важно при оценката на необходимостта от хигиенизиране и при избора на безопасна технология за преработка.

В зависимост от състава на органичната фракция и целта на обработка, основните биотехнологични методи за пречистване и оползотворяване на ТО могат да бъдат сведени до:

Анаеробно разграждане. Органичните отпадъци се разграждат в отсъствие на кислород с образуване на биогаз и стабилизиран остатък. Той е особено подходящ за субстрати с висока влажност и високо съдържание на лесноразградима органична материя, каквито са част от животинските отпадъци, утайките и някои кухненски отпадъци. Методът има двойно значение, тъй като съчетава обезвреждането на отпадъка с получаване на енергиен продукт. При практическото третиране на много влажни материали анаеробното разграждане често се включва в комбинирани схеми с последващо аеробно стабилизиране на остатъка.

Ензимна и микробна биодеградация на нишесте съдържащи твърди отпадъци. Тук се отнасят картофени обелки, царевични отпадъци, натрошен ориз, трици, брашна и други растителни материали, богати на скорбяла. При тях се прилагат амилалитични ензими, чрез които нишестето се разгражда до по-прости захари, използвани впоследствие за ферментационни процеси и за получаване на етанол или други биопродукти. Тук се включва и директната биоконверсия на нишесте съдържащи отпадъци чрез култивиране на микроорганизми, водещо до белтъчно обо-

гатаване на субстрата и получаване на продукти с фуражно значение. Този подход превръща отпадъка в суровина за ново производство.

Биотехнологична преработка на целулозо- и лигноцелулозосъдържащи твърди отпадъци. Включва растителни остатъци от селското стопанство, слама, дървесни отпадъци, царевични кочани, лозови пръчки, както и част от отпадъчната хартия и други целулозни материали. Тяхната особеност е, че основните им структурни компоненти – целулоза, хемицелулоза и лигнин – са значително по-устойчиви на разграждане от нишестето. Поради това преработката изисква прилагане на целулазни и други хидролитични системи, обикновено след предварително раздробяване или друга обработка, която повишава достъпността на субстрата за микроорганизмите и ензимите. Тези отпадъци се отличават с по-сложна и по-бавна биотехнологична преработка.

Директна микробна биоконверсия на твърди органични отпадъци. При този подход субстратът не се разгражда само до минерални продукти, а се използва за натрупване на микробна биомаса или за синтез на технологично значими метаболити. Той е характерен преди всичко за някои отпадъци от хранително-вкусовата промишленост и за растителни остатъци, които могат да служат като хранителна основа за продуценти на ензими, органични киселини, аминокиселини, антибиотици или фуражен белтък. При тези процеси отпадъкът се разглежда не само като обект на обезвреждане, а и като вторична суровина за целево биотехнологично производство.

Изборът между тези методи не се определя единствено от произхода на отпадъка, а от съчетанието между влага (%), съдържание на лесноразградима органична материя, наличие на структурни полимери, степен на замърсяване с неразградими примеси и санитарен риск. Компостирането е сложен микробиологичен процес, осъществяван от смесени популации бактерии, плесенни гъби, актиномицети и дрожди. Участието на тези групи не е едновременно и равностойно, а се изменя в зависимост от температурата, кислородния режим, влажността и характера на разграждания органичен субстрат. Поради това микробната общност в компостната маса се намира в непрекъсната сукцесия, която определя вътрешната динамика на процеса. Сред всички разгледани подходи **компостирането** се откроява като най-универсален метод за пречистване и оползотворяване на голяма част от твърдите биоразградими отпадъци, тъй като съчетава относителна технологична достъпност, екологична ефективност и получаване на краен продукт с агрономична стойност.

Компостирането е екзотермичен процес на биологично окисление, при който високомолекулните органични съединения, съдържащи се в ТО се подлагат на аеробна микробна деградация, частична минерализация и хумификация под действието на смесени микробни култури. В поредица от последователни физикохимични и биохимични изменения първоначалният ТО се превръща в стабилизирани, хигиенизиран и хумусоподобен продукт – компост. Представлява стабилен материал, богат на органична материя и хранителни елементи, който има съществено практическо значение като органичен тор и почвен подобрител. Неговото приложение е свързано с хумификацията на почвите, повишаването на почвеното плодородие, подобряването на структурно-механичните свойства на почвата и на нейния воден режим, както и с ограничаване на необходимостта от интензивно използване на синтетични торове. Наред с това компостирането намалява количеството отпадъци, насочвани към депониране, и връща органичен въглерод и минерални елементи обратно в почвената система, поради което съчетава пречистващ, ресурсоспестяващ и агроекологичен ефект.

Процесът не се свежда до спонтанно разпадане на органичната материя, а представлява контролирана биотехнологична система, при която чрез осигуряване на подходящи условия се насочва микробната активност към ускорено разграждане и стабилизиране на органичната фракция. Количественият и качественият състав микробната популация не е постоянен, а се изменя в зависимост от температурата, наличието на хранителни вещества, концентрацията на кислород, съдържанието на вода и реакцията на средата. Компостирането се осъществява от смесени популации бактерии, плесенни гъби, актиномицети и дрожди. Участието на тези групи не е едновременно и равностойно, а се изменя в зависимост от температурата, кислородния режим, влажността и характера на разграждания органичен субстрат. Поради това микробната общност в компостната маса се намира в непрекъсната сукцесия, която определя вътрешната динамика на процеса.

Бактериите имат водеща роля в компостирането и определят основната интензивност на процеса, особено в активните фази на разграждане. Те се размножават бързо, реагират бързо на промяна в условията на средата и участват в разграждането на широка гама лесноусвоими органични вещества – захари, аминокиселини, органични киселини, белтъци и липиди. При повиша-

ване на температурата мезофилните бактериални форми постепенно се заместват от термотолерантни и термофилни бактерии, които поддържат интензивното разграждане и минерализация в горещата фаза на процеса. Именно бактериите имат решаващ принос за samozagryvayeto на компостната маса и за бързото протичане на биохимичните трансформации.

Плесенните гъби също заемат съществено място в компостирането, но тяхната роля е най-изразена при разграждането на по-устойчиви растителни компоненти. Те са активни в началните етапи на процеса, когато в субстрата има леснодостъпни органични вещества, но придобиват особено значение и в по-късните фази, когато участват в разграждането на целулоза, хемицелулоза и в по-голяма степен на лигнинови остатъци. Гъбите са по-устойчиви от много бактерии при по-ниска влажност и могат да колонизират повърхности, по-слабо достъпни за бактериалната микрофлора. Значението им е особено голямо при прехода към по-дълбока деструкция на растителните тъкани и при формирането на по-стабилна органична материя.

Актиномицетите представляват междинна в екологично отношение група микроорганизми, които се развиват по-бавно от повечето бактерии и гъби, но имат важно значение в по-напредналите етапи на компостирането. Те са по-толерантни към повишени температури от много плесени и участват активно в разграждането на по-трудно разградими органични вещества, особено целулозни и други по-устойчиви остатъци. Ролята им нараства при прехода към охлаждане и зреене, когато лесноусвоимите субстрати вече са изчерпани и разграждането се насочва към по-устойчивите фракции на органичната маса. Актиномицетите имат съществен принос за дълбоката преработка на остатъчната органична материя и за формирането на зрелия компост.

Дрождите имат по-ограничено, но ясно очертано участие в процеса. Те се срещат предимно в началните стадии на компостирането, когато в компостната маса са налични значителни количества водоразтворими и лесноферментируеми органични вещества. Значението им е свързано главно с първичната преработка на тези съединения, преди водещата роля постепенно да бъде поета от бактериите, гъбите и актиномицетите. Макар участието им да е по-краткотрайно, те са част от естествената микробна сукцесия, която определя началното развитие на процеса.

Температурните промени при компостирането са пряк израз на микробната активност и на скоростта на разграждане на органичната материя. Температурният профил не е случаен, а отразява закономерната смяна на микробните популации, последователното усвояване на различни субстрати и настъпващите изменения в химичния състав на компостираната маса. В развитието на процеса се разграничават четири последователни температурни фази, всяка от които се характеризира със свой температурен интервал, специфична микрофлора, различна интензивност на разграждането и характерни промени в реакцията на средата.

Мезофилна фаза. В началото на процеса температурата на компостираната маса е близка до тази на околната среда, а реакцията на средата обикновено е слабо кисела. Естествената микрофлора е представена главно от мезофилни бактерии, плесенни гъби, актиномицети и дрожди, които се размножават интензивно и започват да усвояват най-достъпните нискомолекулни органични съединения – монозахариди, олигозахариди, аминокиселини, нисши алкохоли и други водоразтворими субстрати. В резултат от тяхното разграждане се натрупват органични киселини, поради което в началото е възможно леко понижение на рН. След изчерпване на лесноусвоимите вещества започва разграждане и на по-нискомолекулни полимери, включително декстрини и липиди. В тази фаза активно протичат и амонификационни процеси, особено при отпадъци с високо съдържание на азотсъдържащи органични вещества, което постепенно води до алкализиране на средата. Екзотермичният характер на катаболитните реакции предизвиква вътрешно загряване на компостната маса и температурата постепенно достига около 40°C, с което се осъществява преходът към следващата фаза.

Термофилна фаза. С повишаването на температурата мезофилните микроорганизми постепенно загиват или рязко ограничават активността си и се изместват от термотолерантни и термофилни форми. Тази фаза е най-интензивният етап на компостирането, като разграждането на органичната материя протича с най-голяма скорост. При температури в интервала приблизително 40 – 60°C нараства делът на термотолерантните гъби и умерено термофилните бактерии, а при още по-високи стойности, над 60°C, в компоста доминират главно термофилни бактерии. В условията на термофилна активност разграждането обхваща вече не само леснодостъпните субстрати, но и по-устойчиви органични компоненти. Високите температури имат и съществено санитарно значение, тъй като подпомагат хигиенизацията чрез намаляване на патогенните микроорганизми и унищожаване на значителна част от семената на плевелите. Именно поради това

термофилната фаза има не само деградационна, но и санитарно-хигиенна роля. Високата температура е ключов физичен параметър, защото определя скоростта на растеж, метаболитната активност и структурата на микробната общност, но при стойности около 82°C биологичната активност вече се потиска рязко.

Фаза на охлаждане. След изчерпване на голяма част от лесно и средно разградимите съединения интензивността на микробния метаболизъм започва да намалява, отделянето на топлина отслабва и температурата постепенно спада. Понижаването ѝ създава условия за повторно развитие на мезофилни микроорганизми и за засилване ролята на гъбите и актиномицетите. В тази фаза разграждането продължава, но с по-ниска интензивност и е насочено предимно към по-устойчивите компоненти на органичната маса. Особено значение придобива разграждането на целулоза и хемичеселулоза, а при лигниновите остатъци водеща роля имат главно гъбите. По време на охлаждането протичат и по-сложни трансформации на междинните продукти, като постепенно се създават условия за стабилизиране на компоста и за преход към финалния етап на узряване.

Продължителността на трите фази може да варира значително – от няколко дни до няколко седмици – в зависимост от режима на компостиране, състава на отпадъка, влажността, аерацията и избраната технология. Общата температурна крива има интегрален характер и отразява закономерностите на микробния растеж и смяната на водещите физиологични групи в компостната маса. Поради това температурният профил не е само описателен белег на процеса, а един от най-важните показатели за неговото протичане и контрол.

Фаза на зреене. Това е най-продължителната фаза на компостирането и обикновено трае няколко месеца. През нея температурата постепенно се понижава и се доближава до тази на околната среда, интензивността на микробния метаболизъм отслабва, а загубата на маса става незначителна. Измененията в химичния състав вече не се дължат в такава степен на интензивна микробна активност, а в по-голяма степен на процеси на химично взаимодействие и образуване на комплекси между остатъчните органични съединения, включително между лигнинови фрагменти и белтъчни компоненти от умиращите микробни клетки. Намаляват лесноразградимите и фитотоксични вещества, а нараства значението на процесите на хумификация, в резултат на което се образуват по-сложни и устойчиви хуминови вещества и компостът придобива стабилен характер. През тази фаза микроорганизмите масово загиват и се лизират, в компостната маса се натрупват и вещества с антибиотично действие, а се създават и условия за развитие на макроорганізми, които допринасят за оформяне на специфичните структурно-механични свойства на крайния продукт. Реакцията на средата леко се понижава спрямо стойностите в края на фазата на охлаждане. Именно във фазата на зреене компостът достига степента на стабилност, която определя неговата пригодност за съхраняване и последващо приложение. Качеството на компоста се оценява по неговата стабилност, зрелост и агрономична пригодност. За целта се използват показатели, отразяващи степента на разлагане и наличието на остатъчни лесноусвоими органични вещества. Общото съдържание на органична материя и общ органичен въглерод дават ориентировъчна представа за хода на процеса, но по-чувствителни показатели са водноразтворимият органичен въглерод, респирационната активност и съотношението C/N, което при зрелия компост обикновено е под 20. Окончателната оценка трябва да отчита и биологичния ефект на продукта, поради което се прилагат и тестове за покълване и растеж на растения. Само компост, който е достатъчно стабилизирен, нефитотоксичен и хигиенизиран, може да се приеме като качествен краен продукт на процеса.

Ефективността на компостирането зависи пряко и от параметрите на средата, които не влияят изолирано, а в тясна взаимовръзка. Промяната в един от тях неизбежно се отразява върху останалите и върху цялостната динамика на процеса. Поради това компостирането трябва да се разглежда като управлявана биотехнологична система, при която оптималното протичане се постига чрез едновременно поддържане на подходяща структура, влажност, аерация, температура и хранителен баланс. Сред основните технологични параметри с най-голямо значение са:

Структура и порьозност. Компостната маса представлява система от твърди частици и пори, изпълнени с въздух, вода или с двете едновременно. Структурата зависи от естеството на изходните материали, от големината и твърдостта на частиците и от способността им да запазват механичната си устойчивост при високо водно съдържание. Порьозността има пряко значение за количеството свободно въздушно пространство и следователно за възможността кислородът да достига до микробните клетки. При недостатъчна порьозност компостната маса се уплътнява, газообменът се влошава и се създават условия за възникване на анаеробни участъци. Раздробяването

на материала увеличава активната повърхност за микробно въздействие, но не бива да бъде прекомерно, защото твърде дребните частици намаляват свободното въздушно пространство и затрудняват аерирането. Поради това технологичното управление на структурата е свързано с постигане на баланс между добра достъпност на субстрата и достатъчна порьозност на масата.

Влажност. Водата е необходима за растежа на микроорганизмите и за разтварянето на хранителните вещества, които те могат да усвояват само във водна фаза. При недостиг на вода микробната активност се потиска, а разграждането се забавя. При излишък на вода се увеличава дебелината на водния филм около частиците и дифузията на кислород рязко се затруднява, тъй като тя протича значително по-бавно във вода, отколкото във въздух. Това обяснява защо преовлажнените компости лесно преминават към аноксни състояния, придружени от миризми и непълно разграждане. В практиката процесът протича най-добре при умерена влажност, като в хода на компостирането често се налага добавяне на вода или обратно – отвеждане на излишната влага чрез аерация и обръщане. Следователно влагата не е само физичен показател на субстрата, а динамичен технологичен параметър, който трябва да се съгласува с порьозността и режима на аерация.

Аерация. Компостирането по определение е аеробен процес, поради което в компостната маса трябва непрекъснато да се осигурява кислород, компенсиращ количеството, изразходвано от микрофлората. Освен че снабдява масата с кислород, въздушният поток отвежда въглероден диоксид, амоняк, излишна влага и част от произведената топлина. Когато снабдяването с кислород е недостатъчно, настъпва анаеробиоза, която води до по-ниска скорост на разграждане, намалено отделяне на топлина и натрупване на междинни метаболити, като летливи мастни киселини, серни съединения и други вещества, причиняващи неприятни миризми и фитотоксичност. В системите без принудителна аерация кислородът достига до компоста главно чрез конвекция и газова дифузия, докато при по-интензивните технологии се използва механично подаване или изсмукване на въздух. Независимо от използвания способ, аерацията има смисъл само ако е съобразена със структурата, влажността и размерите на компостната маса.

Температура. Температурата едновременно отразява интензивността на микробния метаболизъм и влияе върху състава на съобществото. Повишаването ѝ се дължи на отделяната метаболитна топлина при аеробното разграждане и на естествените изолационни свойства на органичната маса. Високите температури ускоряват разграждането и имат решаващо значение за хигиенизацията, но прекомерното им повишаване води до потискане и дори прекратяване на биологичната активност. Поради това температурата е не само следствие от процеса, но и основен управляващ параметър. Тя зависи от химичния състав и достъпността на хранителните вещества, от влагата, от кислородния режим, от честотата на обръщане и от геометрията на компостната маса. В промишлената практика именно температурният профил често служи като най-удобен показател за оценка на скоростта на разграждане и на ефективността на аерацията.

Смесване и обръщане. Обръщането на компостната маса хомогенизира материала, разрушава буците, увеличава порьозността, подпомага отделянето на водни пари, преразпределя микроорганизмите, екзоензимите, хранителните вещества и водата и създава нови повърхности за микробно въздействие. Схващането, че обръщането служи само за моментно насищане с кислород, е непълно. По-същественният му ефект е, че подобрява вътрешната структура на масата и така създава по-благоприятни условия за последващ аеробен метаболизъм. Чрез обръщането се ограничава формирането на големи анаеробни зони, намалява се неравномерността на температурата и влагата и се ускорява цялостното протичане на процеса. Ето защо честотата на обръщане трябва да бъде съобразена с вида на отпадъка, степента на разлагане и приложената технология.

Геометрия и размер на компостната маса. Размерът и формата на компостната купчина или ред оказват съществено влияние върху топлинните загуби, степента на уплътняване, аерацията и влаговия режим. При по-големи маси съотношението между повърхност и обем намалява, което подпомага задържането на топлина, но същевременно повишава риска от прекомерно уплътняване и образуване на слабо аерирани вътрешни участъци. При прекалено високи купове свободното въздушно пространство в долните слоеве намалява под въздействие на собственото тегло на материала, особено ако той е влажен. От друга страна, твърде малките компостни маси губят прекомерно количество топлина и не могат да поддържат оптимален термичен режим. Следователно геометрията на компостната маса трябва да се избира така, че да осигури едновременно достатъчно samozagryvane, добра аерация и ограничено уплътняване.

Първоначален баланс на органична материя. За правилното протичане на процеса е необходим и подходящ баланс между основните хранителни елементи, особено между въглерода

и азота. Микроорганизмите използват въглерода като източник на енергия и като структурен компонент на клетките си, а азотът е необходим за синтеза на белтъци и ензими. При излишък на въглерод процесът се забавя поради ограничен растеж на микрофлората, докато при излишък на азот се засилва отделянето на амоняк и се увеличават загубите на азотни съединения. Поради това първоначалното съотношение C/N е сред важните технологични показатели при подготовката на компостната смес, особено в промишлените системи, където се цели едновременно бързо разграждане, добра хигиенизация и получаване на качествен краен продукт.

В зависимост от степента на технологичен контрол, начина на аериране и организацията на процеса, в практиката се прилагат няколко основни системи за промишлено компостиране. Най-опростени са системите на открито, при които материалът се подрежда на купчини или в дълги редове. При тях обръщането се извършва със специализирани машини, а контролът върху аерацията и влажността е само частичен и зависи в голяма степен от структурата на изходния материал, геометрията на редовете, разстоянието между тях и климатичните условия. Тези системи са сравнително по-достъпни и широко приложими, но се характеризират с по-слабо управляема вътрешна среда и с изразени градиенти на кислород, температура и влажност в различните части на компостната маса. По-висока степен на контрол се постига при компостиране в кутии или траншеи, разположени на закрито или под покритие. При тези системи естествената аерация е недостатъчна, поради което се прилага принудително вкарване или изсмукване на въздух през компостната маса. Обръщането обикновено се извършва чрез автоматизирани устройства, а температурата и аерационният режим могат да се управляват в зависимост от степента на разграждане и зрялост на компоста. Този тип инсталации осигуряват по-добра хомогенност на процеса, по-сигурен контрол върху влагата и по-кратка активна фаза, след която материалът обикновено преминава към доузряване извън съоръжението. Най-висока степен на технологичен контрол се наблюдава при компостирането в биореактори. Биореакторът представлява напълно затворен съд или контейнер, в който компостната маса се аерира постоянно и при необходимост се смесва механично или периодично се изважда и връща обратно. Тези системи позволяват най-прецизен контрол върху температурата, кислородния режим, влажността и отделянето на миризми, поради което са особено подходящи при отпадъци, изискващи висока степен на хигиенизация и строг екологичен контрол. За сметка на това те са най-сложни в техническо отношение и изискват по-значителни инвестиции. При много влажни и богати на лесноразградима органична материя субстрати, каквито са кухненските отпадъци и утайките от отпадъчни води, често се прилагат комбинирани технологични схеми. Причината е, че при директно компостиране такива материали лесно запущват свободното въздушно пространство, създават аноксни зони и водят до отделяне на неприятни миризми. В тези случаи по-подходящ е двустепенен подход, при който първо се извършва анаеробно разграждане с получаване на биогаз, а след това остатъчната маса се смесва със структуриращ материал и се подлага на аеробно компостиране. По този начин се съчетават енергийното оползотворяване на отпадъка и последващото получаване на стабилен компост.

Под замърсяване се разбира проникването в околната среда на твърди, течни и газообразни вещества или енергия (топлинна, звукова, радиоактивна) в количества, по-големи от равнището, което не оказва вредно въздействие върху живите организми и екосистемите. Замърсяването е тясно свързано с антропогенната дейност и води до промени в състава и свойствата на атмосферния въздух.

Различават се четири основни форми на въздействие на замърсяването върху околната среда:

- A. Промяна в структурата на земната повърхност – например изсичане на гори, урбанизация и промени в земеползването.
- B. Промени в състава на биосферата, включващи дейности, които нарушават нормалния кръговрат на веществата, като добив на въглища и емисии на отпадъчни вещества. В естествените екосистеми съществуват регулаторни механизми, които поддържат равновесие между популациите. Когато първични местообитания бъдат трансформирани от човешка дейност, структурата се опростява и стабилизиращото действие на регулиращите фактори се нарушава.
- C. Нарушение на нормалния поток на енергия, свързано с климатични промени на регионално и глобално ниво. Тези промени поставят в риск редица съобщества, като гори и алпийски екосистеми, които са особено чувствителни към повишаване на температурите и промени във водния режим.
- D. Промени в структурата на биотата, изразяващи се в изчезване на видове, поява на нови и промени в разпространението им. В Европа се наблюдава навлизане на заболявания, нетипични за континента, както и изменения в поведенческите и жизнените цикли на много организми – например изместване на ареалите на растения и животни на север, по-ранно развитие и размножаване на птици, земноводни и насекоми.

Във връзка с регионалното замърсяване особено значение имат атмосферни замърсители като киселинни съединения, тропосферен озон (O_3), живак (Hg) и устойчиви органични замърсители (POPs). Те могат да се транспортират на разстояния от стотици до хиляди километри, преминавайки граници на региони, държави и континенти. Управлението на тези замърсители изисква международна политическа, икономическа и нормативна координация.

Като относително нови елементи в биосферата, замърсителите в последните десетилетия постъпват и се разпространяват в глобален мащаб. В резултат на физични процеси в атмосферата, като ветрове и атмосферна циркулация, локалните източници допринасят за формирането на фонов замърсяване на биосферата, което затруднява намирането на напълно незамърсени контролни участъци за сравнение.

Озонът е разположен в стратосферата, където формира т.нар. озонов слой с дебелина около 20 km. Той действа като защитен екран, поглъщащ значителна част от ултравиолетовото лъчение. Към момента е установено съществуването на озонова „дупка“ над Антарктика, представляваща сезонно изтъняване на озоновия слой, което се проявява през пролетта. Разрушаването на озоновия слой се свързва с косвена антропогенна дейност, по-специално с използването на хлорфлуорвъглероди (CFCs), използвани в хладилната и парфюмерийната промишленост. Тези съединения участват в химични реакции, водещи до разрушаване на озона.

Основните потенциални последствия от изтъняването на озоновия слой включват нарушаване на топлинната структура на атмосферата, промени в атмосферната циркулация и увеличаване на ултравиолетовата радиация на земната повърхност.

През 2003 г. е приета Стратегия за прекратяване употребата на хидрохлорфлуорвъглероди, като България не произвежда, а само употребява озоноразрушаващи вещества. В страната е въведена лицензионна система за внос и износ на такива вещества.

Парниковият ефект представлява процес на задържане на дълговълновата (инфрачервена) радиация от парниковите газове в атмосферата, основно въглероден диоксид, което води до повишаване на средната температура на приземния въздух. Засиленото му проявление е резултат от антропогенна дейност като обезлесяване, изгаряне на изкопаеми горива, промишлени про-

цеси, транспорт. В Европа през XX век се наблюдава ясно изразена тенденция към затопляне, съпроводена с отстъпване на ледниците и промени във валежния режим, като се очаква тези процеси да продължат и през XXI век. Климатичните модели прогнозираят допълнително нарастване на глобалната средна температура в зависимост от бъдещите сценарии на емисиите. В отговор на климатичните промени са въведени международни механизми за ограничаване на емисиите на парникови газове, включително Рамковата конвенция на ООН по изменение на климата, Протокола от Киото, Парижкото споразумение и Европейската схема за търговия с емисии, които имат за цел намаляване на антропогенното въздействие върху климата.

Атмосферното замърсяване представлява един от основните рискове за здравето на човека в много съвременни градове. Урбанизираната среда се характеризира с висока плътност на източници на замърсяване, което води до хронична експозиция на населението на различни атмосферни замърсители. Сред тях се открояват три основни групи градски замърсители.

1. Суспендирани частици

Суспендираните частици включват сажди, дим, прах и течни капчици. В съвременната практика те се класифицират според аеродинамичния си диаметър, като най-голямо значение за здравето имат ФПЧ₁₀ и ФПЧ_{2.5} (фини и ултрафини прахови частици).

Продължителната експозиция на суспендирани частици и сажди води до значително повишен риск от хронични респираторни заболявания, като астма и хронична обструктивна белодробна болест. Освен това се установява негативно въздействие върху сърдечно-съдовата система, включително повишен риск от инфаркти и инсулти. Най-опасни са ФПЧ_{2.5}, тъй като проникват дълбоко в белите дробове и могат да преминават в кръвообращението.

2. Серен диоксид (SO₂)

Основен антропогенен източник на серен диоксид е изгарянето на изкопаеми горива, особено в топлоелектрически централи и битови отоплителни инсталации. Металургията и химическата промишленост също допринасят за емисиите на SO₂. Серният диоксид, заедно с азотните оксиди (NO_x), е основен прекурсор на киселинните дъждове.

Постъпва в организма основно чрез респираторната система. При кратковременна експозиция засяга предимно дихателната система. Особено чувствителни групи от населението са децата, възрастните хора, както и лицата с астма, сърдечно-съдови или хронични белодробни заболявания. Трудно е да се отдели самостоятелното въздействие на серния диоксид от това на суспендираните частици, с които често се среща съвместно. Именно комбинираният ефект се свързва с повишена честота на хоспитализации и смъртност.

С Наредба № 9 (ДВ, бр. 46/1999 г., с последващи изменения) са определени пределно допустимите концентрации (ПДК) за серен диоксид: средночасова ПДК (1 час) – 350 µg/m³; среднонощна ПДК (24 часа) – 125 µg/m³ и алармен праг – 500 µg/m³.

3. Азотен диоксид (NO₂)

Азотният диоксид се образува основно при горивни процеси. Най-значимите източници в градска среда са моторните превозни средства, топлоелектрическите централи и някои промишлени предприятия. В закрити пространства допълнителен източник може да бъде тютюнопушенето. Под въздействието на интензивна слънчева радиация и в присъствие на летливи органични съединения азотният диоксид участва в фотохимични реакции, при които се образува вторичният замърсител тропосферен озон – ключов компонент на фотохимичния смог.

Азотният диоксид навлиза в организма чрез дишането, като значителна част от него се абсорбира и може да се задържи продължително време в белите дробове. Продължителното въздействие на концентрации над ПДК може да доведе до структурни и функционални промени в белодробната тъкан и повишена чувствителност към респираторни инфекции. С Наредба № 9 (1999 г.) са определени следните ПДК за азотен диоксид: средночасова ПДК (1 час) – 200 µg/m³; средногодишна ПДК – 40 µg/m³ и алармен праг – 400 µg/m³.

4. Аерозоли на тежки метали – олово (Pb)

Друг широко разпространен замърсител в градовете са аерозолите на тежки метали, по-специално оловото. Концентрациите му в атмосферния въздух зависят от броя и мощността на източниците, като металургичните предприятия и транспортът традиционно са имали водеща

роля. Поради високата токсичност на оловото, производството и употребата на оловосъдържащи („етилирани“) бензини са забранени в повечето страни, включително България, което води до значително намаляване на атмосферните концентрации.

Оловото постъпва в човешкия организъм главно по респираторен път (20 – 60%) и по гастроинтестинален път (около 10% при възрастни и 40 – 50% при деца). Токсичните му ефекти се дължат на инактивиране на сулфхидрилни (SH) групи и на конкурентно заместване на есенциални метални йони в ензимни системи. Засегнати са кръвотворната, нервната и сърдечно-съдовата система, както и репродуктивните функции. Оловото е акумулативна отрова с много дълъг период на елиминиране – от няколко дни до десетилетия. С Наредба № 9 (1999 г.) е определена средногодишна ПДК за олово в атмосферния въздух от 0,5 µg/m³.

В допълнение, пътният трафик е основен източник на шумово замърсяване в урбанизираните територии. Шумът е разглеждан от Световната здравна организация като значим фактор с неблагоприятно въздействие върху общественото здраве. Той може да се дефинира като нежелан или вреден външен звук, причинен от човешка дейност, включително излъчван от автомобилния, железопътния и въздушния транспорт, от промишлени инсталации и съоръжения, както и от различни локални източници. По данни на СЗО продължителното въздействие на шум води до стресови и здравни нарушения, като нарушения на съня, повишен риск от сърдечно-съдови заболявания и други болестни състояния, които в отделни случаи могат да имат и фатални последици.

Всеки град се характеризира със специфичен профил на замърсяване, което прави директното сравнение между градовете трудно. Нивата на атмосферните замърсители се влияят от съвкупност от естествени и антропогенни фактори. Естествени фактори: географски особености на района (долини, котловини, крайбрежия); климатични условия, включително слънчева радиация; температурен режим; природни биогеохимични цикли (напр. азотен цикъл). Антропогенни фактори: използване на изкопаеми горива (транспорт, промишленост, битово отопление); промишлена дейност; интензивно земеделие и прекомерна употреба на торове.

Поради интензивното антропогенно натоварване в големите градове се говори за т.нар. градски климат. Той се характеризира с по-високи температури и по-ниска относителна влажност в сравнение със заобикалящите райони. В резултат на това се формират специфични условия за разпространение и акумулиране на атмосферните замърсители. Градовете функционират като топлинни острови, което води до понижаване на разсейването на замърсителите чрез вятъра. Най-силно атмосферното замърсяване се отразява върху пряката слънчева радиация, като през зимния период тя може да бъде намалена с до 40 – 50% в силно замърсени градски зони. Различно е и вертикалното температурно разпределение. През нощта температурните инверсии в градовете обикновено са по-слабо изразени или напълно липсват поради акумулираната топлина. Образоването на мъгли е свързано със сложни взаимодействия между замърсители, влажност и температурен режим, като над градовете честотата на мъглите е приблизително с 20% по-висока в сравнение с околните райони. Характерно атмосферно явление в градска среда е смогът – съчетание от газообразни и твърди замърсители с мъгла и аерозоли. Смогът оказва двупосочно въздействие върху екосистемите:

- (i) силно намалява интензивността на слънчевото греене, което влияе върху процесите на фотосинтеза;
- (ii) при директен контакт с листната повърхност причинява физиологични увреждания, водещи до дефолиация, забавяне на растежа и в екстремни случаи – загиване на растителни масиви.

Върху животинския свят смогът действа както пряко, така и косвено. Прякото въздействие се изразява в нарушения на дихателната и кръвоносната система, докато косвеното е свързано с намаляване на хранителната база в резултат на увреждане на продуцентите. Зимният смог е характерен за студения сезон и се състои основно от прах, сажди и серен диоксид. Класически пример за неговото въздействие е т.нар. Голям лондонски смог от 1952 г., при който се счита, че са загинали около 4 000 души, като последващи анализи показват и значително по-висока обща смъртност в следващите месеци. Летният смог се дължи основно на повишени концентрации на тропосферен озон, образуван при интензивно слънчево греене в присъствие на азотни оксиди и летливи органични съединения. Той води до затруднено дишане, особено при хора с астма и други респираторни заболявания, и оказва неблагоприятно въздействие върху растенията, като при високи концентрации може да причини некрози и загиване на чувствителни растителни видове.

Според данни на Световната здравна организация (СЗО) замърсяването на въздуха е причина за приблизително 7 милиона преждевременни смъртни случаи годишно в световен мащаб.

В България към настоящия момент основните източници на атмосферно замърсяване са промишлеността, селското стопанство, транспортът и битовото отопление с твърди горива. Заводите за цветни и черни метали в районите на София, Кърджали, Перник, Пловдив и Пирдоп оказват локално въздействие върху качеството на атмосферния въздух. Значителен принос има и енергийният сектор, особено производството на електрическа и топлинна енергия, както и битовото отопление през зимния сезон.

Особено важно е правилно да се определят пунктовете за вземане на проби от атмосферния въздух с оглед изготвяне на достоверна характеристиката на замърсителя. Целесъобразно е едновременно да се провеждат и метеорологични наблюдения, за да се определи посоката на въздушните течения и стабилността на атмосферните условия. Така по-пълно се изучават вида, интензитетът и пространственото разпространение на замърсителя на дадена територия.

Разпространението зависи главно от физичните процеси във въздуха, т.е. вятъра и климатичните условия като цяло. Колко далече ще стигнат замърсителите се определя основно от размера на частиците и на каква височина са емитирани във въздуха. Напр. газовете и парите, изпуснати във въздуха през високи димни комини се смесват с него и по този начин локалната им концентрация спада. При наличие на вятър замърсителите също се разнасят и разсейват. Валежите способстват за отстраняване на част от замърсителите, като успоредно с това водят до тяхното утаяване и последващо замърсяване на почви и води. Фактори, влияещи върху разпространението на атмосферните замърсители:

1. Вятър

Скоростта и посоката на вятъра са основни параметри, въз основа на които се определя в каква посока ще се пренасят замърсителите и в каква степен ще се разреждат чрез смесване с чист въздух. Въздушното движение в тропосферата е сложно и не протича като единен процес. Често приземният въздушен слой може да се движи в посока, противоположна на слоя непосредствено над него. Това се дължи на разлики в атмосферното налягане и на местни ветрове, обусловени от релефните особености и нагряването на приземния слой. Едно от изключенията е морският бриз, който има сравнително постоянна посока, което води до целенасочен транспорт на замърсителите.

2. Турбулентни движения

Когато температурата на приземния въздушен слой е по-висока от тази на горните слоеве, се развива конвекция – балони от топъл въздух се издигат нагоре, като пренасят със себе си и замърсителите. Стабилна атмосфера е налице при слаба или липсваща турбулентност, което затруднява разсейването на замърсителите.

3. Температурни инверсии

Температурните инверсии се образуват, когато въздухът в близост до земната повърхност се охлади, стане по-плътен и остане под по-топъл въздушен слой. Този инверсионен слой действа като „капак“, който възпрепятства вертикалното смесване и води до натрупване на вредни емисии в приземния слой.

4. Температура

Смогът представлява най-сериозна опасност при продължителни периоди с високи температури и слаби ветрове. При такива условия замърсителите от транспорта и индустрията участват в интензивни фотохимични реакции, водещи до образуване на приземен озон и други компоненти на фотохимичния смог.

5. Валежи

Валежите са важен фактор за намаляване на концентрацията на атмосферни замърсители, тъй като водят до „отмиване“ на твърди частици и част от газообразните примеси. Газовете обаче се повлияват в по-малка степен. При наличие на оголена почвена повърхност няколко ветровити дни могат да доведат до повторно навлизане на замърсители в атмосферата под формата на пра-

хови частици. Ако обаче в предходните 24 – 48 часа е имало валежи, повторното изветряне на замърсители е значително по-слабо.

Описаните процеси обуславят и трансграничното замърсяване на въздуха, при което замърсители, емитирани в една държава или регион, оказват влияние върху качеството на атмосферния въздух в други територии. Общата оценка на качеството на атмосферния въздух се извършва чрез съчетаване на измервания, анализ и моделиране, тъй като прякото измерване не може да обхване цялото пространствено и времево разнообразие на замърсяването. Основен елемент на оценката са стационарните и автоматични мониторингови станции, които измерват концентрациите на основните атмосферни замърсители – фини прахови частици (ФПЧ₁₀ и ФПЧ_{2.5}), серен диоксид, азотен диоксид, въглероден оксид, тропосферен озон, оловни аерозоли, кадмий и бензен. Към специфичните замърсители се отнасят фенол, амониак, аерозоли на сярна киселина, Cl, HCl, стирол, толуол, ксилол, H₂S.

Разполагането на станциите се извършва така, че да представя различни типове експозиция – фонові градски райони, зони с интензивен трафик и индустриални територии. Пунктовете за мониторинг на качеството на атмосферния въздух се класифицират в зависимост от доминиращия източник на замърсяване и пространствената им представителност:

1. Транспортно-ориентирани пунктове – разположени в непосредствена близост до пътни артерии с интензивен автомобилен трафик, с цел оценка на въздействието на емисиите от моторни превозни средства върху населението.
2. Промислено-ориентирани пунктове – разположени в зони с преобладаващо влияние на емисии от промишлени източници и други производствени дейности.
3. Градски фонові пунктове – разположени в застроената част на населеното място, извън прякото влияние на транспортни и промишлени източници, и представителни за общата градска експозиция на населението.
4. Извънградски фонові пунктове – разположени извън границите на населените места, без пряко въздействие от локални източници, и представителни за фоновото замърсяване в даден район.
5. Регионални пунктове – предназначени за оценка на регионалното замърсяване и трансграничния пренос на атмосферни замърсители.
6. Отдалечени пунктове – разположени в слабо повлияни от човешка дейност райони и използвани за оценка на фоновото и глобалното атмосферно замърсяване.

За информиране на населението широко се използват индекси за качество на въздуха (AQI), които обобщават данните за няколко основни замърсителя в една скала, показваща нивото на риск за здравето. Тези индекси имат предимно комуникационна функция и не заместват детайлния научен анализ. Поради ограничената пространствена гъстота на мониторинговата мрежа, оценката на качеството на въздуха се допълва чрез компютърно моделиране. В атмосферните модели се включват параметри като скорост и посока на вятъра, температура, влажност, облачност и емисионни характеристики на източниците, което позволява прогнозиране на разпространението на замърсителите и оценка на трансграничното замърсяване.

Към момента съгласно изискванията на националното и европейското законодателство, България е разделена на шест Района за оценка и управление на качеството на атмосферния въздух (РОУКАВ): Агломерация Столична, Агломерация Пловдив, Агломерация Варна, Северен/Дунавски, Югозападен и Югоизточен. През 2022 г. в Националната Система за Мониторинг на Качеството на Атмосферния Въздух (НСМКАВ) са функционирали общо 48 стационарни пункта, от които 34 автоматични измервателни станции (АИС), 9 пункта с ръчно пробонабиране (РП) и последващ лабораторен анализ, 5 ДОАС системи (на принципа на диференциална оптична атомноабсорбционна спектрофотометрия), разположени в градовете Свищов, Никопол, Силистра, Бургас и Стара Загора (с. Ръжена). Общините са основният орган, отговорен за управлението и прилагането на мерки за подобряване на качеството на въздуха в своите територии, разработват и прилагат планове и програми.

Кумулация е способността на веществата да се натрупват в организма. Това е характерно за вещества, които се отделят бавно и се задържат дълго време. Приемани неколккратно в по-носими дози, те се натрупват и преминават определени физиологични граници, които от безвредни стават токсични, а в някои случаи довеждат и до смърт. Кумулацията бива химична (материална) и физиологична (функционална). Химична е кумулацията, когато в организма постъпва нова доза от отровното вещество, преди да е обезвредена или излъчена предишната. Тя зависи от особеностите на вида и характера на отровата. Такава кумулация е характерна за тежките метали. Физиологичната кумулация настъпва тогава, когато няма натрупване на самото отровно вещество. При нея новата доза постъпва, след като предишната е разрушена или отделена, но причинените от нея функционални промени в организма не са още изчезнали, т.е. наблюдава се натрупване на ефекта. Такъв вид кумулация се наблюдава при хлорорганичните и фосфорорганичните препарати и др. Тя е по-силна, тъй като се наблюдава и при бързо разрушаващи се препарати. В зависимост от физико-химичните свойства на токсиканта може да се наблюдава или едната, или другата кумулация, а понякога и двете (при оловото например). Токсичните вещества са способни да кумулират не само в биологичните обекти (биоаккумуляция), но и в грунта, утайките и др. Отбелязва се, че някои растения имат по-висока способност да натрупват токсични вещества от животните. Това е силно изразено при пестицидите и радиоактивните вещества. Кумулативният ефект може да има съществено значение за определяне нивото на устойчивост към отровите. Затова при определяне на ПДК трябва да се знае и кумулативната способност на веществата. За изразяване на кумулативните свойства на веществото се съди по коефициента на кумулация, под който се разбира отношението на сумарната доза токсично вещество, предизвикващо 50% смърт при животните, при многократно въвеждане (хронична или сублетална доза) към дозата, предизвикваща смърт на 50% животни при еднократно въвеждане в организма (акутна доза).

$$\text{Коефициент на кумулация} = \text{LD}_{50} \text{ хронична доза} / \text{LD}_{50} \text{ акутна доза}$$

Висока кумулация е характерна за тежките метали, някои халогени, хлорорганични пестициди (ДДТ), радионуклеиди. Слаба кумулация имат фосфорорганичните съединения. Освен това различните тъкани и органи по различен начин кумулират токсикантите. В зависимост от природата на токсиканта се наблюдава натрупване в различните органи – например олово се натрупва предимно в костите, кадмий в бъбреците, живак в мозъка и т.н.

Биоконцентрация е термин, който описва по-високата концентрация на дадено токсично вещество в организма, отколкото в обкръжаващата го среда. Някои токсиканти, в частност неорганичните замърсители, се асимилират от организмите в по-големи количества. Този феномен се описва от фактора на биоконцентрация и се изчислява по формулата:

$$\text{Фактор на биоконцентрация} = \frac{\text{концентрация на токсиканта в организма}}{\text{концентрация на токсиканта в околната среда}}$$

За сухоземните организми околната среда е обикновено почвата, а за водните – водите или седиментите. Степента на дългосрочната биоконцентрация зависи от нивата на екскреция на токсикантите. Така например биоконцентрацията на кадмий в животните е много близка до биоконцентрацията на други метали – асимилира се бързо, а бавно се отделя от организма. Ако даден организъм има висока стойност на този фактор, това може да зависи от биохимията на токсиканта. Например организмите с варовиков скелет или екзоскелет (черупки) приемат олово и stronций от организмите без такъв много по-лесно, защото тези елементи следват биохимичните пътища на калция, който се усвоява лесно от тях.

Биоаккумуляция е термин, който описва по-високата акумулация на дадено вещество в организма, отколкото в околната среда, в частност във водната среда. Механизмите, чрез които биоаккумуляцията се осъществява, обаче все още не са достатъчно ясни. При водните организми степента на биоаккумуляция и токсичността например на металите зависи от тяхната степен на степност (формата на разтворените метали и др.) и устойчивост на разграждане, химични и фи-

зични характеристики, както и от много абиотични (соленост, електропроводимост, температура, рН, твърдост на водата, сезон) и биотични (вид, пол, възраст на организмите, динамиката на хранителната верига) фактори. Така например при по-ниски стойности на рН и по-високи стойности на температурата металите преминават в разтворимо състояние, поради което те могат да биоакумулират по-лесно и съответно да проявят своите токсични ефекти върху живите организми.

В токсикологичните изследвания често се използва параметърът фактор на биоаккумуляция (ФБА). Факторът на биоаккумуляция е предложен от Никаноров (1985). Той представлява отношението между концентрацията на токсиканта, която е установена в хидробионтите, спрямо тази във водата:

$$\text{Фактор на биоаккумуляция} = \frac{\text{съдържание на токсиканта в организма}}{\text{съдържание на токсиканта в околната среда}}$$

Arnot & Gobas (2006) освен фактора на биоаккумуляция (ФБА) използват и горепосочения фактор на биоконцентрация (ФБК). Тези автори считат, че вторият фактор може да бъде установен само в контролирани лабораторни условия, при които токсикантът умишлено не се подава на тест организмите с храната. ФБА може широко да варира по стойности при различните видове организми, като ФБА на тъкани и органи над 1000 се счита за висок, под 250 за нисък и такъв с междинни стойности – среден. Според Никаноров (1985) в зависимост от стойността на ФБА хидробионтите могат да се подредят в своеобразна класификация: макроконцентратори (ФБА > 2), микроконцентратори (ФБА = 1 до 2) и деконцентратори (ФБА < 1).

Биомагнификация (биологично натрупване) е термин, който описва процеса на увеличаване на концентрацията на дадено токсично вещество по трофичните нива на хранителните вериги. Най-опасните токсиканти са тези, които са устойчиви на разграждане и които могат да биомагнифицират (например ДДТ и метилживак). След като тежките метали биоакумулират в организмите, те могат да се натрупат по трофичните нива в хранителната верига, като концентрациите им във всеки следващ организъм превишават тези в предходния и този процес е наречен биомагнификация. Дефиницията на Connell (1989) се отнася само за случаите, когато увеличението на нивата на тежките метали се осъществява единствено чрез прием на храна. Amiard et al. (1980) предлагат, че може да се изчисли и факторът на биомагнификация или биологично усиляване (ФБМ), чрез който се установява дали се осъществява биологичното натрупване в по-високите нива на трофичната верига. Фактор със стойност над 1 доказва биологично натрупване

$$\text{Фактор на биомагнификация} = \frac{\text{съдържание на токсиканта в троф. ниво } x}{\text{съдържание на токсиканта в троф. ниво } x - 1}$$

Важно е да се знае не само токсичността на отделния токсикант, но и комбинираното действие на различните токсични смеси. То се проявява под формата на антагонизъм, синергизъм или независимо съвместно действие – адитивно действие. Тези процеси могат също да се наблюдават в замърсените почви, води или дори в самите организми – водни или сухоземни. Обикновено в природата водите са замърсени със смеси от разнообразни форми на тежки метали – неорганични, органични, комплексни съединения, в йонно или суспендирано състояние. Учените изразяват мнение, че е възможно протичане на взаимодействия между металните йони не само на химично, но и на биохимично ниво. В резултат се получават ефекти и реакции у хидробионтите, различни от тези, установени при лабораторни изследвания с единични експозиции на метали. Взаимодействията между двукомпонентни смеси показват значителни отклонения от единичното действие на отделните компоненти. При оценка на риска във водни екосистеми трябва да има информация за реакциите при единични и съвместни експозиции на металите върху хидробионтите. Замърсяването на средата е най-често резултат от комбинирано действие на няколко метала. То зависи от формата, под която се намира всеки един от тях, от тяхната абсорбция, метаболизъм, токсикологични параметри, критични органи и взаимодействието между токсичния първичен продукт и активните метаболити. При паралелна експозиция на две или повече прости химични вещества могат да се срещнат пет вида токсични действия върху организмите в резултат на отношенията между металите.

Независимо действие е, при което токсичният ефект, индуциран от химичните вещества, се проявява в качествени и количествени параметри.

Адитивност – сумиращо действие, не е непременно удвоен, сборен ефект на две или повече вещества, означава еднопосочност и подобен механизъм на действие на отровите.

Антагонистично действие съществува, когато отговорът от комбинираната експозиция е по-малък от активността на всеки един от компонентите. Наблюдава се в случаите, когато едно вещество редуцира или напълно спира токсичното действие на друго. Антагонизмът е отслабване или пълно спиране на токсичното действие на едно отровно вещество от друго при съвместно постъпване в организма. Той може да бъде химичен, физико-химичен и функционален (физиологичен). Химичен и физико-химичен антагонизъм се наблюдава при две и повече отровни вещества, между които в организма настъпват химични или физико-химични реакции, в резултат на което се получава неутрализиране, адсорбиране, разрушаване или се образуват неотровни или слабо отровни вещества. Пример за такъв антагонизъм е неутрализирането на киселини от основи и обратно, утаяване на алкалоиди с танин, на соли на тежки метали с унитол, солите на металите образуват с цианиди металцианидни комплекси, които са значително по-слабо токсични, неутрализиране на арсен с железен нитрат, на карбамид с формалин, фенол с варова вода и др. Адсорбиращото действие на активния въглен по отношение на редица токсиканти, като алкалоиди, гликозиди, плесени, бактерии, тежки метали и т.н., може да се посочи като пример за физико-химичен антагонизъм. Под функционален антагонизъм се разбира получаване на противоположен, но независим един от друг ефект при въвеждане в организма на две или повече вещества. При него в организма се стимулират противоположни действия на едни и същи тъканни елементи. Антагонизъм може да съществува и между йони. Известно е, че антагонисти на Na в организма са Ca и Mg. Ето защо при силното им намаляване в организма се проявява по-силно действието на натрия при отравяне с готварска сол при животните. На принципа на антагонизма се изработват антидоти на отровите, което има много важно практическо значение.

Синергичното действие е обратно на антагонистичното и представлява отговор на комбинираната експозиция, който е по-голям от адитивния. Синергизмът представлява засилен клинично изразен ефект, получен от едновременното действие на две или повече отрови. Това е явление, обратно на антагонизма. Синергизмът може да бъде пряк и косвен. Когато отровните вещества действат в една посока върху едни и същи органи и тъкани, говорим за пряк синергизъм. Така например след приемане на момина сълза, дигиталис и кукуряк в животните се наблюдава засилен токсичен ефект на сърцето. Когато отровните вещества действат в едно направление, но върху различни тъкани и органи, говорим за косвен синергизъм. Синергично е действието на тежките метали Cu и Zn, Cu и Cd, Ni и Zn, на амоняк и фенол, амоняк и цианиди и др.

Известен и особен вид синергизъм е и т.нар. потенцирано действие на отровите. При него освен сумарен токсичен ефект се наблюдава и усиляване на действието на една отрова под влияние на друга. Например такова действие има при едновременното прилагане на невролептици и наркотици, алкохол и аналгин и редица други. Често се наблюдава и отбелязва при взаимодействие на лекарствени вещества както при животните, така и при човека. Потенцирането се разглежда като вид синергизъм и изразява действие между вещества, при което едното, инертно по отношение на биологичната си активност вещество, засилва токсичния ефект на съпътстващите го други химични вещества.

Класификация на почвите в България

Според съвременните схващания, понятието „почва“ включва повърхностния слой от земната кора, който притежава свойството плодородие, тоест способност да осигурява всички необходими условия за растежа и развитието на растенията. Това е главният качествен признак, по който почвата се различава от другите природни тела.

Почвата е една от важните съставни части на биосферата. В нея живеят множество видове животни – като се започне от микроорганизмите и се стигне до представителите на редица по-висши животински видове. Посредством растенията в почвата постоянно се натрупват и запазват всички елементи, необходими за развитието на следващите поколения растения. Следователно, почвата се явява като необходима среда изобщо за развитието на живота върху земята. Като важна съставна част от биосферата, тя оказва непрекъснато въздействие върху нейното цялостно развитие.

Почвата като компонент на екосистемата е обект за разработване на редица научни теми от различни организации, които трябва да бъдат в унисон със съвременните стандарти и нормативи за диагностика, систематика и оценка. Познаването на почвата и рационалното използване на почвените ресурси не е възможно, без да се прилагат съвременни системи за тяхната диагностика и класификация.

Поради това, че в отделните части на земното кълбо съчетанието между главните почвообразуващи фактори (климат, растителност, релеф и др.) е различно, върху земната повърхност се е оформило твърде голямо разнообразие от почви. С цел по-лесното и по-детайлното им изучаване, се е наложило те да се систематизират по определени признаци, тоест да се изготви почвена класификация. Под класификация на почвите се разбира разделянето на цялото многообразие от почви на отделни групи, в които почвите имат общи свойства, процеси и режими. Класификация на почвите се съставя като се приемат определени принципи, по които става групиране на почвите, установява се система от класификационни единици, които се подреждат в йерархичен ред на съподчинение, приема се система от наименования на почвите, определят се признаците, по които всяка класификационна единица може да се наблюдава в природна обстановка и накрая се съставя класификационна схема или систематичен списък на почвите. Следователно, класификацията представлява групиране на почвите в таксономични единици и тяхното съответно название. Задачите на класификацията се заключават в разпределянето на почвите в групи по такъв начин, че в зависимост от тяхната принадлежност към дадена група, да се определят характеристиките им, протичащите в тях процеси и техните функции в биосферата.

Според предназначението си класификациите на почвите могат да се разделят най-общо на две групи – естествени и приложни. Естествените класификации се базират на състава и свойствата на почвите с оглед изясняване начина и условията на тяхното образуване като природни тела. Приложните класификации се основават на пригодността на различните почви за конкретно ползване.

Първите опити за класификация на почвите са направени още от римските естественици, които обобщили дългогодишния опит на земеделските стопани в категоризирането на земите. Подразделянето на почвите те са извършвали главно въз основа съотношението на основните съставни части на почвите. С развитието на агрогеологичното направление в почвознанието, в Западна Европа се разработват естествени класификации, в основата на които стоят особеностите на почвообразуващите скали – агрогеологични класификации. Успоредно с развитието на генетичното направление в почвознанието започва разработване на естествени класификации на почвите по генетични признаци. В основата на класификациите стои разглеждането на почвата като специфично органично-минерално тяло, развиващо се в тясно взаимодействие с околната среда, тоест почвите се групират по своя генезис (произход). Първата генетична класификация на почвите е съставена от основателя на съвременното почвознание проф. В. В. Докучаев. За разлика от немските изследователи той класифицира почвите не въз основа само на един признак, а въз основа на всички условия, под влияние на които те се образуват. След това се разработват и допълват редица други класификации на почвите, но всяка от тях не отразява напълно свойствата и генезиса на почвите. Ето защо се налага разработването на класификация, която да отразява

цялата съвкупност от почвени характеристики – строеж на почвения профил, състав на почвата, свойства на почвата, режим на почвата. При това съвкупността от почвените характеристики се разглежда като единство, обусловено от въздействието на общи елементарни почвени процеси и фактори на почвообразуване. Такава класификация се нарича базова.

Всяка изучавана почва се отнася към определена таксономична единица въз основа на приет комплекс от признаци, които се наричат диагностични показатели. Определянето на диагностичните показатели за отделните таксономични единици е известно под наименованието диагностика на почвите.

Като диагностични показатели се използват най-често такива признаци, които лесно могат да се установят при наблюденията на почвите в полето, при изучаване морфологията на почвения профил и посредством най-елементарни анализи. За най-точното определяне на мястото на дадена почва в класификацията обаче често се налага допълнително да бъдат проведени и по-сложни анализи и да се използват данни и за хидротермичния режим на почвите. Това се налага особено при обособяване на почвените типове и подтипове. Колкото повече показатели се използват, толкова по-точна ще е диагностиката на почвата, особено за по-висшите таксономични единици. Общият вид на класификацията на почвите се представя под формата на схема или списък, в който последователно в ред на съподчинение се подреждат таксономичните единици със съответните наименования.

В историческо-научен аспект в България се е наложила концепцията за класификация на руската почвоведческа школа, която се основава на генезиса, факторите на почвообразуване и свойствата на почвите. Макар и малка по територия, България се отличава със значително почвено многообразие (16 почвени типа, 28 подтипа, 42 вида) поради наличието на разнообразни условия (биологични, климатични и др.), под чието съвкупно влияние е протичал почвообразователния процес и са се образували почви с различен строеж, вътрешни свойства и външни признаци.

Класификацията на почвите включва 4 систематични единици:

Най-главната систематична единица в нашата класификация е **почвеният тип**. Почвите се групират в типове по сходство в почвообразователния процес, което на практика се изразява в еднакъв строеж на почвения профил, близки морфологични признаци и сходни свойства – например черноземни почви, ливадни почви, сиви горски почви и т.н.

Следващата систематична единица е **почвеният подтип**. Типът се разделя на подтипове въз основа на измененията в неговото развитие. По време на развитието си почвеният тип търпи непрекъснати изменения, които до определен момент не засягат същността на почвообразователния процес. Така например, черноземите под частичното влияние на горската растителност обедняват на карбонати, мощността на хумусния им хоризонт намалява, придобиват кисела реакция в горния хоризонт. В зависимост от това на какъв стадий се намира почвообразователния процес, черноземите се разделят на карбонатни, типични, излужени, деградирани.

По-нататък подтиповете се разделят на **почвени видове** въз основа на различната степен на изразеност и развитие на най-важните признаци и свойства на подтипа. Например, за типичните черноземи са характерни мощен хумусен хоризонт и високо хумусно съдържание. По тези признаци те се разделят на слабо мощни, средно мощни, мощни, слабо хумусни, средно хумусни и хумусни. По степента на излуженост излужените черноземи се разделят на слабо излужени и силно излужени.

Последното подразделение е **почвената разновидност**. Почвените видове се разделят на разновидности въз основа главно на механичния състав – пясъчливи, глинесто-пясъчливи, пясъчливо-глинести и глинести.

Разпространение на типовете почви на територията на страната

Според начина си на образуване почвите се разделят на две основни групи – зонални и азонални. Първите се формират и развиват под влияние на хоризонталната (широчинната) и вертикалната (височинната) зоналност, а вторите – под въздействието на локални фактори като вид и състав на почвообразуващата скала, ниво и химичен състав на подпочвените води и др.

Зонални почвени типове са:

Черноземни почви – едни от най-широко разпространените почви у нас (около 20% от територията на страната) и основен почвен тип в Северна България. Те заемат изцяло Дунавската равнина и Южно-добруджанското плато, а също така и по-голямата част от Лудогорието и част

от Северозападното плато. Образувани са предимно върху лъос и отчасти върху глини и карбонатни скали в условията на умерено-континентален климат, лесостепна и ливадностепна растителност. Естественото им плодородие е високо, тъй като съдържанието на хумус е 3 – 5% и дебелината на хумусния хоризонт е около и над 100 cm. Близко 96% от всички черноземи се обработват, което прави този почвен тип изключително важен за България в стопанско отношение.

Сиви горски почви – разпространени са в Северна България между зоната на черноземните почви (от север) и по-ниските части на Стара Планина (на юг), при надморска височина до около 800 m. По площ са на второ място след черноземните почви и заемат около 17% от територията на страната. Образувани са върху различни почвообразуващи скали или продуктите от изветрянето им, но като цяло са бедни на карбонатни глини, песъчливо-глинести отложения или изветрителни материали от магмени скали. Климатът е умерено-континентален, но по-прохладен и влажен, а растителността е предимно от широколистни гори. Съдържанието на хумус е 2 – 4%, а хумусният хоризонт е с мощност около 30 – 40 cm.

Канелени горски почви – те са разпространени на юг от Стара планина и заемат хълмисти и нископланински територии с надморска височина до 800 m. Заемат горните склонове на Стара планина, но също се срещат и в Средна гора, Рила, Пирин и Родопите. Разпространени са и в по-високите части на някои котловинни полета, а общо възлизат на около 22% от почвите на страната. Разположени са върху млади в геоложко отношение седименти, като са образувани при преходни и континентално-средиземноморски климатични условия и широколистна растителност (предимно дъбови гори). Съдържанието на хумус варира от 1% до 5%, а мощността на хумусния хоризонт е до 30 – 35 cm.

Кафяви горски почви – разпространени са в планински територии с надморска височина от 700 – 800 m до 1700 – 1800 m, предимно в Родопите, Рила и Стара планина и по-малко – в Пирин и Витоша (около 15% от територията на страната). В по-високите части са се образували по-тъмнокафяви, а в по-ниските – по-светлокафяви почви. Разположени са върху рохкави песъчливо-глинести материали и различни по произход и състав скали. Образуват се при прохладен и влажен климат и под влиянието на широколистни и смесени гори. За тях е характерно интензивното разлагане и бързата минерализация на органичните вещества, като съдържанието на хумус е 3-8%.

Планинско-ливадни почви – образуват се над 1700 – 1800 m надморска височина и се отличават с каменист състав, значително количество неразложени органични вещества и слабо плодородие. Разпространени са в Рила, Пирин, Стара планина, Осогово и Беласица над горната граница на гората в субалпийския и алпийския пояс. Развиват се при високопланински климатични условия и ливадна растителност, при силно физическо изветряне и слабо проявени процеси на минерализация на органичните вещества. Съдържат висок процент хумус – над 10%, който обаче е в грубо състояние, съставен от непълно хумифицирани вещества.

Чернозем-смолници – образувани са в негативни форми на релефа като котловинните полета край София, Радомир, Ихтиман, по поречията на Марица и Тунджа, в Бургаската низина и др. Заемат около 5,5% от територията на страната. Граничат с канелени горски почви, като последните заемат по-високите части на територията на страната, а чернозем-смолниците заемат главно равнинни и котловинни места. Разполагат се върху млади (плиоценски и кватернерни) наслаг с различен състав, като съдържат значителни количества глина. Развитието им е свързано със съществуването на буйна ливадна и ливадно-блатна растителност, а след дренирането на водите влияние е оказала и широколистната горска растителност (предимно дъбова). Съдържанието на хумус е около 3%, а общата мощност на почвения профил варира от 100 – 150 до 200 cm.

Жълтоземни почви – срещат се под форма на петна в района на Странджа, басейна на река Велека, с надморска височина 300 – 400 m. Формират се под дъбови и букови гори, като в подлеса широко застъпена е странджанската зеленика. Изветрянето и почвообразуването при тези почви има някои особености. В тях има повече Al_2O_3 и по-малко Fe_2O_3 . Поради голямата влажност желязните оксиди се хидратират и се образува вторичен минерал – лимонит. Той придава жълтият цвят на почвата. Освен това се наблюдава и вътрешно почвено глиняване. Така по средата на профила се образува ясен слой от глинести частици. Съдържанието на хумус е ниско – до 2%.

Азонални почвени типове са:

Хумусно-карбонатни почви – характерни са за територии с карбонатни скали и развити карстови процеси, предимно в предпланинските и планинските райони на страната. Срещат се в районите на Сливница, Радомир, Трън, а също между Пещера и Велинград, около Чирпан и др.

Главно влияние при образуването на тези почви е оказала карбонатната почвообразуваща скала. При наличието на много карбонати хумусните киселини се свързват (утаяват се) като трудно разтворими хумати и се натрупват в почвата. Поради това се получават тъмни почви с голямо съдържание на хумус и карбонати. Съдържанието на хумус е между 3% и 7%, а съдържанието на карбонати достига до 50%.

Алувиално-ливадни почви – широко разпространени са по средните и долните течения на реките и по-рядко в горните, като заемат около 9% от територията на страната. Образувани са по речните тераси върху алувиални наноси и в условията на постоянно овлажняване, при развитието на буйна ливадна растителност. За тези почви е характерно, че не се наблюдава ясна диференциация на почвените слоеве. Добре обусловен е само хумусния слой с дебелина от 10 до 70 cm в зависимост от местонахождението на тези почви. След хумусния слой се наблюдава раздробен почвен материал, който не е оформен във вид на хоризонт и постепенно преминава в почвообразуващите речни наноси. Подпочвената вода се намира близо до повърхността и въпреки, че периодично се заливат от реките, те не са заблатени. Съдържанието на хумус варира от 1% до 5%.

Заблатени почви – имат слабо разпространение в България и значението им не е такова, както при другите почвени типове. Срещат се в Крайдунавските низини (Карабласка и Деленска), край резервата „Сребърна“, Варненското езеро, Бургаските блатата, около Несебър и Поморие, а също и в Тракийската низина по поречието на р. Марица. Заблатените почви се образуват в занижените части на терена, в които по различни пътища постъпва допълнително количество вода, което е причина за поддържане нивото на подпочвените води до самата повърхност на почвата. Поради преовлажнеността по цялата им дълбочина се създават анаеробни условия, които забавят разлагането на растителните остатъци, като значителна част от органичните останки или слабо се хумифицират, или се запазват почти неразложени и се натрупват във вид на торф. Когато заблатяването не е постоянно, се развива предимно ливадно-блатна растителност. Остатъците от тази растителност се хумифицират в значителна степен и не се образува торфен пласт.

Засолени почви – разпространени са във вид на отделни петна по поречията на Марица, Тунджа и по Черноморието. Образуван са в резултат на високото ниво на подпочвени води, съдържащи значителни количества от различни соли, и от затрудненото отводняване на тези територии. От натрупването на соли горните хоризонти на тези почви са с белезникав цвят. Съдържанието на хумус е ниско – до 2%. Според характера на засоляването се разделят на два подтипа – солончаки и солонци. Солончаците се отличават с високо съдържание на разтворими соли (хлориди, сулфати) – над 1%, които се натрупват в повърхностния слой и му придават белезникав цвят. Солонците се отличават с високо съдържание на обменен натрий, а хумусният хоризонт е обогатен на силиций.

Есетровите риби са високо ценени заради тяхното месо и хайвер. Всички есетрови обитават северното полукълбо и биват сладководни и проходни. Болшинството от есетровите риби живеят в морето, а в реките навлизат само за хвърляне на хайвера (проходни). Тези риби са с много древен произход, техните предци са плували в моретата от Юрския период, често определяни като „живи изкопаеми“. Есетрите притежават в анатомично и морфологично отношение примитивни белези. Те са едни от най-старите гръбначни животни, като фосилните данни показват, че съществуват от преди повече от 150 милиона години. Счита се, че са възникнали в сладководни води, но по-късно много от тях стават проходни. Те са безкостни риби, гръбначния стълб на които е хрущялна хорда. Характерна особеност при тези риби е именно хрущялният вътрешен скелет, но същевременно те се отличават от истинските хрущялни риби. Есетрите водят разнообразен начин на живот. Част от тях са проходни, други са полупроходни, а трети обитават само сладки води. Практически всички есетри водят дънен начин на живот, хранят се с червеи, моллюски, личинки на насекоми, риби и др., а моруната е подчертан хищник. Привързаността към дъното определя района им на хранене – морския шелф с дълбочина до 100 м и придънните слоеве на реките. Изключение представлява есетрообразната риба – веслонос, която консумира фито и зоопланктон, филтрирайки водата. Независимо от това какви води обитават, те винаги се размножават в реките. Предпочитат бързите течения и местата с високо съдържание на кислород. Проходните видове есетри, каквито са моруната, руската и атлантическата есетра, пъстругата и др. се размножават в реките, след което се завръщат в солените морски води. Сладководните видове като чигата не напускат сладководните водоеми, въпреки че при този вид съществуват и полупроходни видове. В морфологично отношение най-общо есетровите риби се характеризират с удължено вретеновидно тяло с 5 реда костни плочки – 1 гръбен, 2 странични и 2 коремни. Между редовете са разположени малки костни пластинки и зрънца. Главата е покрита плътно или почти плътно с костни щитчета. Главата на рибите е изтеглена в рило, устата е разположена отдолу. Пред устата има 4 мустачки, служещи на рибата при търсене на храна. Рилото е удължено, конично или лапатовидно. Устата е долна. С дълъг жизнен цикъл до 100 години, нарастват бързо. По-едрите видове са хищници. Всички са ценни стопански видове. Разпространени са само в северното полукълбо. Семейството включва 4 рода с около 25 вида. В Черно море и по българското крайбрежие се срещат 2 рода с 6 вида.

Моруната обикновено достига дължина 4 – 6 м и тегло до 100 – 250 кг. Най-едрият уловен екземпляр в р. Дунав е с тегло 882 кг, а в р. Волга – 9 м и 1230 кг. Моруната се счита за Понто-Каспийски вид, който се среща в Адриатическо, Черно, Азовско и Каспийско море и прилежащите им реки (Дунав, Волга, Дон и др.). Движи се по единично, като единствено при зимуване образува малки струпвания. Размножава се в речни води през май-юли при температура 9 – 17°C. Плодовитостта е от 0.23 до 7.7 милиона хайверни зърна. Относителната плодовитост е около 6000 – 7000 броя зърна на 1 кг живо тегло. Мъжките риби съзряват полове на 10 – 16 години, женските – на 14 – 20 години при дължина на тялото около 2 м и тегло 50 кг. Пределната възраст на моруната е 75 години. Младите риби се хранят с ракообразни, мекотели и др. Възрастните риби в р. Дунав – с шаранови риби и по-едри мекотели, а в морето – с попчета, сафрид и др. В морето големите моруни могат да консумират и морски птици. При култивиране проявява активен канибализъм, особено през ранните етапи на развитието си. Моруната е един от най-високо ценените видове заради месото и черния хайвер. През последните години уловите силно намаляват. Предлага се временна забрана на риболова.

Руската есетра достига дължина над 2 м и тегло до 110 кг, рядко повече от 3 м и над 110 кг. Тя е разпространена в Черно, Азовско и Каспийско море и прилежащите им по-големи реки. У нас се среща по цялото крайбрежие на Черно море и р. Дунав. Проходен вид. Придвижва се поединично или на малки стада. В р. Дунав навлиза през февруари-април и още по-масово през септември-декември. Мъжките риби съзряват полове на 8 – 12 години, а женските на 10 – 15 години при минимални размери от 9 кг и 1.2 м. При отглеждане в аквакултура руската есетра съзрява по-рано. Отдава хайвера си при температура на водата между 10 – 20°C само на места с бързо течение на реките. В р. Дунав се размножава през април-май. Плодовитостта ѝ е до 800 000

хайверни зърна. Относителната плодовитост е между 11.500 – 13.500 бр./кг тегло. Ембрионалното развитие продължава 100 часа при температура на водата 18°C. Пределната им възраст е до 40 – 50 години. Младите риби се хранят с ларви на олигохети, ручейници, а възрастните – с дребни мекотели, криви раци и др.

Руската есетра е най-широко използвания в света вид за получаване на хайвер и месо, в т.ч. и в България. През последните години числеността ѝ силно намалява поради влошаване на условията за размножаване и интензивния риболов.

Пъстругата достига дължина до 2.20 м и тегло до 80 кг. Среща се в Черно, Азовско и Каспийско море и прилежащите им реки. У нас по цялото крайбрежие на Черно море и р. Дунав. Тя е проходен вид, който предпочита плитки и топли води. Образува локални стада, привързани към дадена река. Размножителното мигриране в реките продължава целогодишно. Отлага хайвера си върху чакълесто дъно и в долните участъци на реките в близост до морето. По-топлолюбива риба от моруната и руската есетра. Размножава се от втората половина на април до юни при температура 8 – 15°C или през август при 19 – 25°C и повече. Относителната плодовитост на пъстругата е между 20.500 – 22.500 бр. хайверни зърна на 1 кг живо тегло. Продължителността на ембрионалния период е от 68 до 130 часа при температура на водата 16 – 23°C. Пределната възраст на пъстругата е до 35 години. Сравнително ранно полово съзряващ вид, особено в Азовско море. Мъжките риби съзряват на 5 – 8 години, а женските на 8 – 12 години. Младите риби се хранят с дребни ларви на ручейници, а възрастните с риба, мекотели и ракообразни. Пъстругата е ценен вид с относително по-високи запаси в Русия. У нас в миналото един от усилено ловените стопански видове. Застрашен от изчезване вид.

Чигата има обикновено дължина до 0.6 – 0.7 м и тегло до 5 – 8 кг, но достига и до 1.20 м и 16 кг. Тя е с най-малки размери от есетровите риби – обикновено теглото ѝ е 2 – 3 кг. В уловите най-често преобладават екземпляри с тегло 1 – 1.5 кг. Разпространена е в реките на Черноморския и Каспийския басейн, реките Волга, Днепър, Днестър и др. У нас се среща само в р. Дунав. Чигата е сладководна, дънна риба, която много рядко се задържа в бракични води. Предпочита големите реки с бързо течение, но добре преживява и в някои езера. В приустиевите райони на големите реки съществува полупроходна форма. За размножаване мигрира нагоре по течението през април-юни при температура на водата 12 – 17°C. Хайверът е лепкав и се отлага върху чакълесто дъно. Полова зрялост настъпва най-масово при размери на рибите от 40 – 50 см, когато мъжките риби са на възраст 3 – 5 години, а женските на 5 – 8 години. Полово зрелите чиги получават брачна окраска през пролетта под формата на бял налеп на главата, по което се различават от незрелите. Размножава се ежегодно при температура на водата 10 – 17°C. Относителната плодовитост е 20 000 – 30 000 броя хайверни зърна на 1 кг живо тегло. Личинките се излюпват за 4 – 5 дни при 13°C. Пределната възраст на чигата е до 27 години. Храни се с дребни олигохети, ларви на хирономиди, ручейници, едnodневки и др., ракообразни, мекотели, а понякога и с хайвер на други риби. В рибовъдните стопанства се храни с изкуствен фураж, в т.ч. и със слънчогледов шрот. Избягва обраслите с растителност и дълбока тиня участъци. Поради ранното достигане на полова зрялост в сравнение с другите есетрови видове чигата се използва за получаване на по-ранно съзряващи хибриди. Тя е ценен вид, но поради сравнително малката численост у нас няма особено стопанско значение.

Атлантическата есетра достига дължина до 6 м и тегло до 600 кг, но обикновено преобладават видовете с дължина 2 м и тегло 90 кг. Среща се в северната част на Атлантическия океан, по бреговете на Европа и Северна Америка и прилежащите морета – Балтийско и Северно, в Средиземноморския басейн, включително Адриатическо и Черно море. Навлиза и в големите реки, вливащи се в тези морета. У нас по цялото Черноморие и р. Дунав. Тя е типичен проходен вид, който мигрира в сладките води единствено за размножаване. Може да измине над 3000 км при миграции, свързани с храненето ѝ. От Черно море в р. Дунав мигрира през април-май. Отлага хайвера си върху каменисто дъно, в бързотечащи води при температура 8 – 12°C. Мъжките риби достигат полова зрялост при дължина на тялото 1.3 – 1.5 м и възраст 9 – 13 години, а женските при дължина на тялото 1.5 – 1.8 м и възраст 11 – 18 години. Относителната ѝ плодовитост е 12 000 – 20 000 бр./кг, мръстенето е при температура 7 – 22°C, а инкубационният период продължава от 3 до 14 дни. Младите живеят в сладките води в продължение на 1 – 2 години. Пределната възраст на немската есетра е до 60 години. Храната на младите риби се състои от ракообразни (дафнии, гамаруси и др.), а на възрастните – от червеи, ракообразни, мекотели и риба. Атланти-

ческата есетра е ценен вид. През последните години в пределите на Черно море и р. Дунав се счита за изчезнала. Включена е в Червената книга на България.

Шипът достига дължина до 2.2 м и тегло до 120 кг, най-често до 50 кг. Разпространен е в Черно море, Каспийско и Азовско море и прилежащите им реки (Драва, Дон, Кубан, Волга и др.). В р. Дунав е много рядък проходен вид, с ясно изразена стенохалинност (установени са сладководни популации). В морето обитава крайбрежната зона на дълбочина до 50 м. В реките предпочита дълбоките места. Мигрира в реките през март-април или през октомври-ноември. Както повечето есетри се размножава през 2 – 3 и повече години при температура на водата между 10 – 20°C. Средната плодовитост е от 400 000 – 600 000 хайверни зърна, а относителната – 10 000 – 20 000 бр./кг. Ембрионалният период на развитие продължава 102 часа при температура на водата 17 °С. Пределната възраст на шипа е до 36 години. Храни се с мекотели, разкообразни, личинки на насекоми и риба. Шипът е силно застрашен от изчезване вид, без стопанско значение, включен е в Червената книга на България.

Есетрови хибриди са намерили приложение в аквакултурите заедно с чистите видове. Често хибридният форми превъзхождат родителите по множество ценни в стопанско отношение показатели: активно търсене и използване на храната, скорост на растеж, устойчивост на заболявания, ранно достигане на полова зрялост. Бестерът е хибрид между моруната и чигата като наименованието му идва от първите срички на руските имена на рибите: белуга – моруна и стерлядь – чига. Той е получен през 1952 година чрез успешна междуродова хибридизация. Бестерът е бързорастящ, плодовит хибрид, съзряващ даже в условията на басейново отглеждане. В него се съчетават положителните качества – от моруната онаследява бързия темп на нарастване и хищничеството, а от чигата по-ранното достигане на полова зрялост. Като изкуствено създаден хибрид, бестерът е разпространен в тези страни, в които той е обект на аквакултурата като Русия, Украйна и др. Отглежда се при контролирани условия в различни ферми. Темпът му на нарастване е висок – еднолетките достигат 50 – 100 г, двулетките над 1000 г. По-външни признаци бестерът заема междинно положение между моруната и чигата. Броят на лъчите в гръбния плавник при моруната са 62, при чигата 40, а при хибрида 51. Броят на лъчите в аналния плавник при моруната са 31, при чигата 26, а при бестера 28. Мъжките индивиди съзряват на 3 – 4 година, а женските на 6 – 8. За промишлено получаване на хибрида се използват обикновено женски моруни с тегло 100 – 120 кг. Полученият от тях хайвер се осеменява със сперма от 40 – 50 броя мъжки чиги със средна маса на тялото 250 – 500 г. Възможно е получаването и на възрастни хибриди, като се използват мъжките индивиди на бестера и женските от моруната (троен хибрид: моруна х (моруна х чига). Хибридите се адаптира добре към различни екологични условия. Може да се разселва както в сладководни, така и в бракични води. Подходящ е за езерни и басейнови стопанства, садки, а също така и за естествени водоеми и язовири. Хибридите (шип х пъструга) бил получен в търсене на форми, пригодени за оползотворяване на сладководните басейни, в които практически са изчезнали проходните видове есетри. Хибридите има тегло до 30 кг и достигат по-рано полова зрялост от родителските форми. Кръстосването е не само с родителските форми, но и с други видове есетри. Младите хибриди (шип х пъструга) по жизненост и други показатели превишават другите видове есетрови риби.

Някога всички реки и морета в северното полукълбо на Земята били заселени с есетри. В Германия, в гр. Хамбург още в средата на миналия век съществувал есетров пазар, на който продавали 4 – 5 хил. бр. полово зрели риби за година, ловени близо до устието на р. Елба. Значителна вреда на есетровата популация е нанесена от хищническия лов в гъстонаселените райони на Европа и Америка. Най-осезаем удар върху есетровите популации нанесли язовирните стени на електрическите централи, преграждащи пътя за естествения ход на рибите, за хвърлянето на хайвера им в големите реки. В началото на XX век основната маса есетри, имащи стопанско значение обитавала Каспийско, Черно и Азовско море и била свързана с реките Волга, Дон и Дунав. Строителство на бентови съоръжения, които пречат за естествено размножаване, наложило като компенсации отначало в бившия СССР, а после и в други страни, изграждането на есетрови стопанства. Тяхната дейност се състои в получаване на полови продукти, инкубиране на хайвер, отглеждане на личинки и получаване на малки риби. Получените малки се пускат или непосредствено в реките, или се доставят в местата за бъдещо угояване. Паралелно, освен за получаване на потомство за увеличаване на природните популации, нараснал интересът и към създаване на маточни стада есетри, служещи като гарантиран източник за получаване на полови продукти (черен хайвер) в стокови стопанства. Преди повече от 300 години руснаците оценили черния хайвер

като деликатес. За да бъдат непрекъснати доставките за царската трапеза, Петър Велики поддържал петдесет специално обучени рибари на брега на Каспийското езеро. Веднага след Октомврийската революция болшевиките обявяват добива на хайвер за държавен монопол, който е запазен и до наши дни. СССР имал договор с Иран за поддържане на есетровата популация и строго изпълнявал поетите задължения. За Русия, Казахстан и Иран доларовите приходи от продажбата на черен хайвер са изключително важни. Основният добив е от Каспийско море.

Учените от Института по сладководно рибовъдство в Пловдив смятат, че в част от българските рибовъдни стопанства и язовирите, които заемат повече от 30 хил. декара водна площ, успешно може да се отглеждат някои от есетровите видове риби.

Обща характеристика на системите за управление на околната среда (СУОС)

Управлението на околната среда е неразделна част от цялостната система за управление на фирмите и организациите. Приложението на СУОС се синхронизира с дейностите в други направления във фирмата – качество на производството, финансиране, опазване здравето на работниците и служителите, безопасност на труда и други. Първостепенната цел на СУОС е да подобри състоянието на околната среда чрез намаляване на въздействието, което продуктите, услугите и производствата на организациите имат върху нея. СУОС е инструмент, който предоставя на ръководството на организацията структурна рамка за идентифициране, оценяване, управление и подобряване на резултатността ѝ спрямо околната среда. СУОС спомага да се осигури прилагане на целите и задълженията на организациите, така както са посочени в политиката им по околна среда, а служителите, изпълнителите и доставчиците да познават ролята и задълженията си при подпомагане на организацията да ги постигне. За да се осъществи непрекъснато подобряване се следва един прост цикличен процес, познат като „затворен цикъл“. Според него се планира това, което трябва да бъде направено, прави се това, което е планирано, проверява се, за да се гарантира, че е направено това, което е планирано и се предприемат действия, за да се направят подобрения.

СУОС съдържа основните принципи и изисквания, насочени към идентификация, изследване, контролиране и преразглеждане на факторите, оказващи влияние върху околната среда, позволяващи на фирмите и организациите да формулират адекватна политика и цели, насочени към нейното опазване. С въвеждането на СУОС те декларират своята ангажираност и гарантират пред своите служители, клиенти, властите и обществото като цяло, че реално са обвързани с решаването на проблемите на околната среда. С въвеждането на СУОС се постига съответствие с изискванията на законодателството, тъй като конкретните технически параметри на опазването на околната среда са обект на задължително правно регулиране и контрол.

За да може една система за управление да бъде въведена в дадена организация, тя трябва да бъде приета като Български държавен стандарт (БДС), като международен стандарт или като международна спецификация. EMAS и ISO 14001 са стандарти за системи за управление по околна среда, които предоставят на организациите средства за постигане на признание за въведените от тях СУОС. ISO 14001 е световно известен стандарт за СУОС, който конкретизира стандартите за една фирмена система за управление. Схемата за управление по околна среда и одитиране (EMAS) е популярна в страните членки на ЕС, като включва всички изисквания на ISO 14001 с няколко допълнения. Стандартът БДС EN ISO 14001:2015 е единственият, по който една СУОС може да бъде сертифицирана у нас. Това е системен стандарт, който дава възможност на всяко предприятие да формулира политика и си постави цели, взимайки предвид изискванията на законите и пълната информация за въздействието върху околната среда.

Въвеждане на СУОС

Въвеждането на СУОС може да изглежда доста сложно, особено за малките и средни предприятия или за организациите, разполагащи с ограничени ресурси. Посредством разделянето на процеса на въвеждане на СУОС на управляеми етапи, организациите могат да внедрят системата с темпове, съобразени с тяхната организация и ресурсите, които имат на разположение. Всеки етап е разделен на дейности, които трябва да се проведат. Процесът е лесен – след като се изпълнят всички дейности към даден етап, може да се продължи към следващия етап. В допълнение, поетапният подход първоначално насочва организациите към намаляване на разходите, давайки възможност част от ползите свързани със СУОС да бъдат получени в началото на процеса. Независимо че това може да не доведе до съществена промяна на резултатността на организацията спрямо околната среда, то ще я стимулира да завърши прилагането на СУОС и в крайна сметка ще доведе до подобряване на резултатността.

ЕТАП 1. АНГАЖИМЕНТ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА БАЗОВОТО СЪСТОЯНИЕ

1.1. *Ангажираност на висшето ръководство*

Ангажираността на висшето ръководство е основно условие за успешното въвеждане на СУОС, това е първата стъпка в процеса на въвеждане, но поддържането на тази ангажираност също е задължително условие, за да бъде ефективна СУОС.

1.2. *Оценка на базовото състояние*

Оценката на базовото състояние е позната като „Преглед по околна среда“, който трябва да установи отношенията на организацията с околната среда, и най-вече резултатността спрямо околната среда. Оценката на базовото състояние трябва да включва информация за разположението на обекта, основните елементи на технологичния процес, информация за вероятните значителни взаимодействия с околната среда и въздействията, свързани с процесите, дейностите, услугите и продуктите на организацията, за основните използвани ресурси и др.

1.3. *Разработване на проект на политика по околна среда*

Политиката по околна среда е основа на всяка СУОС. Тя е ангажимент на ръководството на организацията и трябва да посочва целите и да съдържа ангажимент на организацията във връзка с околната среда – ангажимент за предотвратяване на замърсяването, ангажимент за съответствие със законовите и други изисквания, ангажимент за непрекъснато подобрене.

1.4. *Разработване на индикатори за резултатност спрямо околната среда*

За да могат да бъдат управлявани значимите аспекти и въздействия на околната среда (определени в оценката на базовото състояние), е необходимо да се измерва резултатността на организацията спрямо околната среда. Индикаторите за резултатност формират основа за демонстриране на непрекъснато подобрене и те могат да се използват за определяне на основни аспекти, свързани с околната среда.

1.5. *Разработване на проект на План за въвеждане на СУОС*

За успешно и стегнато въвеждане на СУОС е необходим план, който да включва: задачите, които трябва да бъдат изпълнени, ресурсите, необходими за въвеждането, достъпността на ресурсите, планиране на всички дейности, така че да се осигури управляемо натоварване на ангажираните и обезпечаване на други задължения.

ЕТАП 2. СЪОТВЕТСТВИЕ С НОРМАТИВНИ И ДРУГИ ИЗИСКВАНИЯ

2.1. *Определяне на приложимите законови изисквания*

Оценката на базовото състояние на организацията определя услугите, продуктите, провежданите процеси и дали те въздействат върху околната среда. Установеното от оценката на базовото състояние е добра отправна точка за определяне на законовите изисквания и какви нормативни документи са валидни за организацията.

2.2. *Проверка на съответствието*

След определяне на всички изисквания (законови и други), следваща стъпка е проверка доколко организацията спазва тези изисквания. Ефективната проверка на съответствието разглежда нормални, преходни и аномални и аварийни ситуации за всички услуги, продукти и процеси.

2.3. *Поддържане на съответствието*

Резултатът от проверката за съответствие трябва да доведе до определяне на причините за несъответствие. Служителите, извършващи проверката, трябва да изготвят препоръки за подобряващи действия, както и да се въведе система за проверка на непрекъснато съответствие.

2.4. *Разработване на индикатори на съответствието*

Те помагат за следене на съответствието със законовите и други изисквания, като най-общо могат да бъдат разделени на две групи: отразяващи индикатори (разглеждащи предишна резултатност) и прогнозиращи индикатори (разглеждащи фактори, които влияят на вероятността организацията да наруши изискванията). Първите спомагат при определяне доколко добре се контролират ситуациите и при откриване на проблемните области, докато вторите се използват при определяне на количеството усилия, вложени за контрол на съответствието с изискванията.

ЕТАП 3. РАЗРАБОТВАНЕ НА ПРОГРАМА ЗА УПРАВЛЕНИЕ ПО ОКОЛНА СРЕДА

3.1. *Оценяване въздействията върху околната среда*

Дейностите, услугите и продуктите на организацията я принуждават да взаимодейства с околната среда – аспекти на околната среда на организацията. Аспектите на околната среда на една организация могат да доведат до промени в околната среда – въздействия върху околната

среда на организацията. Всяка дейност, продукт или услуга имат редица аспекти, а всеки аспект може да има множество въздействия, които могат да се определят като нормални, анормални и аварийни ситуации. След определяне на аспектите и въздействията, трябва да се оцени относителната им значимост, защото поради големия им брой е невъзможно организацията да се справи с тях едновременно. Поради това, чрез оценяване на значимостта, планирането и действията могат да бъдат насочени първо към най-значимите от тях.

3.2. *Завършване на политиката по околна среда*

Политиката по околна среда е най-високо ниво на изявление за намеренията на организацията, така че поетите в нея ангажименти трябва да бъдат отразени напълно в СУОС. Обикновено политиката по околна среда се прилага в дълъг период от време (между 10 и 15 години) и поетите в нея ангажименти трябва да отразяват това обстоятелство.

3.3. *Разработване на общи и конкретни цели по околна среда*

Целта на общите и конкретни цели е осигуряване на насоченост на СУОС и определяне на постиженията, които организацията трябва да направи. Общите и конкретни цели подкрепят политиката на организацията по околна среда и включват най-значимите аспекти и въздействия.

3.4. *Определяне на индикатори за резултатност спрямо околната среда*

Индикаторите за резултатност спрямо околната среда трябва да покажат, че конкретните цели са изпълнени, да подпомагат да се проследи напредъка спрямо конкретните цели и да помогнат за определяне на проблеми, възможности и решения.

3.5. *Разработване на програма за управление по околна среда*

Програмата за управление по околна среда е подробен план, определящ действията, необходими за постигане на обявените общи и конкретни цели в СУОС, сроковете, отговорностите и подходящите ресурси. Тя допринася за развитието на СУОС, представяйки ясно непрекъснатото подобрене на резултатността спрямо околната среда.

3.6. *Въвеждане на политика по околна среда, общи и конкретни цели и индикатори*

За да бъде въведена СУОС трябва да бъдат завършени политиката по околна среда, общите и конкретни цели, индикаторите, програмата за управление по околна среда и процедурите за оперативен контрол, а след това да се определи най-подходящия начин за въвеждането на СУОС.

ЕТАП 4. ВНЕДРЯВАНЕ И ФУНКЦИОНИРАНЕ НА СУОС

4.1. *Завършване на структурата за управление и отговорности*

Важно е да има ясно определени функции и отговорности по отношение на СУОС и инициативите във връзка с околната среда, за да бъдат те успешно внедрени. Поетият от страна висшето ръководство ангажимент, трябва да бъде потвърден и официализиран, за да бъде гарантирано осигуряване на ресурсите, нужни за въвеждане и поддържане на СУОС.

4.2. *Обучение, информираност, компетентност, планове и документиране*

Обучението е упражнение повишаващо информираността, изграждащо уменията и знанията, и даващо възможност на лицата да повишат компетентността си. Трябва да бъде извършен анализ на нуждите от обучение за определяне на необходимостта за конкретните служители въз основа на функцията, която има служителят в организацията и конкретно в СУОС.

4.3. *Установяване и поддържане на официална комуникация*

Служителите трябва да знаят какво и кога да правят, за да функционира СУОС. В допълнение, хората са по-мотивирани да извършат дадени дейности, когато осъзнават защо следва да бъдат извършвани, както и когато получават обратна връзка във връзка с постигнатото.

4.4. *Записи*

Записите показват, че СУОС работи ефективно и че ангажиментите и процедурите се спазват. Някои записи се изискват от законодателството като доказателство, докато други подпомагат управлението на СУОС. Освен това ISO14001 изисква съхраняване на записи за обучение, одити и калибриране, когато са свързани с околна среда.

4.5. *Документиране и съхранение на записи*

СУОС неизбежно изисква документация и записи. Създаването на процедури, подпомагащи разбирането и осигуряващи последователност е пример за това, че документацията може да бъде полезна и необходима.

4.6. *Контрол на документацията*

За да се поддържа ефективна СУОС, е важно да бъде известно кои документи са в системата и къде се съхраняват.

4.7. Преглед и проверка на готовността за действие при аварийни ситуации

В случай на инцидент или аварийна ситуация, е важно да бъдат известни начините за намаляване на последващите въздействия върху околната среда. Добрата подготовка и обученост на персонала за действие при такива ситуации могат да намалят въздействието и да спестят на организацията разходи за ликвидиране на замърсявания, глоби, лоша популярност и др.

4.8. Разработване на индикатори за СУОС

Механизмите, използвани за измерване на характеристиките на СУОС, обикновено се наричат управленски индикатори на резултатността. Те се концентрират върху управлението на системата (разглеждат резултатността спрямо планираното, посещаемостта на срещи за преглед на управлението или времето за преодоляване на несъответствие) и се различават от оперативните индикатори за резултатност, измерващи директно резултатността спрямо околната среда.

ЕТАП 5. ПРОВЕРКА, ОДИТ И ПРЕРАЗГЛЕЖДАНЕ

5.1. Провеждане на одит

При провеждане на одит трябва да бъде оценено съответствието на СУОС с изискванията, поставени в одиторските критерии. Основната цел по време на одит е да се получат обективни доказателства, които могат да потвърдят и да покажат дали СУОС съответства или не на изискванията в съответните стандарти за околна среда и дали дейностите на организацията съответстват на ангажиментите, поети в СУОС.

5.2. Коригиране на несъответствията и предприемане на превантивни действия

Несъответствие в СУОС се появява когато дейностите се отклоняват от изискванията или когато резултатността спрямо околната среда падне под минималните стандартни стойности.

5.3. Преглед на управлението

Прегледът на управлението е неразделна част от всяка СУОС. Форматът на прегледа на управлението може да бъде различен, но най-често това е официална среща. От срещата за прегледа на управлението трябва да има резултати, включително протокол с договорени срокове, действия и отговорности.

5.4. Подобряване на резултатността спрямо околната среда

Движеща сила за всяка успешна СУОС е стремежът към непрекъснато подобрене спрямо околната среда. Тази концепция е основа за сертифициране по ISO14001 или регистрация по EMAS. Невъзможно е една организация да има нулево въздействие върху околната среда, така че винаги има възможност за подобряване.

5.5. Подобряване на СУОС

СУОС е рамка, която управлява постигането на подобро резултатност спрямо околната среда. Поради това, ако СУОС е проектирана лошо, постигането на подобрене на резултатността е трудно. В допълнение, с въвеждането на нови методи за подобрене, СУОС има нужда от актуализиране, за да осигури подкрепа на управлението на проекта.

5.6. Обучение

Правилно е в началото обучението да бъде насочено към предотвратяване на замърсяването, но по-нататък то трябва да се разшири в областите, в които може да се постигне подобрене на ефективността.

5.7. Оперативен контрол

Трябва да бъдат разработени серия от методи за оперативен контрол, които да бъдат съсредоточени върху съответствие със законодателството, напр. правилно разделяне на опасните от общия поток отпадъци. Когато служителите са приели първоначалните методи за контрол, техният обхват може да бъде разширен за подобряване на СУОС, като се включат по-специфични въпроси, като повишаване на ефективността.

5.8. Комуникация

Участието на служителите трябва да бъде окуражавано чрез използване на ефективна система за комуникация. Подобрене на СУОС може да бъде постигнато чрез използване на междинен човек, например отговорника, като лице за контакт. Той може да предава информацията към представителя на ръководството.

5.9. Готовност за действие при аварийни ситуации и процедури за реакция

Изискване на ISO14001 и на EMAS е да се проиграват на аварийни за околната среда ситуации. След предприемане на такива учения, установеното трябва да се използва за усъвършенстване на слабостите в процедурите на СУОС.

5.10. Обратна връзка от служителите

След като СУОС стане част от културата на организацията, трябва да се търси обратна връзка от служителите, защото след като някой се опита да използва конкретен формуляр, ще се разбере дали той е лесен за използване.

5.11. Проследяване на подобрението

Представянето на прегледа и подобрението на СУОС е важно при одит за сертификация по ISO 14001 или регистрация по EMAS. Поради това е необходимо да се съхраняват записите, потвърждаващи направените подобрения на системата.

Сертифицирането се извършва от сертификационна организация, която винаги е трета независима страна. Консултантската и сертификационната дейност не могат да бъдат извършвани от една и съща организация или от свързани организации.

Специалност

„Медицинска биология“

КОНСПЕКТ ЗА ДЪРЖАВЕН ИЗПИТ

СПЕЦИАЛНОСТ „МЕДИЦИНСКА БИОЛОГИЯ“

ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНО-КВАЛИФИКАЦИОННА СТЕПЕН „БАКАЛАВЪР“

ПРОФЕСИОНАЛНА КВАЛИФИКАЦИЯ „МЕДИЦИНСКИ БИОЛОГ“

1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори.
2. Вируси. Вирусна структура. Репродукция на ДНК и РНК вируси.
3. Структурна организация на еукариотната клетка. Двумембранни клетъчни органели – структура и функция.
4. Генетичен материал и ДНК репликация. Нуклеинови киселини – първична и вторична структура на ДНК и РНК, денатурация и ренатурация. Репликация на ДНК – репликацион, ДНК полимерази, основни етапи. Особенности при прокариоти и еукариоти.
5. Реализация на генетичната информация. Транскрипция – транскрипционна единица, РНК полимерази, основни етапи. Транслация – генетичен код, рибозоми, основни етапи. Особенности при прокариоти и еукариоти.
6. Хромозомите – клетъчни структури, носители на наследствеността. Морфология и молекулен строеж. Кариотип.
7. Мутационна изменчивост. Хромозомни мутации.
8. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Оплождане. Етапи на ембрионалното развитие от първа до осма седмица при човека. Зародишни обвивки и плацентация.
9. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете).
10. Ферментации – алкохолна, млечнокисела, мравченокисела, масленокисела, пропионовокисела. Представители, биохимизъм, приложение.
11. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.
12. Катаболизъм на белтъци и α-аминокиселини. Дезаминиране, трансаминиране, декарбоксилиране. Разграждане на въглеродния скелет. Орнитинов цикъл.
13. Специфични структури и биологично-активни вещества в растителните клетки. Отделителни структури при висшите растения.
14. Покритосеменни растения с приложение в народната и официалната медицина.
15. Паразитни плоски и кръгли червеи с медицинско значение – жизнени цикли на *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Echinococcus granulosus*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*.
16. Видове зоонози и разпространение при основни групи гръбначни животни.
17. Морфологичен строеж на сърцето и кръвоносните съдове при човека. Кръгове на кръвообращение.
18. Функции на сърцето. Физиологични свойства на миокарда. Сърдечен цикъл. Основни показатели на работата на сърцето. Физиология на кръвоносните съдове. Регулация на сърдечно-съдовата система.
19. Физиология на възбудимите системи. Мембранен потенциал и потенциал на действие. Невронът като възбудима структура. Синапси и видове медиатори.
20. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък- външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората.
21. Ендокринни жлези – анатомични и функционални особености. Хипофиза – топография, макро- и микроскопски строеж, хормони на адено- и неврохипофизата. Хипоталамо-хипофизна система. Устройство и хормони на щитовидната, надбъбречните и задстомашната жлези.

22. Структурни и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие – генетика на VDJ пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности, ензими.
23. Инфекция, инфекциозен процес, инфекциозна болест. Свойства на инфекциозните агенти – патогенност, вирулентност, инвазивност, токсигенност. Фактори на патогенност и вирулентност.
24. Половосвързано предаване на наследствените признаци (болести) при човека. Х-свързан рецесивен и Х-свързан доминантен тип унаследяване.
25. Менделиращи признаци при човека. Моногенни заболявания с автозомно-доминантно и автозомно-рецесивно унаследяване.
26. Признаци и симптоми за безплодие (инфертилност) при жените. Причини, диагностика и лечение.
27. Класификация и методи на изучаване на биоритмите. Биоритми и адаптация при човека.
28. Обща характеристика и класификация на антибиотиците. Механизъм на действие на различните класове антибиотици. Биотехнологии за получаване на антибиотици (β -лактами, тетрациклини, аминогликозиди, макролиди и анзамицини).
29. Основни концепции в токсикологията и видове токсично увреждане на организмите. Токсикокинетика и токсикодинамика – същност.
30. Токсични вещества и интоксикации. Нелекарствени и лекарствени отравяния. Характеристика на основните увреждания с токсични вещества и медикаменти.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атанасова, И., Атанасова, С., Балаценко, Г., Богданова, Н., Въжарова, Р., Захариева, Б., Иванова, М., Илиева, П., Йорданова, А., Кременски, И., Михайлова, А., Начева, М., Наумова, Е., Савов А., Славчев, С., Тодорова, А., Тончева, Д. 1999. Медицинска генетика в клиничната практика. Сиела.
2. Влахов, С. 2006. Микробиология. Акад. изд. „Проф. М. Дринов“, София.
3. Вълев, С. 1978. Ботаника за фармацевти, 3 изд., София.
4. Джамбазов, Б., Бацалова, Ц. 2010. Практически занятия по клетъчна биология. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив
5. Димитрова, И., Коев, К., Нинова, Д. 2003. Ръководство по анатомия и морфология на растенията, Пловдив.
6. Донеv, А. 2008. Зоология на бегръбначните. Издателство ИПК „Екобелан“ – Асеновград.
7. Драганов, М., Попов, Н. 2010. Клетъчна биология. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
8. Ефремов, Г., Баранов, В., Горбунова, В., Тончева, Д., Лалчев, С., Кременски, И., Иващенко, Т., Кузнецова, Т., Кашеева, Т. 1999. Медицинска генетика. Сиела.
9. Иванова, Е. 2003. Генетика във въпроси и отговори. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
10. Иванова, Е., Стайкова, Т., Андреевко, Е. 2011. Генетика с биологични основи на поведението и психогенетика. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
11. Иванова, Е., Стайкова, Т., Андреевко, Е. и др. 2011. Генетични основи на поведението. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
12. Иванова, Е., Стайкова, Т., Ирикова, Т. 2001. Генетика на човека. Пловдив, Университетско Издателство „Паисий Хилендарски“. издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
13. Караиванова, М., Костадинов, И., Момеков, Г., Колева, М., Делев, Д. 2008. Ксенобиотици тосичност, превантивни и терапевтични стратегии. Издателство „Софттрейд“, София.
14. Коева, И., Атанасова, П., Петрова, Е., Пенкова Н., Тричкова В. 2005. Цитология, обща хистология, ембриология. ИК „ВАП“, Пловдив.
15. Косекова, Г., Митев, В., Алексеев, А., Николов, Т. Лекции по биохимия, 2-ро преработено издание, Централна медицинска библиотека, София, 2010.
16. Мартинов, С., Комитова, Р. (ред.). 2012. Зоозози при човека и животните. Медицина и физкултура, София.
17. Минков, И. 1992. Молекулярна биология, Унив. Изд. „Св. Кл. Охридски“, <http://plantgene.uni-plovdiv.bg/materials/>
18. Митев, Д. 2010. Зоология на гръбначните животни. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
19. Младенов Р, Тенева И. 2011. Фикология. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, стр. 210. ISBN 978-954-423-675-5.
20. Николов, С. 2006. Специализирана енциклопедия на лечебните растения в България, София.
21. Николова, М. 2011. Анатомия на човека – Пловдив, „Макрос“ ООД.
22. Николова, М., Андреевко, Е. 2012. Учебно пособие за тестова проверка върху нервна система. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
23. Николова, М., Тинешев, С. 2011. Учебно пособие за тестова проверка върху опорно-двигателен апарат. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
24. Петков, А. 2000. Физиология на животните, Колос, Хасково.
25. Петков, П. 2003. Цитология, обща хистология и ембриология. Изд. „Знание“.
26. Пирьова, Б., Начев, Н. 2006. Физиология на човека. Изд. Арсов, София.
27. Попов, Н., Томова, Е., Джамбазов, Б. 2008. Цитология, хистология и ембриология. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
28. Попов, П., Ирикова, Т. 2003. Обща генетика. Пловдив, Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
29. Синельников, Р. Д. 1972. Атлас анатомии човека: I, II, III, том.
30. Стефанова-Гатева, Б., Асенов, И., Бенбасат, Й. 2006. Фармацевтична ботаника, София.
31. Тачев, А. 2010. Физиология на човека и животните, Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, Пловдив.

32. Тенева И. 2025. Фикология. – Второ преработено и допълнено издание. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“, ISBN 978-619-281-020-7, Пловдив, 232 стр.
33. Цонева, М., Георгиева, В., Вълкова, Г., Василева, Л. 1989. „Основи на медицинската генетика“. София. Медицина и физкултура.
34. Чучков, Х., Йотовски, П. 2011. Цитология, обща хистология, обща ембриология. Университетско издателство „Св. Климент Охридски“, София.
35. Шмидт, Т. 1996. Физиология человека, Мир, Москва.
36. Agadzhanian N, I. Radysh, A. Severin, N. Ermakova. 1995. Ecology, adaptation and biorhythms. *Aerospace and environmental medicine*, 29(3):16–9.
37. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A. 2009. *Essential Cell Biology*, 3rd Edition. Garland Science.
38. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2002. *Molecular Biology of the Cell* 4th Ed., New York: Garland Publishing.
39. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. 2002. *Biochemistry*. New York: W. H. Freeman and Co.
40. Cooper, G.M. 2000. *The Cell – A Molecular Approach*. 2nd Ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc.
41. Krebs, J. E. *Lewin’s Genes X*. 2011. J&B Publishers.
42. Leninger, A., Nelson, D.L., Cox, M.M. 2008. *Leninger Principles of Biochemistry*, 5th ed., Plagrave Macmillan.
43. Madigan, M., Martinko, M., Bender, K., Buckley, D., Stahl, D. 2017. *Brock Biology of Microorganisms*, 14th Ed., Pearson.
44. Murray, P. 2018. *Basic Medical Microbiology*, Elsevier
45. Willey, J., Sherwood, L., Woolverton, Cr. 2017. *Prescott's Microbiology*, 9th Ed., McGraw-Hill Higher Education.

Растенията, животните и висшите протисти са **еукариоти**. Бактериите и цианобактериите са **прокариоти**. Основните характеристики на прокариотната клетка са следните: (1) Липсва морфологически обособено ядро, генетичният материал е локализиран в нуклеоид, който не е ограничен от ядрена мембрана; (2) Слаба компартментализация; липсват мембранни органели като митохондрии, хлоропласти, апарат на Голджи, ендоплазматичен ретикулум; (3) Клетъчната мембрана не съдържа стероли, като холестерол; (4) Рибозомите са 70S, с 30S и 50S субединици; (5) Прокариотната клетка е хаплоидна; дели се чрез проста фузия.

Прокариотите се разделят на две големи таксономични групи – Еубактерии и Архебактерии. **Еубактериите** (същински бактерии) съдържат пептидогликан (муреин) в клетъчната си стена. Основен компонент на муреина е мурамовата киселина. Клетъчните стени на някои **архебактерии** съдържат псевдомуреин, в който липсва мурамова киселина. В прокариотната клетка са установени редица структури: клетъчна стена, цитоплазмена мембрана, цитоплазма, рибозоми, нуклеоид, капсула и слизести слоеве, фимбрии, пили, флагелуми, ендоспори.

Клетъчна стена

Всички прокариотни клетки с изключение на родове *Mycoplasma* и *Thermoplasma* (архебактерии без клетъчна стена) притежават стена. Клетъчната стена е един от най-съществените компоненти на прокариотната клетка по няколко причини: (1) стената е здрава, придава форма на клетката и я предпазва от осмотичен лизис; (2) клетъчната стена участва в патогенезата при редица патогенни бактерии; (3) стената защитава клетката от токсични субстанции; (4) стената е място за действие на някои антибиотици.

През 1884 г. Кристиан Грам разработва оцветителен метод, по който бактериите се разделят на две групи. Грам-положителните бактерии (Грам⁺) се оцветяват в синьо-виолетово, а Грам-отрицателните (Грам⁻) в розово-червено. Оцветяването по Грам корелира със съществени структурни особености на бактериите и е важен таксономичен признак. Грам⁺ и Грам⁻ бактерии се различават помежду си, преди всичко по устройството на клетъчните стени.

Основен компонент на клетъчната стена е хетерополимерът **пептидогликан** (муреин). Пептидогликанът се състои от полизахариден скелет и странична верига съдържаща D- и L-аминокиселини. Скелетът на веригите е съставен от редуващи се остатъци на N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамова киселина, свързани с β -1,4-гликозидни връзки. N-ацетилмурамова киселина представлява N-ацетилглюкозаминлактат. С карбоксилната група на лактилния остатък на N-ацетилмурамовата киселина е свързана къса пептидна верига, включваща аминокиселините L-аланин, D-глутаминова киселина, *meso*-диаминопимелинова киселина (*meso*-DAP) и D-аланин. При повечето Грам⁺ бактерии, *meso*-DAP е заместена от L-лизин. Три от аминокиселините (D-глутаминова киселина, *meso*-DAP и D-аланин) не се срещат в природните белтъци.

Страничните вериги на пептидогликана са свързани чрез пептидни връзки, които варират. Диаминокиселините (*meso*-DAP и L-лизин) изпълняват важна роля в междумолекулното свързване, тъй като образуват пептидни връзки и с двете си аминокиселини. При Грам⁻ бактерии карбоксилната група на терминалния D-аланин е свързана директно с аминокиселината на *meso*-DAP. Грам⁺ бактерии осъществяват напречното свързване чрез пептиден мост, съставен от 1 до 5 аминокиселинни остатъка (най-често пентаглицинов мост). В резултат на напречното свързване, пептидогликанът добива структурата на мрежа, която здрава и поддържа формата на клетката. Мурамовата киселина, D-аминокиселините и *meso*-DAP не се синтезират от бозайниците.

Клетъчна стена при Грам-положителни бактерии. Грам⁺ бактерии са обвити от плътна, хомогенна клетъчна стена съставена предимно от многослоен пептидогликан с дебелина 20-80 nm. Стената съдържа също голямо количество **тейхоеви киселини** – полимери на глицерол или рибитол, свързани с фосфатни групи. Към глицероловите или рибитоловите групи се присъединяват аминокиселини (най-често аланин) или захари (глюкоза). Тейхоевите киселини се свързват с

пептидогликана или с липидите на цитоплазмената мембрана; този случай се наричат липотейхо-еви киселини. Тейхоевите киселини са отрицателно заредени и концентрират метални йони около молекулите си; достигат до повърхността на пептидогликана и придават на клетъчната стена отрицателен заряд. Тези молекули са от значение и за поддържане структурата на клетъчната стена.

Клетъчна стена при Грам-отрицателни бактерии. Грам-отрицателната клетъчна стена има комплексна структура. Тя включва тънък (1 – 3 nm) пептидогликан, съставен от 1 или 2 слоя, обкръжен от **външна мембрана**. Пространството между цитоплазмената и външната мембрана се нарича периплазмено пространство (периплазма). Пептидогликанът при Грам⁻ бактерии се намира в периплазменото пространство. Размерите на периплазмата варират при различните Грам⁻ бактерии, най-често от 30 до 70 nm. Периплазмата съдържа редица протеини – предимно хидролитични ензими (**екзоензими**) и транспортни белтъци. Само при някои Грам⁺ бактерии се установява подобна тясна цепнатина между цитоплазмената мембрана и пептидогликана, поради което за периплазма се говори предимно при Грам⁻ бактерии.

Външната мембрана на стената е съставена от белтъци, липиди и липополизахариди. Липополизахаридите са най-съществените компоненти на външната мембрана и са съставени от три части: липид А, сърцевинен полизахарид и О-странична верига. Липополизахаридът (LPS) е проучен детайлно при род *Salmonella*. Липид А се състои от два фосфорилирани остатъка на глюкозамин, естерифизирани с дълговерижни мастни киселини. Сърцевинният полизахарид е прикрепен към липид А. При *Salmonella* е изграден от 10 захарни остатъци, повечето със специфична структура. Сърцевинният полизахарид съдържа заредени захари и фосфатни групи и допринася за отрицателния заряд на бактериалната повърхност. О-страничната верига или **О антигенът** е къса, повтаряща се последователност от захарни остатъци, някои от които са специфични.

Липополизахаридът предпазва патогенните Грам⁻ бактерии от имунната защита на гостоприемника. О-страничната верига се нарича **О антиген**, защото предизвиква имунен отговор. Много Грам⁻ бактерии са в състояние бързо да променят състава на странични вериги, като по този начин преодоляват защитните механизми на гостоприемника. Липид А често е токсичен; в резултат на това LPS може действа като **ендотоксин**. Външната мембрана има по-голяма пропускливост от цитоплазмената, поради наличието на поринови канали, съставени от три молекули, наречени порини. През каналите преминават молекули с размери 600 – 700 Da.

Цитоплазмена мембрана

Цитоплазмената мембрана е най-динамичната структура в прокариотната клетка. Тя е определяща за контакта на клетката с обкръжаващата я среда. Мембраната е **селективна полупропусклива бариера**, която регулира както постъпването на вещества в клетката, така и извеждането им от клетката в средата. Бактериалната мембрана позволява свободно движение на вода и незаредени молекули с маса около 100 Da. По-големи молекули и заредени субстанции се придвижват само с участие на специални мембранни транспортни процеси и **транспортни системи**. Прокариотите са лишени от вътреклетъчни органели, поради което в мембраната са локализиран редица важни метаболитни процеси: **аеробно дишане, фотосинтеза и синтез на АТР**. Освен транспортни протеини, медиращи постъпването на вещества в клетката прокариотната мембрана съдържа **рецепторни молекули – сензорни протеини**, които определят концентрацията на молекулите в средата и изпращат сигнали в цитоплазмата. Чрез тях, клетката може да установи и отговори на химични сигнали от обкръжаващата я среда. Мембраната съдържа **ензими**, участващи в синтеза клетъчната стена, формирането на септа в делящи се клетки, мембранный синтез, репликацията на ДНК, фиксацията на CO₂ и окислението на амоняк.

Бактериалните мембрани са съставени от около 40% фосфолипиди и 60% белтъци. Фосфолипидите са амфипатични молекули с полярни, хидрофилни глицеролови „глави“, свързани чрез естерни връзки с две неполярни, хидрофобни мастнокиселинни „опашки“. Тези свойства на липидите им позволяват да формират бислой в мембраната, в който са диспергирани различни структурни и ензимни протеини, които изпълняват повечето мембранни функции. Бактериалните мембрани се различават от клетъчните мембрани на еукариотите по това, че съдържат **наситени** или **мононенаситени** мастни киселини и нормално **не съдържат стероли**, като холестерол. Редица бактериални мембрани, обаче съдържат пентациклични стерол-подобни молекули наречени **хопанониди**, които стабилизират мембраната.

Мембраните при архебактериите са различни, което е свързано с адаптирането им към екстремални местообитания. Мембраните формират бислой, но липидите са наситени, разклонени, повтарящи се изопреноидни субединици, свързани с глицерола чрез етерни връзки.

Независимо, че прокариотите нямат мембранни органели, като митохондрии и хлоропласти, някои бактерии притежават **вътреклетъчни мембранни структури**. Често цитоплазматичната мембрана образува **вгъвания**, които заемат голяма част от вътреклетъчното пространство при фототрофните и нитрифициращите бактерии. При нитрифициращите бактерии (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*) вътрешните мембранни структури осигуряват по-голяма повърхност във връзка с интензивното дишане. Мембранните системи при фототрофните бактерии съдържат пигменти, поглъщащи светлина (бактериохлорофил и каротеноиди), а също компоненти на фотосинтетичната електрон-транспортна верига и фосфорилиращата система.

Друга мембранна структура при бактериите е **мезозомата**. Мезозомите са инвагинации на цитоплазматичната мембрана под формата на везикули, тубули или ламели. Въпреки, че мезозомите се свързват с различни функции (напр. координация на репликацията на ДНК, формиране на септа при деленето на клетката) много бактериолози смятат, че те са артефакти, получени по време на химическата фиксация на бактериите за електронна микроскопия.

Цитоплазма и включения

Цитоплазмата е съдържанието на клетката, ограничено от цитоплазматичната мембрана. Цитоплазматичната фракция, която има хомогена консистенция и съдържа растворими РНК, ензими, продукти и субстрати на метаболитни реакции се нарича **цитозол**. Друга част от цитоплазмата е представена от структурни елементи: рибозоми, нуклеоид и включения. Включенията в цитоплазмата са органични и неорганични, и най-често са резервни вещества. Някои от включенията нямат собствена мембрана и лежат в цитоплазматичния матрикс, напр. гликоген, цианофицин. Други включения имат обвивка, която е еднослойна и може да се състои само от протеини или да бъде мембранна структура, съставена от протеини и фосфолипиди. Включения с мембрана са поли- β -хидроксibuтират, карбоксизоми, газови вакуоли.

Органичните включения обикновено са резервен източник на въглерод и енергия. **Гликогенът** е разклонен полимер на глюкозата. Глюкозните остатъци са свързани в дълги вериги с α -1,4-връзки; в местата на разклоненията, връзките са α -1,6. Гликогенът е диспергиран равномерно цитоплазматичния матрикс под формата на малки гранули и може да се наблюдава само с електронен микроскоп. Гликогенът, наричан още животинска скорбяла, се синтезира от *Escherichia coli*, *Salmonella* и други ентеробактерии, някои видове *Bacillus*, дрожди.

Поли- β -хидроксibuтиратът е полиестер, разтворим в хлороформ, съставен от приблизително 60 остатъка на β -хидроксимаслена киселина, свързани с естерни връзки. Полихидроксibuтиратът се натрупва във включения, които могат да достигнат до 80% от сухата маса на клетката. Наричат се суданофилни, т.к. се оцветяват с багрилото суданово черно и могат да се наблюдават със светлинен микроскоп. Поли- β -хидроксимаслена киселина синтезират видове на род *Pseudomonas*, *Bacillus megaterium*, анаеробни фототрофни бактерии.

Гликогенът и поли- β -хидроксibuтиратът са двете основни съединения, които бактериите използват като резервни източници на въглерод и енергия. Обикновено, бактериите синтезират само гликоген или поли- β -хидроксibuтират, но някои пурпурни серни бактерии образуват и двете.

Скорбяла като резервен източник на въглерод и енергия, образуват бактериите от род *Neisseria* и *Acetobacter pasteurianum*. **Гранулеза** (скорбялоподобно вещество) се съдържа в голямо количество в клетките на видове от род *Clostridium*. **Масни вещества** под формата на липидни капки образуват и използват като резервен източник на въглерод и енергия, много бактерии, дрожди и други гъби. Микобактериите могат да съдържат до 40% восъци.

Цианофицинови гранули образуват цианобактерите. Състоят се от полипептид, изграден от аминокиселините аргинин и аспартат в еквивалентни количества. Цианофициновите гранули служат като резервен азотен източник, който цианобактериите използват при недостиг в средата.

Газови вакуоли (аерозоми) са установени при бактерии, обитаващи водна среда (цианобактерии, фототрофни бактерии, *Thiothrix*, *Halobacterium*). Представяват агрегати от газови везикули. Стената на везикулите се състои от протеинови субединици, свързани така, че образуват твърд затворен цилиндър, който е кух и непромокаем за вода, но свободно пропуска атмосферните газове. Чрез газовите вакуоли бактериите „плуват“ близо или на повърхността на водоема и могат да променят разположението си в зависимост от наличието на субстрати, кислород, светлина.

Карбоксизоми съдържат клетките на някои автотрофни бактерии (нитрифициращи, фототрофни бактерии, цианобактерии). Имат форма на многостенник с диаметър 90–100 nm, обвит с еднослойна белтъчна обвивка. Карбоксизомите съдържат ензима рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза, който е ключов за фиксацията на CO_2 в цикъла на Калвин.

Неорганичните включения са два основни типа: полифосфатни и серни гранули. Много бактерии съхраняват фосфати като **полифосфатни** или **волутинови** гранули. Полифосфатните естери служат като фосфатно депо и източник на енергия. Полифосфатните гранули се наричат още „**метахроматинови**“ т.к. проявяват свойството метахромазия – оцветяване в цвят, различен от този обогатяващия разтвор. Полифосфати образуват някои млечнокисели бактерии (*Lactobacillus bulgaricus*), *Corynebacterium diphtheriae*, дрожди и др.

Серни гранули образуват редица фототрофни бактерии (пурпурни и зелени серни бактерии), които използват H_2S като електронен донор в процеса фотосинтеза. Сярата, получена при окислението на H_2S се натрупва в периплазмата или в специални цитоплазмени гранули. При отсъствие на H_2S , натрупаната в клетката сяр се окислява до сулфат.

Нуклеоид. Генетичният материал на прокариотите е представен от молекула (молекули) ДНК, разположена в компактна структура, локализирана в ограничен участък на цитоплазмата, без собствена ядрена мембрана (за разлика от еукариотите). ДНК молекулата включва няколко хиляди гена, разположени линейно и се нарича **хромозома**. В химично отношение хромозомата се състои от около 60% ДНК, 30% РНК и 10% белтъци. Обикновено прокариотите съдържат една двуверижна пръстеновидна ДНК, но някои бактерии съдържат линейна ДНК хромозома, а други, като *Vibrio cholerae* и *Borrelia burgdorferi* (съответно причинителите на холера и лаймска болест), имат повече от една хромозома. Нуклеоидът е компактно образование. Стабилизираща роля в организацията му изпълняват специфични белтъци, които участват в „упаковането“ на ДНК.

Рибозомите са структурите, в които се извършва белтъчният синтез. Прокариотните рибозоми имат коефициент на седиментация 70S. Те са съставени от две субединици – 30S и 50S. По размери и някои други особености бактериалните рибозоми са сходни с рибозомите на митохондриите и хлоропластите. Малката субединица (30S) съдържа 16S рРНК и в повечето случаи по една молекула от 21 вида белтъци. Голямата субединица (50S) се състои от два типа рРНК (23S и 5S) и около 35 молекули различни белтъци, представени в едно копие. Бактериалната клетка съдържа от 5000 до 50000 рибозоми.

Капсула и слизест слой

Върху клетъчната стена на много бактерии се отлагат слоеве с високо водно съдържание. **Капсулата** е добре организиран слой, който е тясно свързан с клетката и не се отмива лесно. **Слизестият слой** е дифузна зона от неорганизиран материал, който лесно се отделя.

Капсулата и слизестите слоеве обикновено се състоят от **полизахариди** и/или **пептиди**. **Капсулните полизахариди** освен глюкоза съдържат аминозахари, рамноза, уронови киселини, 2-кето-3-дезоксигалактонова киселина и органични киселини, като пирогроздена и оцетна. Полизахаридни капсули са установени при *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*. При *Bacillus anthracis* капсулата е белтъчна и се състои от поли-D-глутаминова киселина.

Редица компоненти на капсулата се отделят в средата под формата на **слуз**. Обилно образуване на слуз се наблюдава при култивиране на среди, съдържащи захароза. Хетероферментативната млечнокисела бактерия *Leuconostoc mesenteroides* бързо превръща разтвор, съдържащ тръстиков захар в декстран (слуз). Това превръщане протича извън клетката и се катализира от извънклетъчна хексозилтрансфераза–декстранзахараза. Декстранът се състои от остатъци на α -D-глюкоза, свързани с 1,6 връзки, т.е. 1,6- α -глюкан.

Капсулата не е необходима за бактериалния растеж и репродукция, но дава известно преимущество. (1) Придава на някои патогенни микроорганизми резистентност към фагоцитоза. Например, *Bacillus anthracis* „избягва“ поглъщане от фагоцитите, т. к. лизозомните ензими на фагоцитите не могат да инициират хидролиза на поли-D-глутаминовата капсула. (2) Капсулата е с високо водно съдържание и предпазва клетката от изсушаване. (3) Капсулата изключва бактериофаги и повечето хидрофобни токсични материали, като детергенти. (4) Капсулата и слизестите слоеве често медираат прикрепяне на клетките към твърди повърхности във водна среда или повърхността на тъканите на гостоприемника. (5) Капсулни материали (например декстран) се синтезират при усвояване на захари и представляват резерви на въглехидрати за метаболизма.

Фимбрии, пили, флагелуми

Фимбриите и **пилите** са фини, къси израстъци на повърхността на прокариотната клетка, които нямат отношение към подвижността и са по-тънки от флагелумите. Клетката може да бъде

покрита с до 1000 **фимбрии**, видими само с електронен микроскоп. Фимбриите са характерни предимно за Грам-отрицателни бактерии; най-често участват в прикрепянето на бактериите към повърхности, субстрати или други клетки. **Пилите** (F или sex пили) са подобни израстъци; от 1 до 10 на клетка. Пилите са детерминирани от половия фактор (F плазмида) или други конюгативни плаزمиди и са необходими за бактериалната конюгация. Някои бактериални вируси се прикрепят специфично към рецептори върху пили и стартират репродуктивния си цикъл

Повечето бактерии се придвижват с **флагелуми**. Броят и разположението на флагелумите имат таксономично значение. Разграничават се 4 типа клетки: монотрихи, лофотрихи, амфитрихи, перитрихи.

Бактериалният флагелум е съставен от три части – филament (нишка), базално тяло и кука, свързваща нишката с базалното тяло. **Нишката** е кух, ригиден цилиндър, изграден от субединици на белтъка флагелин. **Куката** е съставена от различни протеинови субединици. **Базалното тяло** е най-сложната част от флагелума. При *E. coli* и повечето Грам⁻ бактерии, е съставено от четири пръстена, свързани с централна ос. Най-външните L- и P пръстени се свързват съответно с липополизахаридния и пептидогликановия слой. Вътрешният M пръстен контактува с плазмената мембрана, а S пръстенът е разположен над него. Грам⁺ бактерии имат само два пръстена – вътрешен, свързан с цитоплазмената мембрана и външен, свързан с пептидогликана. Флагелумите се движат в резултат на взаимодействието между S- и M пръстените. Оста на базалното тяло се разполага между куката и края на M пръстена, който свободно се върти в цитоплазмената мембрана, а S пръстенът е прикрепен и е неподвижен. Потокът от протони между двата пръстена или между базалното тяло и обкръжаващите го мембранни белтъци генерира протондвижеща сила, която задвижва флагелумите. P- и L пръстените при Грам⁻ действат като опора на въртящата се ос.

Бактериални ендоспори

Редица Грам⁺ бактерии могат да формират специални резистентни, инертни структури, наречени **ендоспори**. Ендоспорите се развиват във вегетативните клетки на бактерии от родове *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*. Спорите са високо-резистентни към стресови фактори на средата, като топлина, ултравиолетови лъчи, химични дезинфектанти и изсушаване и са начин за преживяване на условия на средата с критична влажност и хранителни вещества. Ендоспорите често преживяват обработка при 100°C в продължение на 30-60 min.

Спорите могат да се разполагат централно, субтерминално или терминално в майчината клетка (спорангиум). Понякога спорите са с по-голям диаметър и причиняват издуване на спорангиума. Структурата на спората е комплексна. Спорите често са обкръжени от тънка обвивка, наречена **екзоспориум**. **Обвивката на спората** (екзина), която лежи под екзоспориума е съставена от няколко протеинови слоя; тя е непроницаема и отговорна за резистентността към химични вещества. **Кортексът**, който може да заеме повече от половината от обема на спората, се разполага под обвивката. Той се състои от пептидогликан, който е с по-малко напречни връзки отколкото във вегетативната клетка. **Стената на спората** (интина) е навътре от кортексът и обкръжава протопласта или сърцевината. Сърцевината на спората съдържа нормални клетъчни структури, като рибозоми и нуклеоид. Повече от 15% от сухото вещество на спората представлява дипиколинова киселина, свързана с калциеви йони. Калциевият дипиколинат стабилизира споровите нуклеинови киселини. Дехидратацията на протопласта също е от значение за терморезистентността. В процеса на спорообразуване водата се отстранява осмотично от протопласта, което го защитава от температурно и радиационно повреждане.

Спорогенезата (спорулацията) нормално започва при спиране на растежа, вследствие изчерпване на хранителните вещества. Тя е комплексен процес и може да бъде разделен на 7 етапа. (I) – формира се аксиален филament от ядрен материал; (II) – цитоплазмената мембрана се вгъва навътре, затваря част от ДНК и формира септа; (III) – мембраната продължава да расте и поглъща незрялата спора, като по този начин я обвива във втора мембрана; (IV) – образува се кортексът между двете мембрани; натрупват се калциеви йони и дипиколинова киселина; (V) – около кортексът се формира протеиновата обвивка; (VI) – формира се зрялата спора: завършва синтеза на споровата обвивка; увеличава се терморезистентността и пречупването; (VII) – литични ензими разрушават спорангиума и спорите се освобождават. Процесът на спорулация при *Bacillus megaterium* продължава около 10 часа.

Трансформацията на спящите спори във вегетативни клетки също е комплексен процес и протича в 3 етапа: (1) активация, (2) герминация (покълване), (3) прорастване.

Вирусите са уникална група от инфекциозни агенти, които се отличават със своята организация и репродуктивен модел. Пълната вирусна частица се състои от една или повече молекули ДНК или РНК, затворени в протеинова обвивка, в някои случаи и в допълнителни слоеве (калф). Тези слоеве съдържат въглехидрати, липиди и протеини (Фиг. 1).

Вирусите могат да съществуват в две форми (фази) – екстрацелуларна (извънклетъчна) и интрацелуларна (вътреклетъчна). В екстрацелуларна фаза, вирусите съдържат малко на брой или не съдържат ензими и не могат да се възпроизвеждат. В интрацелуларна фаза, вирусите съществуват предимно като реплицираща се нуклеинова киселина, която индуцира метаболизма на гостоприемника за синтез на вирусните компоненти. Новообразуваните вирусни частици се освобождават.

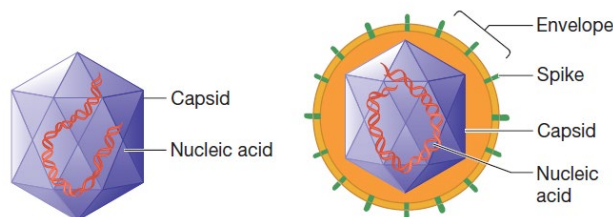
Вирусите се отличават от живите клетки по три показателя: (1) проста, **безклетъчна организация**; (2) наличие само на **един вид нуклеинова киселина** – ДНК или РНК; (3) неспособност да се **репродуцират** извън жива клетка.

Размерите на вирусите варират от 10 до 300 – 400 nm в диаметър. Най-малките вируси (Парвовируси, фаг ϕ X 174) са малко по-големи от рибозоми, докато Поксвирусите имат размерите на най-малки бактерии (*Mycoplasma*) и могат да се наблюдават със светлинен микроскоп.

СТРУКТУРА НА ВИРУСИТЕ

Всички вируси (независимо дали притежават и други компоненти) са изградени като **нуклеокапсиди**. Нуклеокапсидът е съставен от нуклеинова киселина – ДНК или РНК, и белтъчна обвивка, наречена **капсид**. Капсидът предпазва вирусния генетичен материал и улеснява неговия трансфер в клетките на гостоприемника.

Капсидът е макромолекулна структура, изградена от множество копия на един или няколко типа протеинови субединици – **протомери**. Съществуват 3 морфологични типа капсиди и вирусни структури – **спирални** (винтообразни), **икосаедрални** (кубични) и **комплексни**, чиято симетрия не е чисто спирална или икосаедрална. Тези вируси често имат опашка и други структури (напр. бактериофаги) или комплексна многослойна стена около нуклеиновата киселина (напр. Поксвируси).



Фиг. 1. (а) Нуклеокапсид („гол“ вирус), състоящ се от капсид, около нуклеиновата киселина; **(б)** Вирус с допълнителна обвивка – нуклеокапсидът е обвит от мембранозна структура, наречена калф.

Спиралните капсиди имат форма на кухи кухи протеинови цилиндри, които могат да бъдат ригидни или еластични. Най-добре проучения вирус със спирален тип симетрия на капсида е вируса на тютюневата мозайка. Капсидът се състои от един вид малки протомери; всеки протомер е съставен от 158 аминокиселини. Протомерите асоциират помежду си в спирален ред, формирайки дълъг, ригиден цилиндър с диаметър 15 – 18 nm и дължина 250 – 300 nm. Генетичният материал („+“РНК) е навит на спирала и е разположен във вътрешността на капсида, във вдлъбнатина, формирана от протеиновите субединици. При грипния вирус, РНК е затворена в тънък, пластичен капсид, обвит от калф. Размерите на спиралните капсиди зависят от протомерите и нуклеиновата киселина. Диаметърът на капсида е функция от размера, формата и взаимодействието на протомерите. Нуклеиновата киселина определя дължината на капсида.

Икосаедрални капсиди. Икосаедърът е правилен многостенник с 20 равнострани триъгълника, като стени и 12 върхове. Тези капсиди са съставени от пръстеновидни или сферични единици – **капсомери**, които от своя страна съдържат пет или шест протомера. Пентамерите (формирани от пет субединици) се разполагат по върховете на икосаедъра, а хексамерите (от шест субединици) формират ръбовете и страните на икосаедъра. Пентамерите и хексамерите могат да бъдат изградени от един и същи или различни видове субединици. Протомерите се свързват помежду чрез нековалентни връзки. Броят на капсомерите е различен при различните вируси. Капсидът на Парвовирусите е изграден от 32 капсомера; на вируса на полиомиелита – от 60 кап-

сомера; Аденовирусния капсид – от 252. Въпреки че, повечето икосаедрални капсиди съдържат както пентамери, така и хексамери, капсидът на SV 40 (simian virus) се състои само от пентамери.

Капсиди с комплексен тип на симетрия са тези на Поксвирусите и големите бактериофаги. **Поксвирусите** са големи, животински вируси с размери 400x240x200 nm. Притежават комплексна, интегрална структура с овоидна, до пакетоподобна форма. Двойноверижната ДНК е асоциирана с протеини в централно разположена структура с форма на двойно-вдлъбнат диск, обвит от мембрана (нуклеоид). Между нуклеоида и калъфа лежат две елипсовидни, странични тела.

Някои големи **бактериофаги** (напри. T₂, T₄ фаги на *E. coli*) също имат комплексен тип на симетрия, т.к. са съставени от глава, с икосаедрален тип на симетрия и опашка – със спирален тип на симетрия.

Вирусите са изключително пластични по отношение на природата на **генетичния материал** и използват всичките **4 типа нуклеинови киселини**: едноверижна ДНК, двуверижна ДНК, едноверижна РНК, двуверижна РНК. И четирите типа са открити при животински вируси. Растителните вируси най-често съдържат едноверижна РНК като генетичен материал. Въпреки че, има фаги с едноверижна ДНК или едноверижна РНК, обикновено бактериалните вируси съдържат двуверижна ДНК като геном.

Размерите на вирусния генетичен материал също значително варират. Най-малкия геном (MS2 и Q β вирусите) е около 4 000 нуклеотида, достатъчен за да кодира 3 – 4 белтъка, докато най-големият 1.0 – 2.0 x 10⁵ нуклеотида (Т-четните фаги, херпесвируси) кодира синтеза на над 100 белтъка.

Едноверижен ДНК геном притежават Парвовирусите и фагите ϕ X174 и M13. ДНК може да бъде линейна или циклично-затворена (пръстеновидна).

Двойноверижен ДНК геном имат повечето ДНК вируси. ДНК може да бъде линейна (Херпесвируси, Аденовируси, Т-фаги, λ -фаг на *E. coli*) или пръстеновидна (Паповавируси). λ -фагът съдържа линейна двойно-верижна ДНК с **кохезивни** краища. Това са едноверижни комплементарни сегменти от 12 нуклеотида, които могат да формират двойки помежду си и ДНК да циклизира. Вирусната ДНК може да бъде модифицирана и да съдържа специфични бази. Например, ДНК на Т-четните фаги на *E. coli* съдържа 5-хидроксиметилцитозин вместо цитозин. Често към хидроксиметиловата група се присъединява глюкоза.

Едноверижен РНК геном съдържат по-голяма част от РНК вирусите. Бива 2 вида:

„+“РНК или положителна верига – базовата секвенция на РНК е идентична с тази на вирусната информационна РНК. „+“РНК геном притежават **Пикорнавирусите, Тогавирусите**, вирусът на тютюневата мозайка. Често, „+“РНК веригата е сходна с иРНК не само по отношение на еквивалентната нуклеотидна секвенция. Както при еукариотите, вирусната „+“РНК има 5' шапка (cap) от 7-метилгуанозин. Освен това, повечето „+“РНК животински вируси съдържат полиаденилова опашка на 3' края и по този начин наподобяват еукариотната иРНК. „+“РНК вирусите могат да започнат синтеза на белтъци веднага след като проникнат в клетката.

„-“РНК или отрицателна верига – вирусната геномна РНК е комплементарна на вирусната иРНК. „-“РНК геном притежават **Рабдовирусите, Ортомиксовирусите, Парамиксовирусите**. Много от тези РНК геноми са сегментирани. Счита се, че всеки сегмент кодира един белтък.

Двуверижен РНК геном притежават малко на брой вируси – **Реовируси**. Геномът е сегментиран; състои се от 10 – 12 сегмента.

Редица животински и някои растителни вируси са обвити от външен мембранен слой, наречен **калъф** (външна обвивка). Калъфът е пластична, мембраноидна структура, най-често с вариабилна форма. Вирусът на беса, обаче, е обвит в куршумоподобен калъф, който е здраво прикрепен към нуклеокапсида и му придава постоянна, характерна форма. При някои вируси, калъфът се уврежда от разтворители, като етер, който блокира липид-медираните активности или денатурира протеините. Калъфът на животинските вируси обикновено се формира от ядрената и цитоплазматичната мембрана на клетката-гостоприемник. Липидите и въглехидратите на калъфа са нормални компоненти на гостоприемника. Протеините на калъфа се кодират от вирусния геном. Те могат да се простират извън калъфа като **шипове** или пепломери. Шиповете обикновено са гликопротеини. Често шиповете участват в прикрепянето на вирусите към клетъчната повърхност. Други негликозилирани протеини – М или **матриксни протеини**, са открити във вътрешната повърхност на калъфа и подпомагат неговата стабилизация. Вирусът на грипа е най-добре проучения вирус с външна обвивка. Някои шипове съдържат ензима **невраминидаза**, който улеснява пенетрацията на мукозните слоеве на респираторния епител на клетката-гостоприемник. Други шипове носят **хе-**

маглутинини, които свързват вируса с мембраната на еритроцитите и причиняват хемаглутинация. Хемаглутинините участват в прикрепянето на вируса към клетките.

Голяма част от вирусите съдържат само структурни протеини и са лишени от ензими. При някои животински вируси обаче, са открити ензими, асоциирани с калъфа или капсида или локализирани в самия капсид. Повечето от тях се включват в репликацията на нуклеиновата киселина. Например, грипният вирус („РНК вирус“) съдържа **РНК-зависима РНК полимераза**, която действа като РНК транскриптаза и синтезира иРНК под контрол на РНК генома.

Вирусите се разпределят на таксономични групи на базата на редица характеристики, по-важните от които са следните: (1) Природа на гостоприемника – животни, растения, бактерии; (2) Характеристика на нуклеиновата киселина – ДНК или РНК, единична или двуверижна, молекулно тегло; (3) Симетрия на капсида – спирален, икосаедрален, бинарен; (4) Наличие на външна обвивка и нейната чувствителност; (5) Диаметър на вириона или нуклеокапсида; (6) Брой на капсомерите в икосаедралния капсид; (6) Имунологични свойства; (7) Вътреклетъчна локализация на вирусната репликация; (8) Причинявани заболявания и/или специфични клинични характеристики.

РЕПРОДУКЦИЯ НА ЖИВОТИНСКИ ВИРУСИ

Репродукцията на животинските вируси протича в няколко етапа: адсорбция; проникване в клетката-гостоприемник (пенетрация); освобождаване („събличане“) на нуклеиновата киселина от капсида, репликация на вирусната нуклеинова киселина, синтез и формиране на вирусния капсид (синтетична фаза); освобождаване на зрелите вируси.

Първият етап от цикъла на животинските вируси е **адсорбцията** към клетъчната повърхност на гостоприемника. Тя се осъществява чрез случаен сблъсък на вируса с подходящ рецепторен протеин от цитоплазмената мембрана, най-често гликопротеин. Капацитетът на вируса да инфектира клетки зависи в голяма степен от способността му да се свързва с клетъчната повърхност, поради което разпределението на рецепторните протеини изпълнява критична роля в тъканната специфичност на животинските вируси. Специфичността на рецепторните протеини варира широко, но това са винаги повърхностни протеини, необходими за клетката. Обикновено чрез тях клетките свързват хормони, растежни фактори и други молекули.

Повърхностният сайт на вируса се състои от структурен протеин(и) на капсида. Сайтът се свързва с клетъчния рецептор, но не може да бъде открит от антителата на гостоприемника. От друга страна, вирусът се адсорбира към клетъчната повърхност със специални структури, като фибрите, излизащи от ъглите на аденовирусния икосаедр или шиповете на вирусите с калъф.

Проникване на вируса и освобождаване на нуклеиновата киселина. Скоро след адсорбцията, вирусът пенетрира цитоплазмената мембрана и навлиза в клетката. Следва отстраняване на капсида и освобождаване на нуклеиновата киселина („събличане“ на НК), което се осъществява по време на пенетрацията или веднага след нея. Механизмите на пенетрация и „събличане“ могат да варират в зависимост от типа на вируса, поради различия в структурата и модела на репродукция. Вирусите с външна обвивка навлизат по различен начин от „голите“ вируси. Някои вируси инжектират само нуклеиновата си киселина, докато при други, асоциираната с вируса РНК- или ДНК полимераза също навлиза в клетката. Процесите от адсорбцията до „събличането“ могат да продължат от няколко минути до часове. Възможни са следните механизми на пенетрация и „събличане“:

Сливане (фузия) на калъфа на вируса с мембраната на клетката-гостоприемник. Калъфът на Парамиксовирусите и Ретровирусите директно се слива с мембраната на клетката-гостоприемник. В сливането могат да се включат гликопротеините на калъфа, които прикрепят вируса към мембраната. Нуклеокапсидът прониква в клетката. При Парамиксовирусите, вирусна полимераза, асоциирана с нуклеокапсида започва веднага транскрипция на вирусната РНК, докато е още в капсида.

Вируси с калъф могат да бъдат погълнати чрез **рецептор-медирана ендоцитоза**, формирайки обвити в мембрана везикули. Вирусите се прикрепят към специализирани участъци (ямки) покрити от страна на цитоплазмата с белтъка **клатрин**. Ямките се прищъпват, формирайки обвити везикули, които съдържат вируса. Везикулите се сливат с лизозоми след отстраняването на клатрина. Ензимите на лизозомите участват в отстраняването на обвивките на вируса: външната обвивка на вируса се слива с мембраната на лизозомите и капсидът се освобождава в цитоплазмения матрикс. В цитоплазмата, вирусната нуклеинова киселина може да се освободи от капсида или да функционира докато все още е прикрепена към капсидните компоненти.

Вирусите без калъф („голи“ вируси, напр. Полиовирус) претърпяват големи изменения в капсидната структура по време на адсорбцията. Промененият капсид контактува с везикули на мембраната и в цитоплазмата се освобождава само нуклеиновата киселина през пори в мембраната (Пикорнавируси) или мембраната се разкъсва, освобождавайки вируса (Аденовируси).

Репликация и транскрипция при ДНК вируси. Репликацията на генома и транскрипцията при ДНК вирусите се осъществяват по обща схема, независимо от спецификите. Началните етапи на синтетичната фаза, ръководени от ранните гени са насочени към промяна на метаболизма на клетката-гостоприемник за синтез на вирусните ДНК и РНК. Някои вирулентни вируси инхибират ДНК, РНК и протеиновия синтез на гостоприемника. Обратно, авирулентните вируси могат да стимулират синтеза на макромолекулите на гостоприемника.

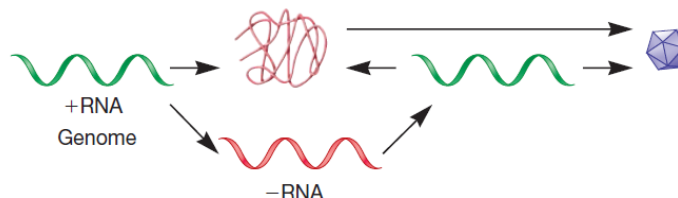
Ранната иРНК се транскрибира с ензими на гостоприемника, с изключение на иРНК на поксвирусите, която се синтезира с вирусна полимераза. Репликацията на ДНК обикновено се осъществява в ядрото на клетката-гостоприемник; поксвирусите са изключение, тъй като геномът им се реплицира в цитоплазмата.

Синтезът на протеините на капсида се кодира от някои късни гени. Впоследствие тези протеини спонтанно се свързват и формират капсид, подобно на морфогенезата при фагите. Процесът на самосъбиране на вируси е демонстриран експериментално. При формирането на икосаедралните вируси, най-напред се образува празния капсид, в който след това се „вмъква“ нуклеиновата киселина. Мястото на морфогенезата варира при различните вируси.

Формирането на капсида при вирусите с външна обвивка е подобно на това при „голите“ вируси, с изключение на Поксвирусите. Те се образуват в цитоплазмата, в резултат на комплексен процес, който започва със обграждане на част от цитоплазмата в нова мембрана. След това, новосинтезираната ДНК преминава през мембраната и се придвижва към центъра на незрелите вируси. Нуклеотида и страничните тела се формират в мембраната.

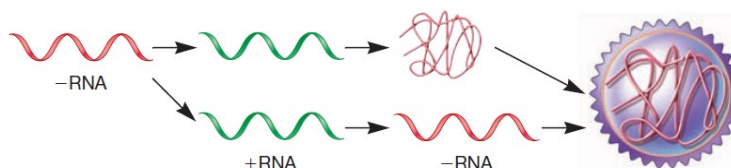
Репликация и транскрипция на РНК вируси. При РНК вирусите се наблюдава по-голямо разнообразие в репродуктивната стратегия. Повечето РНК вируси могат да бъдат разпределени в 4 групи на базата на модела на репликация и транскрипция.

1. Пикорнавирусите са най-добре изучените едноверижни „+“РНК вируси. Те използват своя геном като гигантска иРНК и с рибозомите на гостоприемника синтезират полипептид, който след това се преработва от ензими на вируса и на гостоприемника, за да образува зрелите протеини. Един от синтезираните протеини е РНК-зависима РНК полимераза. Той катализира синтез на „-“РНК верига на базата на „+“РНК генома, образувайки двуверижна РНК, наречена **репликативна форма**. Репликативната форма се използва като шаблон за синтез на „+“РНК вериги, някои от които служат като иРНК молекули. Други „+“РНК молекули се явяват геном на новообразуваните вируси (Фиг. 2). Образуването на репликативната форма създава проблем за вируса – двуверижната РНК задейства определени защитни механизми, включително производството на интерферон, който инхибира вирусната репликация. Вирусът преодолява този проблем, като синтезира малко количество „-“РНК молекули, като по този начин ограничава броя на двуверижните репликативни форми, присъстващи в клетката гостоприемник.



Фиг. 2. Репродукция при „+“ РНК вируси

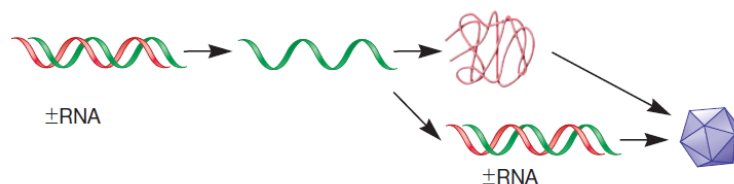
2. „Минус“ едноверижните РНК вируси (Ортомиксовируси, Парамиксовируси) имат различен механизъм за транскрипция и репликация, т.к. техният геном не може да функционира като иРНК и те трябва да съдържат поне една РНК-зависима РНК полимераза, която постъпва в клетката-гостоприемник. Ортомиксовирусите, като грипния вирус, имат сегментирани геноми и субединиците на полимеразата, както и другите протеини обвиват РНК генома. Така полимеразата прониква в гостоприемника с вирусния геном. Геномът служи като матрица за синтез на иРНК. По-късно вирусът превключва от синтеза на иРНК към репликаци-



Фиг. 3. Репродукция на „-“ РНК вируси.

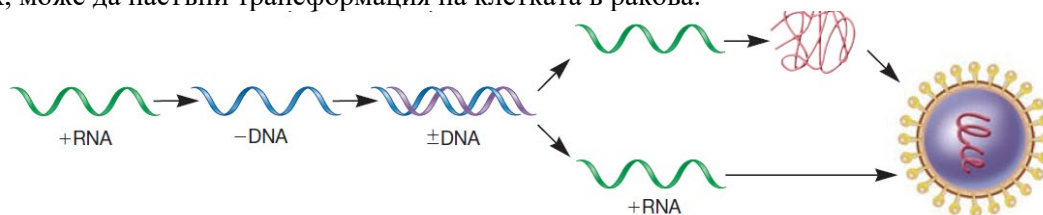
ята на генома. По време на тази фаза от жизнения цикъл, „+“РНК молекулите, синтезирани от „-“РНК геномните сегменти служат като темплейти (шаблони) за нови „-“РНК геноми (Фиг. 3).

3. Двойноверижните РНК вируси не само „внасят“ в клетката-гостоприемник РНК-зависима РНК полимераза, но също запазват своя геном, затворен в субвирусни частици, в рамките на които се осъществява синтеза на иРНК. Молекулите на иРНК се освобождават от частиците и се транслират в различни вирусни протеини. Някои от тях участват в сглобяването на допълнителни частици, съдържащи „+“РНК. Положителната РНК верига служи като шаблон за синтез на „-“РНК верига и така двойноверижният РНК геном се регенерира (Фиг. 4).



Фиг. 4. Двойноверижни РНК вируси (Реовируси)

4. Ретровирусите (HIV) притежават едноверижен „+“РНК геном, но се различават от останалите РНК вируси по това, че синтезират иРНК и реплицират своя геном посредством ДНК посредник. Вирусите съдържат РНК-зависима ДНК полимераза (**обратна транскриптаза**), която копира „РНК“ генома в „-“ДНК копие. Трансформацията на РНК в ДНК протича в два етапа. Първо, обратната транскриптаза копира „+“РНК, формирайки РНК-ДНК хибрид. След това, **рибонуклеаза Н** (компонент на обратната транскриптаза) разгражда „+“РНК веригата в хибридна молекула. Останала „-“ДНК верига се копира от обратната транскриптаза и се образува двойноверижна ДНК, наречена **провирусна ДНК**. Провирусната ДНК се интегрира в генома на гостоприемника, откъдето неговата РНК полимераза може да ръководи синтеза на иРНК и нови „-“РНК геномни копия (Фиг. 5). След интеграция на провирусната ДНК в генома на клетката-гостоприемник, може да настъпи трансформация на клетката в ракова.



Фиг. 5. Репродуктивен модел при Ретровируси.

Освобождаване на вирусите. „Голите“ вируси най-често се освобождават чрез лизис на клетката-гостоприемник. Освобождаването на вирусите с външна обвивка (напр. грипен вирус, HIV) става чрез пъпкуване на цитоплазмената мембрана. При грипния вирус, най-напред вирус-кодирани протеини (хемоаглутинин и невраминидаза) се инкорпорират в цитоплазмената мембрана. След това нуклеокапсидът спонтанно се освобождава, придвижва се към вътрешната повърхност на мембраната и се свързва с нея. В същото време вирусните протеини се събират в този участък, като мембранните протеини на гостоприемника се изключват. Накрая мембраната пъпкува, формирайки калъф и освобождава зрелия вирион.

Еукариотната клетка, за разлика от прокариотната, притежава сложна мембранна система, която разделя клетъчното пространство на функционално специализирани компартменти. Тази пространствена организация позволява едновременно протичане на несъвместими химични процеси в изолирана среда. Двумембранните вътреклетъчни органели представляват високо специализирани структури в еукариотната клетка, които се характеризират със сложна структурна организация и изключително важно значение за нормалното функциониране на еукариотната клетка. Към тази група органели се отнасят клетъчното ядро, митохондриите и пластидите, включително хлоропластите.

Клетъчното ядро е една от най-отличителните и фундаментални характеристики на еукариотната клетка. То изпълнява едновременно ролята на място за съхранение на генетичната информация и на контролен център, който регулира клетъчните процеси. В него протичат процесите на репликация на ДНК, транскрипция и основните етапи на съзряване на РНК, докато синтезът на протеини (транслацията) протича в цитоплазмата.

Ядрото е обвито от ядрена обвивка, изградена от две мембрани – вътрешна и външна, разделени от перинуклеарно пространство. Външната ядрена мембрана е свързана с ендоплазмения ретикулум, поради което перинуклеарно пространство е директно свързано с неговия лумен. Подобно на мембраните на ендоплазмения ретикулум, външната ядрена мембрана е осеяна с рибозоми, но се отличава със специфичен протеинов състав, богата е на протеини, взаимодействащи с цитоскелета, но не съдържа протеините, отговорни за тубуларната организация на ендоплазмения ретикулум.

Вътрешната ядрена мембрана включва приблизително 60 специфични интегрални протеина, някои от които осъществяват директни връзки с ядрената ламина. Двете мембрани функционират като бариера, която отделя съдържанието на ядрото от цитоплазмата. Както всички клетъчни мембрани, те са изградени от фосфолипиден бислой, пропусклив единствено за малки неполярни молекули. Преминаването на полярни молекули и макромолекули се осъществява единствено през ядрените порови комплекси – специализирани структури, които регулират селективния транспорт на протеини и РНК.

Под вътрешната ядрена мембрана се разполага ядрената ламина – механично устойчива, фибрилна мрежа, която придава форма на ядрото, стабилизира ядрената обвивка и участва в пространствената организация на хроматина. Ядрената ламина е изградена от фибрилари протеини с молекулно тегло 60 – 80 килодалтона (kD), наречени ламини, както и асоциирани с тях протеини (при растителните клетки има сходна мрежа, но съставена от различни протеини). Ламините принадлежат към групата на междинните филаменти и подобно на тях се асоциират, за да образуват по-сложни структури. Прикрепването към вътрешната мембрана се подпомага от посттранслационни модификации, от които особено важна е пренилирането на С-терминални цистеинови остатъци. Ламините се свързват със специфични протеини на вътрешната ядрена мембрана, като емерин и ламин В рецептора, както и с цитоскелета чрез LINC-комплекси, които преминават през двете мембрани.

Ядреният поров комплекс (ЯПК) е изключително голяма структура с молекулна маса приблизително 120 милиона далтона при човека, което го прави около 30 пъти по-голям от рибозома. При гръбначните животни ЯПК е съставен от множество копия на около 30 различни порови протеина, наречени нуклеопорини. В зависимост от своя размер и структура, молекулите могат да преминават през ЯПК по един от два основни механизма – свободна дифузия или селективен транспорт. Малките молекули и някои протеини с молекулна маса под 40 kD могат да дифундират свободно през порите в двете посоки. Повечето протеини и РНК молекули преминават през ЯПК посредством селективен транспорт. Протеините, предназначени за ядрото съдържат специфични аминокиселинни последователности, наречени сигнали за ядрена локализация (NLS). Те се разпознават от транспортни рецептори, които насочват преминаването на протеина през ядрения поров комплекс. Протеините, предназначени за износ от ядрото, също притежават специфични аминокиселинни последователности, наречени сигнали за ядрен експорт (NES).

Вътрешността на ядрото съдържа хроматин, комплекс от ДНК и хистонови и нехистонови протеини. В интерфаза, хроматинът съществува в динамичен баланс между транскрипционно активен еухроматин и по-кондензиран хетерохроматин. Разграничават се два типа хетерохроматин, конститутивен хетерохроматин (постоянно неактивен) и факултативен хетерохроматин (транскрипционно неактивен в конкретната клетка, но потенциално активен в други типове клетки). Огромното количество генетична информация в еукариотната клетка налага нейната ефективна компактизация, за да се побере в микроскопичното ядро. При митоза, хроматинът достига максимална компактизация (до 10 000 пъти), образувайки хромозоми. Основните протеини в хроматина са хистоните. Те са малки, алкални протеини, богати на положително заредени аминокиселини (лизин и аргинин), което улеснява свързването им с отрицателно заредената ДНК. Съществуват пет основни класа хистони, като четири от тях формират хистоновия октамер, а H1 функционира като свързващ хистон, стабилизиращ по-високи нива на структурна организация. Освен хистони, хроматинът съдържа и стотици различни нехистонови протеини, които участват в процеси като репликация и генна експресия. Основната структурна единица на хроматина е нуклеозомата, която се състои от участък ДНК с дължина 147 базови двойки и се навива 1.67 пъти около хистонов октамер, изграден от по две молекули от хистоните H2A, H2B, H3 и H4. Структурата се стабилизира от една молекула свързващ хистон H1, която се прикрепя към ДНК в мястото на навлизането и излизането ѝ от хистоновия октамер. Структурата, включваща нуклеозомната сърцевина и свързания с нея хистон H1 се нарича хроматозома и обхваща около 166 базови двойки ДНК. Отделните нуклеозоми са свързани с участъци линкерна ДНК с дължина около 50 – 60 базови двойки, като това първо ниво на опаковане скъсява дължината на ДНК приблизително 6 – 7 пъти. Следващото ниво на кондензация (нуклеомер) е усукването на тази нишка в 30-нанометрова фибрила, което води до около 50-кратно скъсяване на ДНК спрямо изходната ѝ дължина. Основна роля в този процес играе свързващият хистон H1. Третото ниво на компактизация е формиране на примки, 30 nm фибрила се организира в по-големи примки или домейни. Хроматинът формира примки с дължина от 10 до 100 kbp. Основите на тези примки са закрепени за нехистонови протеинови структури (протеинов скелет), изграден от протеини като топоизомераза II и SMC протеини.

Освен хроматина, в ядрото съществуват множество немембранни компартменти, наричани ядрени телца (ядърце, ядрени петънца, телца на Cajal, PML телца, HSF1 гранули, PcG телца, параядрени петънца, околяядърцев компартмент и SAM68 ядрено телце). Те са динамични структури и обикновено служат за концентриране на специфични компоненти, така че да се повиши ефективността на определени биохимични процеси.

Ядърцето е най-голямото немембранно ядрено телце, функциониращо като фабрика за синтез на рибозомна РНК (рРНК) и сглобяване на рибозомни субчастици. Еукариотните рибозоми съдържат четири вида рРНК, обозначавани като 5S, 5.8S, 18S и 28S рРНК. За да се осигури синтезът на огромно количество рРНК молекули, всички клетки притежават множество копия на съответните гени. Например, човешкият геном съдържа около 200 копия на гена, кодиращ 5.8S, 18S и 28S рРНК, и приблизително 2000 копия на гена за 5S рРНК. Гените за 5.8S, 18S и 28S рРНК са групирани в тандемно повтарящи се участъци (клъстери) на пет различни човешки хромозоми (13, 14, 15, 21 и 22), докато гените за 5S рРНК са събрани в един голям клъстер на хромозома 1. Ядърцето се организира от специфични хромозомни участъци – ядърчеви организатори, съдържащи гените за 5.8S, 18S и 28S рРНК. Морфологично, ядърцето се състои от три региона: фибриларен център, плътен фибриларен компонент и грануларен компонент. Тези региони отразяват последователните етапи на транскрипция, процесинг на рРНК и сглобяване на рибозомите.

Репликацията на ДНК е полуконсервативен процес, при който всяка от двете родителски вериги на ДНК молекулата служи като матрица за синтеза на нова, комплементарна дъщерна верига. Основна роля в този процес играе ензимът ДНК-полимераза. Еукариотните клетки притежават три основни ДНК-полимерази: α (алфа), δ (делта) и ϵ (епсилон). Освен тях, в митохондриите се намира специфична ДНК-полимераза γ (гама), която отговаря за репликацията на митохондриалната ДНК. Всички полимерази добавят нов нуклеотид (dNTP) единствено към свободната 3'-хидроксилна (-OH) група на растящата верига.

Транскрипцията на ДНК е процес, при който генетична информация от участък в ДНК молекула се копира (презаписва) върху нова молекула РНК. Основният ензим, отговорен за синтеза на РНК, е РНК-полимеразата. Тя катализира полимеризацията на рибонуклеозид трифосфати (NTPs), използвайки ДНК верига като матрица. Подобно на синтеза на ДНК, РНК веригите ви-

наги нарастват в посока 5'→3'. За разлика от бактериите, които разполагат само с един тип РНК-полимераза, ядрата на еукариотните клетки съдържат три различни форми на ензима – РНК-полимераза I, РНК-полимераза II и РНК-полимераза III. Макар да имат сходна структура, те се специализират в транскрибирането на различни класове гени. Полимераза I и III осигуряват синтеза на рибозомни РНК, транспортни РНК и малки некодиращи РНК, докато РНК-полимераза II е отговорна за транскрипцията на преобладаващата част от гените (всички кодиращи протеини). РНК процесингът представлява ключов етап в регулацията на генната експресия. Чрез алтернативен сплайсинг една и съща генна последователност може да даде начало на различни белтъчни продукти, което значително увеличава функционалното разнообразие на еукариотния протеом. По този начин сложността на еукариотните организми не произтича единствено от броя на гените, а и от многостепенната регулация на тяхната експресия.

Митохондрияте се срещат във всички растителни и животински клетки. Те са отговорни за окислителното фосфорилиране – процесът, чрез който енергията от разграждането на органични молекули (въглехидрати и липиди) се използва за синтез на АТФ.

Всички митохондрии са ограничени от две ясно разграничени мембрани – външна и вътрешна, които се различават съществено по своя състав, структура и пропускливост. Външната митохондриална мембрана има гладка повърхност и съдържа голям брой интегрални мембранни протеини (порини), които формират водни канали. Благодарение на тях мембраната е пропусклива за малки молекули и йони. Въпреки тази относителна пропускливост, външната мембрана изпълнява важна бариерна и регулаторна функция, тъй като контролира достъпа на по-големи молекули. Между външната и вътрешната мембрана се намира интермембранното пространство, чийто състав по отношение на малките молекули е близък до този на цитозола. Вътрешната митохондриална мембрана е най-специфичният и функционално най-важен структурен компонент на митохондрияте. Тя е силно нагъната и образува множество инвагинации (гънки), наречени кристи, които навлизат в матрикса. Тази нагъната структура значително увеличава нейната обща повърхност и по този начин позволява разполагането на голям брой ензимни комплекси, участващи в електронния транспорт и синтеза на АТФ. Формата, броят и плътността на кристите варират в зависимост от типа клетка и нейните енергийни потребности, като клетки с висока метаболитна активност, например мускулни или чернодробни клетки, притежават митохондрии с изключително гъсто подредени кристи.

Вътрешната мембрана се характеризира с изключително ниска пропускливост за йони и малки молекули, което е от съществено значение за поддържането на протонния градиент. Тя съдържа специфични транспортни протеини, които осигуряват селективен внос и износ на метаболити като АДФ, АТФ, пируват и различни йони. Химичният състав на вътрешната мембрана е уникален, тя е богата на кардиолипин – фосфолипид, който придава допълнителна стабилност на мембраната и е необходим за оптималната функция на протеиновите комплекси на дихателната верига. Вътрешната митохондриална мембрана е мястото, където са локализирани основните протеинови комплекси на електронотранспортната верига (комплексите I, II, III и IV и АТФ-синтазата).

Вътрешността на митохондрияте, ограничена от вътрешната мембрана, се нарича матрикс. Той представлява плътна, богата на протеини среда, в която са разположени множество ензими, участващи в основните окислителни метаболитни процеси. В матрикса протичат реакции от цикъла на Кребс, окислителното декарбоксилиране на пирувата, както и β-окислението на мастни киселини. Освен ензими, матриксът съдържа митохондриална ДНК, рибозоми, транспортни РНК и различни фактори, необходими за репликацията, транскрипцията и транслацията на митохондриалния геном.

Митохондриалната ДНК представлява пръстеновидна двуверижна молекула, която по структура и организация наподобява бактериалната ДНК. Тя кодира малък брой протеини, които са основни компоненти на дихателната верига, както и всички рибозомни РНК и повечето транспортни РНК. Въпреки това, по-голямата част от митохондриалните протеини се кодират от ядрения геном, синтезират се в цитозола от свободните рибозоми и се транспортират в митохондрияте чрез специализирани транслоказни комплекси, разположени във външната и вътрешната мембрана. Митохондриалните рибозоми са по-малки от еукариотните цитозолни рибозоми и имат прокариотни характеристики, което отразява ендосимбиотичния произход на митохондрияте.

Митохондрияте не са статични структури. Те постоянно претърпяват процеси на сливане (фузия) и делене (фисия), които регулират техния брой, форма, размер и вътрешна организация.

Тези динамични промени са от съществено значение за поддържането на функционалната цялост на митохондриалната мрежа, за адаптацията към метаболитните нужди на клетката и за отстраняването на увредени митохондрии чрез митофагия.

В митохондрии протеича окислителното фосфорилиране – процес, при който енергията, освободена при преноса на електрони по дихателната верига се използва за синтез на АТФ. Електроните се доставят от редуцирани коензими, получени при разграждането на въглехидрати и липиди. Преносът на електрони е съпроводен с изпомпване на протони от матрикса в интермембранното пространство, което води до образуване на електрохимичен протонен градиент. Енергията, акумулирана в този градиент се използва от АТФ-синтазата за фосфорилиране на АДФ до АТФ. По този начин митохондрии осигуряват по-голямата част от енергията, необходима за поддържане на клетъчните процеси в аеробни условия.

Митохондрии участват и в β -окислението на мастни киселини. Мастните киселини се активират в цитозола чрез свързване с коензим А и след това се разграждат постепенно в митохондриалния матрикс. Всеки цикъл на този процес скъсява мастната киселина с два въглеродни атома и генерира ацетил-КоА, NADH и FADH₂.

Важна функция на митохондрии е участието им в регулацията на калциевата хомеостаза. Те могат да акумулират и освобождават калциеви йони в зависимост от физиологичното състояние на клетката. Чрез това, митохондрии влияят върху вътреклетъчната сигнализация, съкращението на мускулните клетки, секрецията на хормони и невротрансмитери, както и върху активността на множество ензими. Митохондрии имат основна роля и в програмираната клетъчна смърт (апоптозата). При определени физиологични или патологични сигнали те освобождават от интермембранното пространство протеини, които инициират каскада от събития, водещи до контролирано разрушаване на клетката. Нарушения в митохондриалната регулация на апоптозата са свързани с развитието на рак, невродегенеративни заболявания и автоимунни състояния.

Хлоропластите представляват високоспециализирани клетъчни органели от групата на пластидите, в които се осъществява процесът фотосинтеза. Хлоропластите в растителните клетки са сравнително големи органели с дължина приблизително 5 – 10 μm . Подобно на митохондрии, те са оградени от двойна мембрана, наречена хлоропластна обвивка, съставена от външна и вътрешна мембрана. Външната мембрана е сравнително пропусклива за малки молекули и йони поради наличието на порини, докато вътрешната мембрана се характеризира със строго селективна пропускливост и съдържа специфични транспортни протеини. Между двете мембрани се намира тясно интермембранно пространство, което представлява отделен компартмент.

Вътрешното пространство на хлоропласта, заградено от вътрешната мембрана, се нарича строма. Тя представлява функционален аналог на митохондриалния матрикс, съдържащ голямо разнообразие от разтворими ензими, сред които най-важен е рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза/оксигеназата (Rubisco). В стромата се извършват реакциите от цикъла на Калвин, при които се фиксира въглеродният диоксид и се синтезират въглехидрати. Освен ензими, в стромата е разположена и собствената генетична система на хлоропласта, включваща пръстеновидна ДНК, специфични рибозоми от 70S тип, транспортни и информационни РНК молекули. Това позволява на хлоропластите частично сами да синтезират някои от необходимите им протеини, въпреки че по-голямата част от техния протеом е кодиран в ядрото.

Най-характерната особеност на хлоропластите е наличието на трета вътрешна мембранна система – тилакоидната мембрана. Тилакоидната мембрана образува система от плоски мембранни торбички, наречени тилакоиди, които често са подредени в купчинки, известни като грани.

Тилакоидната мембрана затваря вътрешно пространство, наречено лумен, което е физически изолирано от стромата. Тази компартментализация е от основно значение за фотосинтезата, тъй като позволява генерирането на протонен градиент през мембраната по време на електронния транспорт.

В тилакоидната мембрана са интегрирани фотосинтетичните пигменти (хлорофили и каротеноиди), които са организирани заедно с протеини във фотосистеми (Фотосистема I и Фотосистема II). Тези пигмент-протеинови комплекси улавят светлинната енергия и я преобразуват в химична чрез поредица от окислително-редукционни реакции. Процесът е съпроводен от изпомпване на протони от стромата в лумена на тилакоидите, което създава електрохимичен потенциал. Този потенциал се използва от ензима АТФ-синтаза, разположен в тилакоидната мембрана, за синтеза на АТФ по механизъм, аналогичен на този в митохондрии.

В стромата на хлоропластите често се наблюдават и скорбялни зърна и пластоглобули (липидни капки). Скорбялните зърна представляват временни депа за съхранение на фотосинтетичните продукти, които се разграждат през нощта, за да осигурят енергия за метаболизма на растението. Пластоглобулите от своя страна служат като резервоар за липиди, пластохинони и токофероли, участващи в поддържането на мембрания интегритет и защитата срещу оксидативен стрес.

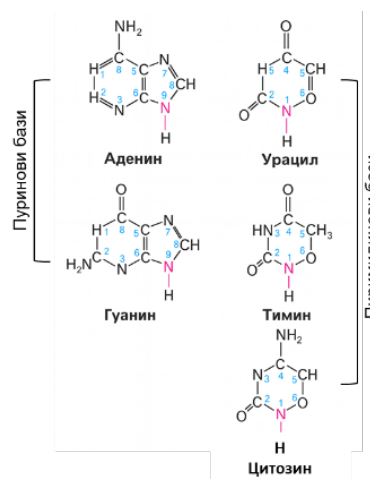
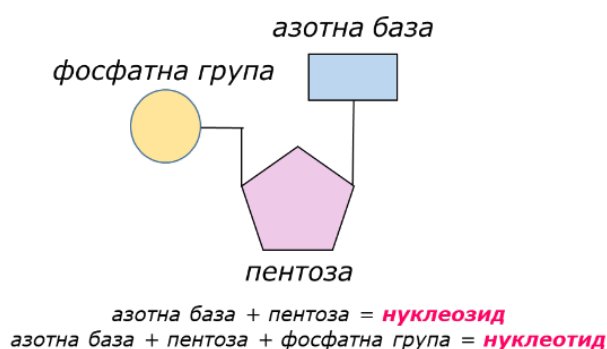
Най-важната функция на хлоропластите е осъществяването на фотосинтезата. Процесът, чрез който светлинната енергия се преобразува в химична енергия, съхранена в органични молекули. Фотосинтезата протича на два етапа – светлинна и тъмнинна фаза. В светлинната фаза, която се осъществява в тилакоидните мембрани, фотосинтетичните пигменти улавят енергията на фотоните и я използват за възбуждане на електрони. Тези електрони се пренасят по електрон-транспортна верига, което води до синтез на АТФ и редуциран никотинамид-аденин-динуклеотидфосфат (НАДФН). Едновременно с това, водата се окислява, освобождавайки кислород като страничен продукт. По този начин хлоропластите са основният източник на молекулен кислород в атмосферата. В тъмнинната фаза на фотосинтезата, протичаща в стромата на хлоропластите, енергията и НАДФН, произведени в светлинната фаза се използват за фиксация на въглероден диоксид и синтез на въглехидрати. Този процес води до образуване на триозофосфати, които служат като прекурсори за синтеза на глюкоза, захароза и скорбяла.

Освен фотосинтезата, хлоропластите участват активно в синтеза на някои жизненоважни биомолекули. В тях протича биосинтезата на мастни киселини, които са основни компоненти на мембранните липиди. Синтезираните в хлоропластите мастни киселини служат като прекурсори за образуването на фосфолипиди и гликолипиди, необходими за изграждането на плазмалемата и мембраните на клетъчните органели. Хлоропластите участват също в синтеза на някои аминокиселини, нуклеотиди и витамини, което подчертава тяхната роля като биосинтетични центрове.

Хлоропластите участват и в азотния и серния метаболизъм на растителната клетка. Асимилацията на неорганичния азот започва в корените, но крайните етапи, редукцията на нитрити до амоний и последващото му включване в аминокиселини като глутамат и глутамин, протичат предимно в хлоропластите. Те са мястото за синтез на почти всички есенциални аминокиселини, включително ароматните (фенилаланин, тирозин, триптофан) и разклонените (валин, левцин, изолевцин). По подобен начин, неорганичната сяра се редуцира и превръща в органичната аминокиселина цистеин именно в хлоропластната строма, което е от основно значение за производството на протеини и глутатион, основният антиоксидант в клетката.

Хлоропластите играят роля и в защитата на клетката от неблагоприятни условия. При висока светлинна интензивност или други стресови фактори, те активират механизми за фотозащита, които предотвратяват увреждането на фотосинтетичния апарат. Тези механизми включват разсейване на излишната енергия и контрол на образуването на реактивни кислородни радикали. По този начин хлоропластите допринасят за поддържането на клетъчната хомеостаза и устойчивостта на растението към стрес.

Нуклеиновите киселини представляват последователности от химически свързани субединици, чиято основна роля е съхранението, предаването и експресията на генетичната информация. Съществуват два основни типа нуклеинови киселини – дезоксирибонуклеинова киселина (ДНК) и рибонуклеинова киселина (РНК), всяка от които притежава специфични структурни характеристики и биологични функции. Нуклеиновите киселини са изградени от нуклеотидни единици, като всеки нуклеотид се състои от три компонента: азотна база, монозахарид (пентоза) и фосфатна група. Азотните бази се класифицират в две категории – пурини и пиримидини. Пурините включват аденин (А) и гуанин (Г) и са изградени от слети пет- и шестчленен пръстен. Пиримидините – цитозин (С), тимин (Т) и урацил (У) – съдържат един шестчленен пръстен. В ДНК се срещат аденин, гуанин, цитозин и тимин, докато РНК съдържа аденин, гуанин, цитозин и урацил, който замества тимина. Монозахаридът е петвъглеродна захар с циклична структура. При ДНК това е 2-дезоксирибоза, която притежава хидроксилни групи (–ОН) на първата, третата и петата позиция на пръстена, но има водороден атом (–Н) на втората позиция, вместо хидроксилна група. При РНК, монозахаридът е рибоза, който съдържа хидроксилна група на втора позиция. Тази разлика изглежда минимална, но тя има съществени последици за стабилността и функциите на молекулите. Липсата на хидроксилна група на втората позиция при ДНК я прави по-устойчива на хидролиза, което обуславя ролята ѝ като молекула за дълготрайно съхранение на генетичната информация. Фосфатната група е третият компонент на нуклеотида и съдържа фосфорен атом, свързан с кислородни атоми. При нуклеотидите фосфатната група е свързана към петата позиция на захарта чрез фосфоестерна връзка. Азотната база и монозахаридът са свързани посредством N-глюкозидна връзка, като аденинът и гуанинът се свързват чрез азотния атом в позиция 9 на пуриновия пръстен, а цитозинът, тиминът и урацилът – чрез азотния атом в позиция 1 на пиримидиновия пръстен. В резултат на това свързване се образува нуклеозид. При добавяне на фосфатна група към петата позиция на захарта се формира нуклеотид.



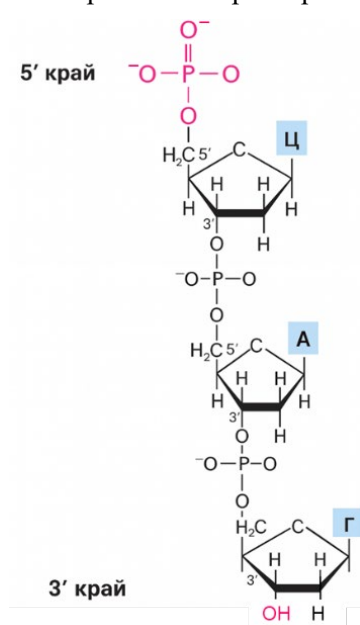
Нуклеотидите се свързват в полимерни вериги чрез образуване на фосфодиестерни връзки. Тези връзки се установяват между 3'-хидроксилната група на един нуклеотид и 5'-фосфатната група на следващия нуклеотид. Получената полинуклеотидна верига притежава ясно изразена насоченост: единият ѝ край съдържа свободна 5'-фосфатна група (5'-край), а другият – свободна 3'-хидроксилна група (3'-край). По правило нуклеотидната последователност винаги се записва и анализира в посока от 5' към 3' край. Тази насоченост е от съществено значение за всички основни биологични процеси, включително репликация, транскрипция и транслация.

Скелетът на полинуклеотидната верига се състои от редуващи се захарни и фосфатни остатъци, образуващи регулярна и повтаряща се структура. Азотните бази излизат навън от този захарно-фосфатен скелет и участват в специфични взаимодействия.

Около N-глюкозидната връзка между азотната база и захарта съществува възможност за ротация, която се характеризира с торзионния ъгъл на тази връзка. В зависимост от стойността на ъгъла нуклеотидът може да заема син- или анти-конформация. При син-конформацията пуриновият пръстен или кислородният атом на пиримидиновата база са разположени над пентозния пръстен, докато при анти-конформацията те са насочени в противоположна посока спрямо захарта. Анти-конформацията е преобладаваща в природните ДНК и РНК молекули, докато син-конформацията има значение при специфични структури, като например Z-ДНК.

Разбирането на вторичната структура на ДНК е резултат от поредица експериментални открития. През 50-те години на XX век, Ервин Чаргаф анализира нуклеотидния състав на различни ДНК молекули чрез хроматографски методи. Той установява, че количеството на адениновите остатъци е равно на това на тиминовите ($A = T$), а количеството на гуаниновите – на цитозиновите ($G \equiv C$), като съотношението между пурины и пиримидини винаги е 1:1. Това наблюдение, известно като правилото на Чаргаф, предполага специфична организация на азотните бази в ДНК молекулата.

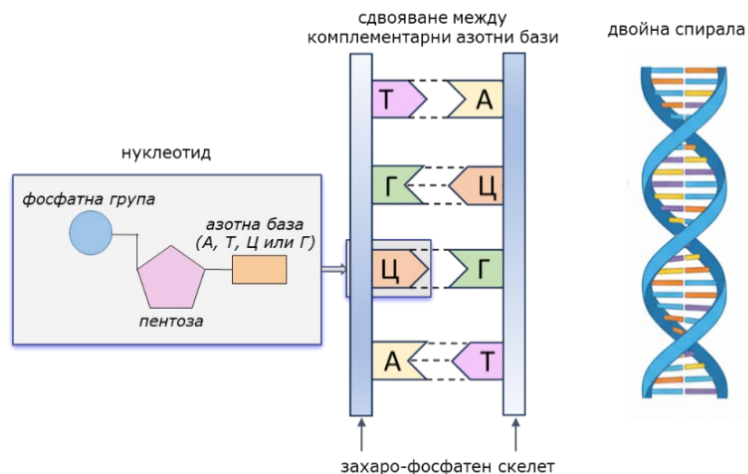
По същото време Розалинд Франклин и Морис Уилкинс провеждат рентгеноструктурни анализи на ДНК молекули. Получените дифракционни модели разкриват спираловидния характер на молекулата. Данните показват диаметър на ДНК от приблизително 2 nm, разстояние между последователни обороти на спиралата от около 3,4 nm и наличие на приблизително 10 нуклеотидни двойки на оборот. Тези параметри свидетелстват за регулярна и добре организирана спирална структура.



През 1953 г. Джеймс Уотсън и Франсис Крик предлагат модел на ДНК, който интегрира всички налични експериментални данни. Според този модел, ДНК е изградена от две полинуклеотидни вериги, усукани около една обща ос и образуващи дясновъртяща двойна спирала. Захаро-фосфатните им скелети са разположени по периферията на молекулата и формират външната ѝ повърхност, докато азотните бази са ориентирани към центъра и изграждат вътрешната сърцевина. Това подреждане позволява хидрофилният скелет да бъде максимално изложен на водната среда, а хидрофобните бази да бъдат защитени във вътрешността на структурата. Дясновъртящият характер на спиралата означава, че при наблюдение по оста на молекулата захаро-фосфатните вериги се завъртат по посока на часовниковата стрелка. По протежение на спиралата се оформят две надлъжни бразди – голяма и малка, които служат като места за специфично взаимодействие с регулаторни белтъци, разпознаващи определени ДНК последователности.

Двете полинуклеотидни вериги се свързват помежду си чрез специфично базово сдвояване. Аденинът от едната верига се свързва с тимин от другата, образувайки $A=T$ двойка, а гуанинът – с цитозин, образувайки $G \equiv C$ двойка. Това специфично сдвояване е в основата на комплементарността между веригите и обяснява правилото на Чаргаф. Свързването между комплементарните бази се осъществява чрез водородни връзки. $A=T$ двойката се стабилизира от две водородни връзки, докато $G \equiv C$ двойката се стабилизира от три, което допринася за по-високата стабилност на $G \equiv C$ богатите участъци.

Азотните бази в базовите двойки не лежат в една и съща равнина, а са леко отместени една спрямо друга, образувайки конфигурация, наподобяваща витло. Ъгълът на отместване е приблизително 12° при $A=T$ двойките и около 7° при $G \equiv C$ двойките.



Двете вериги в молекулата на ДНК са антипаралелни: едната е ориентирана от 5' към 3' край, а другата – от 3' към 5' край. Тази антипаралелност е критична за стабилността на молекулата и представлява ключов елемент от модела на Уотсън–Крик.

Вертикалните взаимодействия между съседни азотни бази, известни като стекинг-взаимодействия, възникват благодарение на малкото разстояние между базите, което попада в границите на Ван дер Ваалсовия радиус. Те включват диполни взаимодействия, Лондонови дисперсионни сили и хидрофобни ефекти. Стекинг-взаимодействията допринасят значително за стабилността на ДНК молекулата, често в същата степен, както и водородните връзки.

ДНК молекулата не съществува в един-единствен конформационен вид, а може да приема различни структурни форми в зависимост от условията на средата. В-конформацията е преобладаващата форма на ДНК молекулите при физиологични условия в живите клетки и във водни разтвори със съдържание на вода около 90%. В-ДНК съдържа приблизително 10 нуклеотидни двойки на оборот на спиралата, разстоянието между два последователни оборота е около 3,4 nm и се оформят две ясно изразени бразди – голяма и малка.

А-конформацията се наблюдава в разтвори с по-ниско водно съдържание (около 70%). А-ДНК е преобладаващата конформация при двойноверижни РНК молекули и при хибридни ДНК–РНК дуплекси. При тази форма азотните бази са наклонени спрямо централната ос на спиралата, което води до структура с около 11 нуклеотидни двойки на оборот и разстояние между оборотите от приблизително 2,55 nm.

Z-конформацията представлява лявовъртяща спирала, което е сравнително необичайно явление в живата клетка. Z-ДНК се среща в ограничени участъци при алтернативни пурин–пиримидинови последователности, при които пурините заемат син-конформация, а пиримидините – анти-конформация. Тази форма съдържа 12 нуклеотидни двойки на оборот и се характеризира с наличие на една централна бразда вместо две.

За разлика от ДНК, която обикновено е двойноверижна, РНК молекулите са предимно еднoверижни. Въпреки това РНК може да образува локални вторични структури чрез базово сдвояване между различни участъци на една и съща верига. Това се осъществява благодарение на наличието на палиндромни последователности, при които дадена нуклеотидна последователност е последвана от своята обратна комплементарна последователност. Когато такива палиндромни области са разположени близо една до друга, РНК молекулата може да се огъне и да образува базови двойки между комплементарните участъци. В резултат се формира структура, известна като фуркета (стъбло – бримка). Стъблото представлява двойноверижен участък, стабилизирани от водородни връзки и стекинг-взаимодействия между азотните бази, докато бримката се състои от сегмента между двата комплементарни региона. Способността на РНК да формира специфична вторична структура е от критично значение за нейните биологични функции. Много видове РНК, особено транспортните РНК, образуват характерни бримки и структурни елементи за правилното си функциониране.

Денатурацията е процес, при който водородните връзки между комплементарните вериги на ДНК се разкъсват и двете полинуклеотидни вериги се разделят. Този процес може да бъде индуциран от различни фактори, като висока температура, екстремни рН стойности, както и определени химични реагенти, които нарушават електростатичните взаимодействия. Денатурацията е съпроводена от значителни промени във физикохимичните свойства на молекулата. Един от най-характерните показатели е промяната в оптичната абсорбция. Азотните бази поглъщат ултравиолетова светлина с максимум при 260 nm. При нативната двойноверижна ДНК абсорбцията е приблизително с 40% по-ниска в сравнение със свободни нуклеотиди. Това явление, известно като хипохромен ефект, се дължи на подреденото разположение на азотните бази като монетни стълбчета в двойната спирала. След денатурация базите губят тази подредба и абсорбцията нараства – явление, известно като хиперхромен ефект. Денатурацията на ДНК не настъпва при една строго определена температура, а протича в определен температурен интервал. Температурата на топене (T_m) се дефинира като температурата, при която 50% от молекулите са денатурирани. Когато оптичната абсорбция се изобрази като функция от температурата се получава характерна S-образна крива, известна като крива на топене на ДНК. Температурата на топене зависи от няколко фактора, като най-значимият е нуклеотидният състав. Йонната сила на разтвора също оказва значително влияние, а присъствието на органични разтворители, като формид, може да понижи T_m и да позволи денатурация при по-ниски температури. При подходящи условия денатурацията може да бъде обратим процес. Ренатурацията (реасоциацията) представ-

лява повторното свързване на две комплементарни едноверижни полинуклеотидни вериги и възстановяване на двойната спирала. Хибридизацията е сходен процес, при който се свързват две комплементарни едноверижни молекули нуклеинови киселини – ДНК–ДНК, РНК–РНК или ДНК–РНК хибриди.

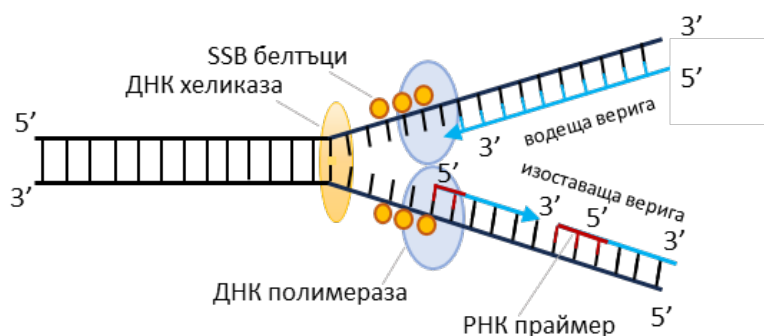
ДНК репликация

Процес, при който оригиналните (родителски) вериги на ДНК в двойната спирала се разделят и всяка от тях се копира, за да се получат две нови (дъщерни) двойно-верижни ДНК молекули. ДНК репликацията се извършва през S фазата на клетъчния цикъл. При клетъчното делене двете дъщерни клетки получават идентични копия на ДНК. Репликацията на ДНК може да се извърши изкуствено чрез лабораторна техника, наречена полимеразна верижна реакция (PCR – Polymerase Chain Reaction), която може да амплифицира прицелен ДНК фрагмент от генома. ДНК репликацията е процеса осигуряващ точното копиране на генетичния материал при всяко клетъчно делене. Основна характеристика на репликацията е нейния полуконсервативен характер. При този процес, двойната спирала на ДНК се разплита, разделяйки двете комплементарни вериги. Всяка от двете вериги служи, като шаблон или матрица за синтез на нова комплементарна верига. Резултатът е образуването на две нови ДНК молекули, всяка съставена от една майчина верига и една новосинтезирана верига. След приключване на репликацията, всяка дъщерна клетка получава един оригинален генетичен материал от родителската клетка и един новосинтезиран. Процесът осигурява непрекъснатост на генетичната информация от поколение на поколение. Репликон е геномна единица, в която се извършва единичен акт на репликация. Бактериалната хромозома представлява единичен репликон, докато еукариотната хромозома се състои от множество репликони. Репликацията на ДНК се инициира в място наречено начало на репликацията – секвенция богата на A=T двойки (*OriC* сайт при *E.coli*). Там се иницират репликационни вилки, които се движат двупосочно по молекулата на ДНК. Репликацията спира в участък наречен край на репликацията. Процеса репликация се състои от три етапа: Инициация – включва разпознаване на репликационно начало от белтъчен комплекс, разделяне на двете вериги и временно стабилизиране на едноверижното им състояние, инициране в репликационната вилка на синтеза на дъщерните вериги; Елонгация – осъществява се от друг белтъчен комплекс – реплизома, който съществува само свързан със специфичната структура, която ДНК придобива в репликационната вилка. Реплизомата включва ДНК полимераза III и други ензими; Край на репликация – реакции на свързване или терминация, след които удвоените хромозоми се разделят.

В бактериалните и еукариотните клетки има няколко ДНК полимерази. Едни от тях участват в каталитичната реакция на репликацията, други имат помощна роля в репликацията, а трети извършват поправка на повредена ДНК. Всички бактериални и еукариотни ДНК полимерази споделят една и съща фундаментална 5'-3'-синтетична активност (катализират създаването на 5'-3' фосфодиестерна връзка между два нуклеотида). Синтезата на новата ДНК верига се извършва винаги в посока 5'-3'. Субстрати са 4^{те} нуклеотид трифосфати (НТФ). ДНК полимеразите притежават също и 3'-5'-екзонуклеазна активност, която се използва за да се изрежат неправилно сдвоени бази (proofreading активност). При прокариотните организми основната репликаза е ДНК полимераза III. ДНК полимераза III на *E. coli* е комплекс с димерна структура, притежаващ висока процесивност. Всеки мономер се състои от: комплекс, натоварващ скобата – 5 субединици, които използват енергията на АТФ хидролиза, за да свържат β скобата към дуплекса матрица:праймер; хомодимер на β субединицата (β скоба) – обхваща матричната верига, като скоба и след това присъединява каталитичната сърцевина; каталитична сърцевина – α субединица с ДНК полимеразна активност, ε субединица с ДНК екзонуклеазна активност, θ субединица, стимулираща ε субединицата; и димеризираща субединица, τ (таф) – свързва каталитичните субединици и поддържа димерната структура.

Тъй като двете комплементарни вериги са антипаралелни, този едноразсечен синтез създава специфичен проблем при репликация. Една от двете новосинтезиращи се вериги, известна като водеща, е ориентирана в посока, позволяваща непрекъснатата ѝ синтеза. Другата верига – изоставаща верига, е ориентирана в противоположна посока, което изисква специален механизъм за нейното синтезиране. Водещата верига на ДНК се синтезира непрекъснато в посока 5'-3'. Изоставащата верига на ДНК трябва да нараства в посока 3'-5' и се синтезира прекъснато под формата на 5'-3' фрагменти с дължина 1000 – 2000 нд (в еукариотни клетки са с дължина 100 – 200 нд) – фрагменти на Оказаки, които след това се свързват ковалентно.

При прокариоти, преди да стартира синтезата на ДНК, двете вериги в молекулата на ДНК трябва да се разделят в къс участък, разположен в непосредствена близост на *OriC*. Процеса изисква свързване на инициаторни белтъци към *OriC*. Следва присъединяване на хеликазите и на белтъци SSB (Single-Strand Binding), които пречат на разделените вериги да образуват дуплекс. Хеликазата разкъсва водородните връзки между базите на двете полинуклеотидни вериги и разплита двойната спирала. Тя не може да иницира разплитането – инициаторните белтъци първи разделят двете вериги в близост до *OriC* и тогава хеликазата се свързва към изоставащата верига. Жиразата е топоизомераза, която контролира суперспирализирането на ДНК. Редуцира торзионното напрежение, което възниква пред репликационната вилка в резултат на разплитането (изисква хидролиза на АТФ, като донор на енергия). ДНК полимеразата не може да започне сама синтез на нова верига, а се нуждае от свободен 3'-ОН край, към който да прибавя нуклеотиди. За целта се синтезира къса праймерна секвенция (най-често РНК) с дължина 10 – 12 нд, която предоставя свободен 3'-край на ДНК полимеразата. Праймазата е специална РНК полимераза, която синтезира тези праймери. Хеликазата, създаваща репликативната вилка е свързана с двете каталитични сърцевини на ДНК полимераза III, всяка от които се държи върху матрицата чрез β -скоба. Каталитичната сърцевина, която синтезира водещата верига, се движи непрекъснато. Другата каталитична сърцевина, която синтезира изоставащата верига, се дисоциира в края на новосинтезирания фрагмент на Оказаки и след това се реасоциира към праймер в едноверижната бримка, за да синтезира следващия фрагмент. ДНК полимераза III удължава праймера във фрагмент на Оказаки. Следващият фрагмент на Оказаки вече е синтезиран. ДНК полимераза I заменя РНК праймера с ДНК. Лигаза свързва два съседни фрагмента на Оказаки.



При еукариотните организми Репликоните имат дължина 40 – 100 кб и се активират в определено време и в определен ред през S фазата на еукариотния клетъчен цикъл, когато ДНК се реплицира. Всеки репликон се активира само веднъж през клетъчния цикъл. Репликативната вилка (ДНК полимеразата) се движи от началото на нейния репликон, докато срещне друга вилка (друга ДНК полимераза), движеща се срещу нея от съседния репликон (хиляди начала на репликацията).

Преди репликация, ядрото съдържа активни лицензиращи фактори. След репликация лицензиращите фактори в ядрото се инактивират, а лицензиращите фактори в цитоплазмата не могат да влязат в ядрото. По време на митозата, когато се разрушава ядрената мембрана и се образуват дъщерните ядра, лицензиращите фактори се свързват с техния ядрен материал. Лицензиращите фактори гарантират, че репликация ще се извърши само веднъж по време на клетъчния цикъл.

Реализация на генетичната информация

През 1958 г. Франсис Крик формулира централната догма, която описва потока на генетичната информация от ДНК към РНК и след това към протеините. ДНК съдържа наследствената информация, РНК служи като неин преносител, а рибозомите са мястото, където тази информация се превръща във функционален продукт. Процесът се нарича генна експресия и включва два основни етапа: транскрипция (синтез на РНК) и транслация (синтез на протеини). Централната догма описва потока на генетичната информация $\text{ДНК} \rightarrow \text{РНК} \rightarrow \text{протеин}$, но съвременната биология показва, че този процес е по-сложен и динамично регулиран. РНК има множество функции извън ролята си на посредник, като некодиращите РНК участват в регулацията на генната експресия. Откриването на обратната транскрипция доказва, че информацията може да се предава и от РНК към ДНК. Генната експресия се контролира и от епигенетични механизми и от самите протеини чрез обратни регулаторни връзки, което превръща централната догма от линеен модел в сложна регулаторна мрежа.

Транскрипция – транскрипционна единица

Транскрипцията е процесът, при който генетичната информация се преписва от ДНК в РНК и представлява първия етап от реализацията на генетичната информация в клетката. Тя се катализира от ензима ДНК-зависима РНК полимераза, който използва едната ДНК верига (матрична) като шаблон. Получената РНК молекула е комплементарна на матричната верига и почти идентична със смислената ДНК верига, като вместо тимин съдържа урацил. Информационната РНК пренася генетичните инструкции от ядрото до рибозомите, където се осъществява синтезът на белтъци. Процесът е строго регулиран и се активират само гените, необходими в дадения момент. Транскрипцията протича в три основни етапа. По време на инициацията РНК-полимеразата разпознава специфична ДНК последователност, наречена промотор, свързва се с нея и предизвиква локално разплитане на двойната спирала, като се образува транскрипционно мехурче. Този етап е решаващ, защото определя кои гени ще бъдат транскрибирани. Следва етапът на елонгация, при който РНК-полимеразата се придвижва по матричната ДНК в посока $3' \rightarrow 5'$ и синтезира комплементарна РНК в посока $5' \rightarrow 3'$, като последователно добавя рибонуклеотиди според принципа на комплементарност. Терминацията настъпва, когато ензимът достигне специална терминаторна последователност, в резултат на което РНК-полимеразата се отделя от ДНК, а новосинтезираната РНК молекула се освобождава.

Транскрипционната единица представлява участък от ДНК, който съдържа цялата информация, необходима за синтеза на една РНК молекула. Тя включва промоторна област, РНК-кодираща последователност и терминатор. Мястото, от което започва транскрипцията, се нарича транскрипционно начало (TSS) и се означава с +1. Промоторът се разполага нагоре от това място, не се транскрибира, но има ключова регулаторна функция, тъй като служи за свързване на РНК-полимеразата и инициране на транскрипцията. Посоката на движение на РНК-полимеразата определя ориентацията на транскрипционната единица на „нагоре“ и „надолу“ спрямо TSS. Обикновено една транскрипционна единица кодира един ген и води до синтез на моноцистронна РНК, но в някои случаи може да обхваща няколко гена и да продуцира полицистронна РНК.

РНК полимераз

РНК полимеразите са ензими, които катализират синтеза на РНК по матрица от ДНК. При прокариотите и археите съществува един тип РНК полимераза, докато еукариотните клетки използват три основни РНК полимераз, а в растенията се срещат още две допълнителни. Митохондриите и пластидите разполагат със собствени, органел-специфични РНК полимераз. Основната активност на ензима е $5' \rightarrow 3'$ полимеразна активност, при която към нарастващата РНК верига се добавят рибонуклеотиди, използвайки ДНК като матрица. Субстратите на реакцията са нуклеозид трифосфатите АТР, ГТР, СТР и УТР, а последователността на РНК се определя от комплементарното сдвояване на базите. Каталитичният механизъм е сходен с този на ДНК поли-

меразата и включва образуване на фосфодиестерна връзка с освобождаване на пирофосфат. Всяка новосинтезирана РНК започва с нуклеозид трифосфат, при който се запазва 5'-трифосфатната група.

РНК полимеразата при прокариоти

Бактериалната РНК полимеразата се състои от каталитично ядро, изградено от четири основни субединици – две α -субединици и по една β -, β' - и ω -субединица ($\alpha_2\beta\beta'\omega$). Тази основна форма на ензима се нарича сърцевинен или кор-ензим. За точното разпознаване и позициониране върху правилния промотор към кор-ензима се присъединява допълнителна субединица, наречена σ -фактор. Комплексът от кор-ензима и σ -фактора ($\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$) се означава като холоензим. Кор-ензимът е напълно способен да катализира синтеза на РНК, което показва, че σ -факторът не е необходим за самата каталитична активност. Въпреки това кор-ензимът притежава само неспецифичен афинитет към ДНК и може да се свързва хлабаво със случайни участъци, без да различава промоторни последователности. При такова свързване ДНК остава двойноверижна. За разлика от кор-ензима, σ -факторът разпознава специфични ДНК последователности – промоторите. Благодарение на него холоензимът се свързва стабилно с промотора и предизвиква локално разплетане на ДНК, което е необходимо за започване на транскрипцията. Правилният избор на промотор е критичен за процеса, тъй като синтезът на функционална РНК трябва да започне точно в началото на гена.

Еукариотни РНК полимерази

В ядрото на еукариотната клетка функционират три консервативни РНК полимерази – РНК полимеразата I, РНК полимеразата II и РНК полимеразата III, като всяка от тях транскрибира различен набор от гени. РНК полимеразата I е отговорна за транскрипцията на гените за рибозомна РНК – 18S, 5.8S и 28S рРНК, с изключение на гена за 5S рРНК. Гените за 18S, 5.8S и 28S рРНК обикновено са организирани в една транскрипционна единица, известна при растенията като 35S рибозомна ДНК (рДНК), а при животните – като 45S рДНК. Тази транскрипционна единица се транскрибира от РНК полимеразата I и дава начало на един общ прекурсор на рРНК, който впоследствие се процесира до трите зрели рРНК молекули. Генът за 5S рРНК е разположен извън 35S/45S рДНК единицата и се транскрибира от РНК полимеразата III. Синтезът на рибозомна РНК протича в ядръцето – специализирана структура в ядрото на еукариотните клетки, която служи като място за транскрипция, процесинг на рРНК и начални етапи на сглобяване на рибозомните субединици. РНК полимеразата II транскрибира всички протеин-кодиращи гени, както и множество гени за некодиращи РНК, включително микроРНК и малки ядрени РНК, участващи в процеса на сплайсинг. Тази полимеразата е изключително чувствителна към алфа-аманитин. РНК полимеразата III транскрибира повечето от малките клетъчни РНК, включително тРНК и 5S рРНК. Ядрените РНК полимерази са големи мултисубединични комплекси. Всяка от еукариотните РНК полимерази съдържа както уникални, така и споделени субединици. Уникалните субединици са от съществено значение за специфичните функции на всяка полимеразата, като определят типа РНК, който се транскрибира, и взаимодействието със съответните транскрипционни фактори. Те включват двете най-големи субединици, които са силно консервативни през еволюцията и формират каталитичното ядро на ензима. Споделените между трите РНК полимерази субединици изпълняват както структурна роля, осигуряваща правилното сглобяване и стабилност на комплекса, така и функционална роля, тъй като участват във взаимодействия с регулаторни белтъци и транскрипционни фактори, което позволява гъвкава регулация на транскрипцията в отговор на различни клетъчни условия.

Особености при прокариоти и еукариоти

Регулацията на генната експресия при еукариотите се осъществява основно на нивото на транскрипцията и включва взаимодействие между транскрипционни фактори, регулаторни ДНК елементи и мултипротеинови комплекси. Транскрипционните фактори са белтъци, които се свързват със специфични ДНК последователности и инициират или модулират транскрипцията, като главните транскрипционни фактори при еукариоти (TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIF и TFIIH) са необходими за започване на транскрипцията, а други действат като активатори или репресори. Регулаторните ДНК елементи включват промотори, към които се свързва транскрипционната машина, както и ехансери и сайлънсери, които могат да усилят или потискат транскрипцията

от разстояние и играят ключова роля в тъканно-специфичната експресия. Генната експресия се контролира от сложни регулаторни мрежи, в които множество фактори взаимодействат помежду си и с различни гени, за да осигурят координиран отговор на вътрешни и външни сигнали. При прокариотите транскрипцията и транслацията протичат едновременно в цитоплазмата, като иРНК не претърпява посттранскрипционна обработка. Пре-рРНК и пре-тРНК обаче се обработват до функционални молекули. При еукариотите транскрипцията се извършва в ядрото, а транслацията – в цитоплазмата. Протеин-кодиращите гени се транскрибират до пре-иРНК, която претърпява посттранскрипционна обработка и се превръща в зряла иРНК, транспортирана в цитоплазмата за синтез на белтъци.

Начало на формуляра

Синтез на протеини – транслация

Протеиновият синтез, наричан още **транслация**, е процесът, при който информацията, записана в информационната РНК (иРНК), се използва за синтез на белтъчни молекули. По време на транслацията нуклеотидната последователност на иРНК се „превежда“ в аминокиселинна последователност с помощта на генетичния код. Процесът изисква съгласуваното действие на иРНК, транспортна РНК (тРНК) и рибозомна РНК (рРНК), както и участието на множество цитоплазмени белтъци и фактори. Транслацията може да се разглежда като **кулминационния етап на експресията на генетичната информация**, тъй като нейният краен резултат са белтъците – основните структурни и функционални компоненти на живите клетки.

Въведение в транслацията

Генетичният код представлява набор от правила, чрез които живите клетки превеждат информацията, кодирана в нуклеиновите киселини, в аминокиселинна последователност на белтъците. Той се състои от последователности от нуклеотиди, групирани в триплети, наречени кодони, като всеки кодон определя включването на определена аминокиселина по време на белтъчния синтез или сигнализира за начало или край на транслацията. Важна характеристика на генетичния код е колинеарността между нуклеотидната последователност на кодиращия участък на гена (респ. иРНК) и аминокиселинната последователност на съответния белтък. Това означава, че подредбата на кодоните в иРНК съответства линейно на подредбата на аминокиселините в полипептидната верига. В резултат дължината на кодиращата нуклеотидна последователност е пропорционална на дължината на синтезирания полипептид. По време на транслацията иРНК, синтезирана в процеса на транскрипция, служи като матрица, върху която рибозомите изграждат специфична аминокиселинна последователност чрез разчитане на генетичния код. Докато колинеарността е ясно изразена при прокариоти и много вируси, при еукариотите тя е по-сложно проявена. Еукариотните гени често съдържат интрони, които се отстраняват по време на процеса на първичната транскриптна РНК, което нарушава директното съответствие между дължината на гена и дължината на крайния белтък. Въпреки това основният принцип на колинеарността остава фундаментален за разбирането на транслацията.

Основни етапи на транслацията

Инициация – етапът, при който малката и голямата рибозомна субединица се сглобяват върху иРНК във функционална рибозома. Разпознава се стартовият кодон (обикновено AUG) и се свързва инициаторната тРНК, натоварена с метионин. Инициацията е сравнително бавен и силно регулиран етап, който често определя скоростта на транслация на дадена иРНК. **Удължаване** – включва последователното присъединяване на аминокиселини към нарастващата полипептидна верига чрез образуване на пептидни връзки. Това е най-бързият етап на белтъчния синтез и протича с висока точност. **Прекратяване** – настъпва при достигане на стоп кодон в иРНК. На този етап синтезираната полипептидна верига се освобождава от рибозомата, а рибозомните субединици се дисоциират от иРНК.

Инициация на транслацията

По време на инициацията на транслацията малката субединица на рибозомата се свързва с информационната РНК. Инициаторната транспортна РНК, носеща метионин, се позиционира директно в Р-мястото на малката субединица и разпознава стартовия кодон AUG. След стабилизирание на този инициационен комплекс към него се присъединява голямата рибозомна субединица,

в резултат на което се формира функционално активна рибозома, готова за фазата на удължаване. Ключов въпрос при инициацията е как рибозомата разпознава правилния стартов кодон, от който да започне белтъчният синтез. Този избор не е случаен и се определя от регулаторни елементи, локализирани в 5'-нетранслирания регион (5'-НТР) на иРНК, които участват както в позиционирането на рибозомата, така и в контрола на ефективността и скоростта на транслацията. При прокариотите инициацията на транслацията се осъществява с участието на малката рибозомна субединица (30S), трите прокариотни фактори на инициация (IF-1, IF-2 и IF-3) и специализираната инициаторна тРНК, обозначаваща като тРНК^{fMet}. В повечето прокариотни иРНК се открива специфична нуклеотидна последователност, която насочва рибозомата към началото на протеин-кодиращия регион. При *E. coli* тази последователност, обикновено с консенсус AGGAGG, е известна като област на Шайн-Далгарно. Тя е комплементарна на участък от 16S рРНК в състава на малката рибозомна субединица, което позволява образуването на водородни връзки и точно позициониране на стартовия кодон в Р-мястото на рибозомата. Инициаторната тРНК носи метионин, който след прикрепването към тРНК се формира, образувайки N-формилметионин (fMet). Поради това всяка полипептидна верига, синтезирана в *E. coli* и в повечето други прокариоти, започва с fMet. В последствие тази формирана аминокиселина често се отстранява или посттранслационно. За разлика от инициаторната тРНК, вътрешните кодони AUG в хода на удължаването се разпознават от различна тРНК, носеща неформиран метионин. Инициацията протича поетапно. Първоначално факторът IF-3 се свързва с 30S субединицата и предотвратява преждевременното ѝ асоцииране с 50S субединицата, като същевременно подпомага свързването на малката субединица с иРНК в областта на Шайн-Далгарно. IF-1 се асоциира с А-мястото на 30S субединицата и предотвратява преждевременното навлизане на аминоацил-тРНК. Паралелно с това IF-2, свързан с GTP, образува комплекс с инициаторната тРНК^{fMet} и я доставя до Р-мястото на малката субединица. След правилното разпознаване на стартовия кодон и стабилизиране на инициационния комплекс IF-3 контролира точността на сдвояването между антикодона на тРНК и кодона на иРНК. Последва присъединяване на голямата (50S) субединица, при което IF-2 катализира хидролизата на GTP до GDP. Освободената енергия води до дисоциация на инициращите фактори и до конформационни промени, които стабилизират напълно функционалната 70S рибозома, готова да навлезе във фазата на елонгация.

Удължаване на полипептидната верига

Удължаването на полипептидната верига представлява централния етап на протеиновия синтез, по време на който нарастващият полипептид се удължава с по една аминокиселина във всеки цикъл, в съответствие с последователността на кодоните в иРНК. Транслацията протича в посока от 5'- към 3'-края на иРНК, докато синтезиращият протеин нараства от N-края (със свободна аминогрупа) към С-края (със свободна карбоксилна група). Във всеки цикъл на удължаване към С-края на полипептидната верига се добавя една аминокиселина. Елонгацията се осъществява с участието на фактори на удължаване (elongation factors, EF) и включва повтарящи се цикли, чийто брой се определя от дължината на кодиращата последователност на иРНК. Всеки цикъл се състои от три основни стъпки: навлизане на аминоацил-тРНК в А-мястото, образуване на пептидната връзка и транслокация на рибозомата по иРНК. В първия цикъл на удължаване Р-мястото на рибозомата е заето от инициаторната тРНК, натоварена с метионин, докато при всички следващи цикли там се намира пептидил-тРНК, носеща растящата полипептидна верига. Свободното А-място приема следващата аминоацил-тРНК, чийто антикодон образува комплементарни базови двойки с кодона в иРНК. При прокариотите аминоацил-тРНК се доставя до рибозомата от термолабилния фактор на удължаване EF-Tu. Той образува троен комплекс с аминоацил-тРНК и GTP, който навлиза в А-мястото на рибозомата. Ако между кодона и антикодона се осъществи правилно сдвояване, рибозомата претърпява конформационна промяна, която активира GTP-азната активност на EF-Tu. Това води до хидролиза на GTP до GDP и неорганичен фосфат, последвана от отделяне на EF-Tu(GDP) от рибозомата и освобождаване на аминоацил-тРНК в А-мястото. EF-Tu играе ключова роля за поддържането на високата точност на транслацията. Ако кодон-антикодонното разпознаване е неправилно, рибозомата не активира GTP-азната активност на EF-Tu, което увеличава вероятността некоректната аминоацил-тРНК да напусне рибозомата. Освен това, след отделянето на EF-Tu, настъпва процесът на акомодация – кратко забавяне в пълното навлизане на аминоацил-тРНК в каталитично активната позиция. Това представлява втора контролна точка, при която неправилно свързаните аминоацил-тРНК могат

да бъдат отстранени, преди включването на неправилна аминокиселина в полипептидната верига. При еукариотите аналогичната функция се изпълнява от eEF1A, който образува троен комплекс аминоксил-тРНК/eEF1A(GTP). След правилно кодон-антикодонно разпознаване GTP се хидролизира и eEF1A се освобождава от рибозомата. След стабилизиране на аминоксил-тРНК в А-мястото свободната α -аминогрупа на новопостъпилата аминокиселина атакува естерната връзка, която свързва пептидил-тРНК в Р-мястото с растящия полипептид. В резултат С-краят на полипептидната верига се прехвърля върху аминокиселината в А-мястото и между тях се образува нова пептидна връзка. Така пептидът се удължава с една аминокиселина, в Р-мястото остава деацилирана тРНК, а в А-мястото вече се намира пептидил-тРНК. Катализата на пептидната връзка се осъществява от пептидил-трансферазната активност на рибозомата. Рибозомните белтъци не притежават каталитичен капацитет за тази реакция; вместо това тя се осъществява от рибозомната РНК на голямата субединица – 23S рРНК при прокариоти и 28S рРНК при еукариоти. По този начин рибозомата представлява най-големия известен естествен РНК катализатор (рибозим). Цикълът на удължаване завършва с транслокация – координираното придвижване на тРНК и иРНК през рибозомата. След пептидилния трансфер двете тРНК преминават през т.нар. хибридни състояния. Акцепторният край на деацилираната тРНК се измества към Е-мястото на голямата субединица, докато антикодонът ѝ остава в Р-мястото на малката субединица, формирайки Р/Е хибридно състояние. Едновременно с това пептидил-тРНК заема А-мястото в малката субединица и Р-мястото в голямата субединица (А/Р хибридно състояние). Смята се, че формирането на тези хибридни състояния предхожда придвижването на иРНК през малката субединица. По време на транслокацията контактите между кодоните на иРНК и антикодоните на тРНК се запазват, което гарантира съхраняване на рамката на четене. Комплексът иРНК–тРНК се измества с един кодон напред. Транслокацията се катализира от фактори на удължаване и изисква енергия от хидролиза на GTP. При прокариоти този процес се осъществява от EF-G(GTP), а при еукариоти – от неговия функционален хомолог eEF-2(GTP). След придвижването хибридните състояния се превръщат в класическите Е/Е и Р/Р състояния: деацилираната тРНК се намира в Е-мястото и напуска рибозомата, пептидил-тРНК заема Р-мястото, а А-мястото остава свободно за навлизане на следващата аминоксил-тРНК.

Прекратяване (терминиране) на транслацията

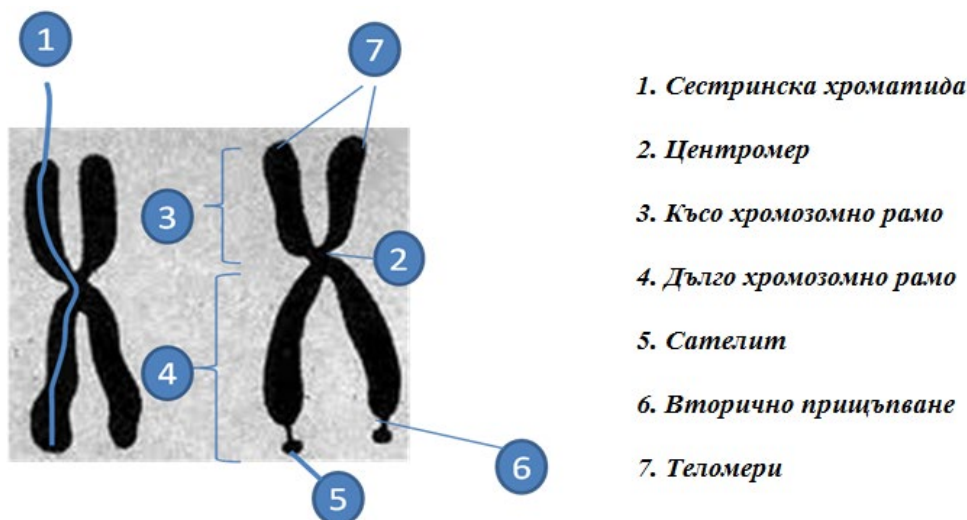
Прекратяването на протеиновия синтез както в прокариотните, така и в еукариотните клетки настъпва, когато в А-мястото на рибозомата попадне един от трите стоп кодона на иРНК – UAA, UAG или UGA. За разлика от смислените кодони, стоп кодоните не се разпознават от тРНК, а от специализирани белтъци, наречени освобождаващи фактори (release factors, RF). Освобождаващите фактори се свързват с А-мястото на рибозомата и разпознават стоп кодона чрез структурна мимикрия на тРНК. Това взаимодействие активира пептидил-трансферазния център на рибозомата, който катализира хидролизата на естерната връзка между полипептидната верига и тРНК, разположена в Р-мястото. В резултат новосинтезираният полипептид се освобождава от рибозомата. Процесът на терминиране е енергийно зависим и включва хидролиза на GTP, която не е необходима за самото разкъсване на пептидил-тРНК връзката, а за ефективното действие и освобождаване на освобождаващите фактори, както и за последващата дисоциация на рибозомния комплекс. При прокариотите са идентифицирани три освобождаващи фактора. RF1 разпознава стоп кодоните UAA и UAG, RF2 разпознава стоп кодоните UAA и UGA, а RF3 е GTP-свързващ фактор, който не разпознава директно стоп кодони, а ускорява освобождаването на RF1 или RF2 от рибозомата след терминирането. RF1 и RF2 осъществяват директното разпознаване на стоп кодоните и катализират освобождаването на полипептида, докато RF3 повишава ефективността и скоростта на процеса чрез GTP-зависим механизъм. При еукариотите терминирането на транслацията се осъществява от два освобождаващи фактора. eRF1 разпознава и трите стоп кодона (UAA, UAG и UGA), а eRF3 е GTP-свързващ белтък, който действа кооперативно с eRF1. eRF1 осъществява разпознаването на стоп кодона и активира хидролизата на пептидил-тРНК връзката, докато eRF3, чрез хидролиза на GTP, стабилизира комплекса и осигурява бързо и ефективно освобождаване на полипептидната верига. След освобождаването на полипептида следва разглобяване на транслационния комплекс- рибозомните субединици се дисоциират, а иРНК и тРНК се освобождават и могат да бъдат използвани повторно в следващи цикли на транслация.

Хромозомите представляват основните клетъчни структури, които съхраняват и предават генетичната информация. Като носители на наследствеността, те притежават свойства, които обуславят тази им роля – участват в ключови метаболитни процеси, имат способност за точно самовъзпроизвеждане и осигуряват прецизно и равномерно разпределение между двете дъщерни клетки по време на митоза и мейоза. Тези фундаментални характеристики определят значението им за предаването на наследствената информация както между клетките в организма, така и между поколенията. В хромозомите са локализирани гените като функционални единици на наследствеността. Те заемат специфични места в хромозомите, наречени локуси, които са разположени в линейен ред. В структурно отношение всяка еукариотна хромозома е изградена от една линейна молекула ДНК, асоциирана с хистонови и нехистонови белтъци, формиращи нуклеопротеинов комплекс, наречен хроматин. При многоклетъчните полово размножаващи се организми соматичните клетки притежават в ядрата си по две копия от всяка хромозома. Хромозомният набор на такива клетки се означава като диплоиден. Не всички еукариотни клетки са диплоидни. Половите клетки (гамети) и спорите са хаплоидни. В тях всяка хромозома е представена само от едно копие, така че тези клетки притежават само един набор хромозоми – хаплоиден хромозомен набор. Броят на хромозомите в диплоидния набор може да варира силно при различните организми, но не може да бъде по-малък от две, както е той при конската глиста (*Parascaris equorum*) и мравката „булдог“ (*Myrmecia croslandi*). Важно е да се отбележи, че няма връзка между броя на хромозомите и сложността на организма. Така например човек има 46 хромозоми, а златната рибка (*Carassius auratus*) – 104. В индийската папрат *Ophioglossum reticulatum* е отчетен най-голям брой хромозоми – 1260. Рекордьор по брой хромозоми при животните е пеперудата *Polyommatus atlas*, в клетките на която има 450 хромозоми. Броят на хромозомите в диплоидния набор е специфичен и характерен за всеки еукариотен вид. Формата и размерите на всяка една хромозома в клетките на индивидите от даден вид са еднакви. При зрееенето на гаметите се извършва редукционно делене, в резултат на което хромозомите в зрелите гамети намаляват наполовина. При сливането на две хаплоидни гамети – женска и мъжка, всяка от които носи само един хромозомен набор, се образува диплоидна зигота, в която се събират два хромозомни набора – един майчин и един бащин. Всяка хромозома от единия набор има съответстваща хромозома от другия набор. Двете заедно образуват двойка хомоложни хромозоми. Например човешките соматични клетки имат 46 хромозоми, които съставят 23 хомоложни хромозомни двойки. По една хромозома от всяка двойка се унаследява от майката и по една от бащата. Така че, ако един ген заема определен локус в дадена хромозома, то и в хомоложната хромозома този ген присъства в същия локус, макар че може да бъде представен от различен алел. Хаплоидните клетки притежават само по едно копие от всеки ген. Хромозомите от различни хромозомни двойки имат различна форма и размери, носят различни гени и се наричат нехомоложни хромозоми. Соматичните клетки на женските и мъжките индивиди се различават по една двойка хромозоми, наречени полови. Хромозомите, които са еднакви за двата пола, се наричат автозоми. През по-голяма част от жизнения цикъл на клетките хромозомите са много трудни за наблюдение, защото са в деспирализирано състояние. През митоза и мейоза те стават компактни и достъпни за изучаване със светлинен микроскоп. Най-силно спирализираны са хромозомите през метафаза.

Морфологични особености на метафазната хромозома

Всяка метафазна хромозома се състои от две надлъжни субединици, наречени **сестрински хроматиди**. Те са напълно идентични помежду си и са резултат от удвояването на ДНК чрез процеса репликация. Всяка хроматида съдържа една отделна молекула ДНК. Мястото на свързване между двете сестрински хроматиди се нарича **центромер**. При наблюдение със светлинен микроскоп центромерът се визуализира като стеснен участък по дължината на хромозомата, известен като първично прищъпване. Всяка еукариотна хромозома притежава един центромер, чиято позиция е специфична и характерна за съответната хромозома. Той разделя хромозомата на **хромозомни рамена**, които се различават по дължина и морфологични особености. Центроме-

рът играе важна роля за правилното разделяне на сестринските хроматиди в дъщерните клетки през митоза и мейоза. Той има по-различна хроматинова структура и много високо ниво на компактизация в сравнение с останалите райони на хромозомата. Центромерът е мястото, където се оформят кинетохорите, които са изградени от белтъци, осигуряващи свързването на хромозомите с делителното вретено и точното им разделяне към неговите полюси. Центромерите са изградени основно от хетерохроматин, съдържащ тандемно повтарящи се сателитни ДНК последователности, чийто състав и организация варират между различните еукариотни организми. При човек основната повтаряща се единица е съставена от 171 нуклеотидни двойки, която формира обширен район от α -сателитна центромерна ДНК. Съвременните данни показват, че центромерната функция се определя не от конкретните последователности на нейната ДНК, а от специфичната хроматинова организация. Нуклеозомите на центромерите имат модифицирани H3 хистони, които играят ключова роля за привличането и събирането на кинетохорните белтъци и за прикрепването на нишките на делителното вретено към хромозомите. Освен центромер всяка еукариотна хромозома притежава в краищата си високо специализирани участъци – **теломери**, чието основно предназначение е да запазват индивидуалността и цялостта на хромозомата. Теломерът представлява комплекс от специфични ДНК последователности, асоциирани с множество белтъци, които осигуряват структурната стабилност и завършеност на еукариотната хромозома. Теломерната ДНК е съставена от къси, тандемно повторени последователности, които са консервативни в рамките на вида, но се различават между отделните видове. При човека теломерната последователност е TTAGGG, повторена от 250 до 1500 пъти. В областта на теломерите няма белтък-кодиращи гени. Двете ДНК вериги в краищата на теломерите не са подравнени, като 3' краят е по-дълъг от 5' края. Теломерът се извива назад формирайки бримка, а едноверижната „висулка“ се вмъква в двойната спирала, вдвоявайки се с комплементарен вътрешен участък. Това не представлява проблем, тъй като теломерната ДНК се състои от тандемни повторения на една и съща последователност. По този начин краят на ДНК молекулата се защитава от разграждане и нежелани химически взаимодействия. Освен това специфичен белтъчен комплекс се свързва с теломерната ДНК от бримката, образувайки „шапка“ в края на хромозомата, която предпазва теломерите от нуклеарно разграждане и пречатства слепването на хромозомните краища един с друг. Следва да се отбележи, че повторите на центромера са различни от повторите на теломерите, поради което центромерът никога не се разполага в самия край на хромозомата. Един и същ участък от ДНК не може да изпълнява едновременно функции на центромер и теломер – двете функции изискват различна първична структура. По дължината на някои хромозоми се наблюдава допълнително прищъпване, наречено **вторично прищъпване**. В този участък са локализирани гените за рибозомна РНК. Поради това вторичното прищъпване се означава като **ядърцев организатор**, тъй като именно в тези области по време на интерфазата се формират ядръцата. Вторичното прищъпване не е задължителен елемент от структурата и морфологията на всяка хромозома в хромозомния набор. В клетките на различните видове от една до няколко двойки хромозоми могат да притежават ядърцев организатор. Техния брой е специфичен за всеки вид. Например при човека има пет двойки хромозоми с вторично прищъпване тип ядърцев организатор, което означава, че максималният брой ядръца в една човешка клетка е десет. В рамките на една хромозома вторичните прищъпвания могат да бъдат повече от едно, да се различават по дължина и да имат различна локализация – по-близо до центромера или до теломера. Не всички вторични прищъпвания обаче представляват ядърцеви организатори. Когато вторичното прищъпване е разположено близо до теломера, то формира тясна зона в края на хромозомното рамо, като крайната част изглежда прикрепена към основната част на хромозомата под формата на „сателит“. Такива хромозоми се наричат сателитни, сателитоносители или SAT-хромозоми. Центромерът разделя напречно всяка хромозома (съответно всяка хроматида) на две части, наречени рамена. По-късото рамо се означава с буквите *s* или *p*, а по-дългото с *l* или *q*. Размерът на рамената, броят и местоположението на вторичните прищъпвания, както и формата и големината на сателита представляват специфични морфологични характеристики на всяка хромозома. На Фигура 1 са илюстрирани основните елементи от морфологията на метафазната хромозома.



Фигура 1. Морфологични елементи на метафазната хромозома
(адаптирано изображение от: <https://invitrobg.com/sindrom-na-chuplivata-h-hromozoma/>)

За изучаване на хромозомите се използват различни количествени параметри. Основните морфометрични показатели, прилагани за определянето на хромозомната морфология, са абсолютната (L_a) и относителната (L_r) дължина на хромозомата, раменната разлика (d), раменното отношение (r) и центромерният индекс (i). Абсолютната дължина на хромозомата (L_a) представлява сумата от дължините на двете ѝ рамена ($l+s$), изразена в микрометри (μm). Раменната разлика, раменното отношение и центромерният индекс се изчисляват по следните формули:

- $d = l - s$ – раменна разлика
- $r = l / s$ – раменно отношение
- $i = \frac{s}{(l + s)} * 100\%$ – центромерен индекс, където:
 l – дължина на дългото хромозомно рамо,
 s – дължина на късото хромозомно рамо.

Относителната дължина на хромозомата (L_r) се изчислява по формулата:

$$L_r = \frac{(l + s) \cdot 1000}{\text{дължина на хаплоидния хромозомен набор} + X \text{ хромозомата}} \text{ в промили}$$

Всяка хромозома от хаплоидния набор на даден вид притежава ясно изразена индивидуалност, определена от нейния размер и морфологични особености. Хромозомната морфология зависи основно от характеристиките на центромера и неговата позиция спрямо теломерите, както и от наличието или отсъствието на вторично прищъпване.

В зависимост от броя на центромерите хромозомите се класифицират като:

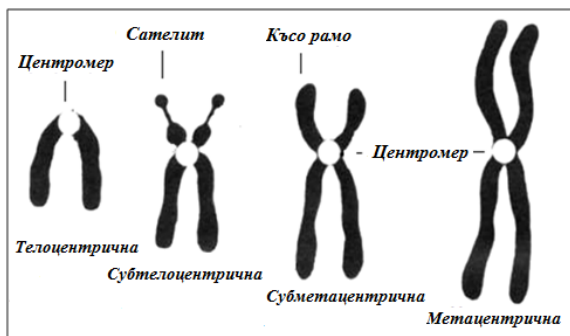
- моноцентрични – с един центромер;
- дицентрични – с два центромера;
- полицентрични – с повече от два центромера.

Според особеностите на центромера хромозомите могат да бъдат:

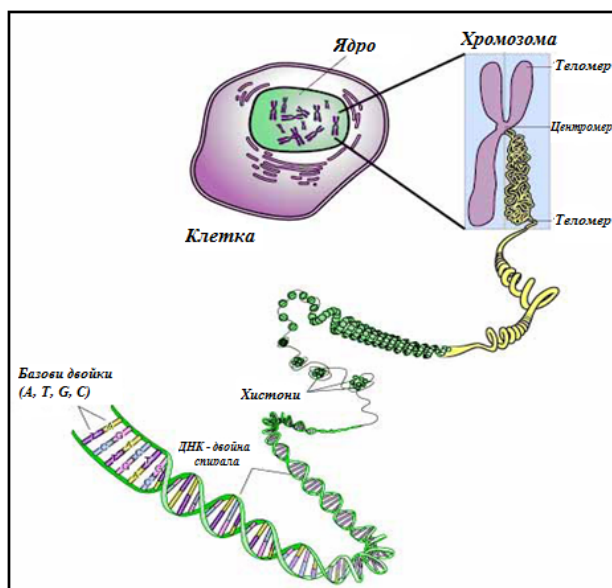
- с локализиран центромер;
- с дифузно разположен центромер (холоцентрични или холокинетични);
- с центромер с променлива позиция (неоцентрични).

В зависимост от позицията на центромера спрямо теломерите се разграничават четири основни морфологични типа хромозоми (Фиг. 2):

- метацентрични – равнораменни (m);
- субметацентрични – разнораменни (sm);
- субтелоцентрични – силно разнораменни (st);
- телоцентрични – еднораменни (t).



Фигура 2. Типове хромозоми според центромерната позиция (адаптирано от Bhattacharjee, 2023).



Фигура 3. Молекулна структура на хромозома (адаптирано от *Biology Exams 4 U*, 2013).

Молекулен строеж и организация на еукариотната хромозома

Еукариотната хромозома представлява сложна нуклеопротеинова структура, в която генетичният материал е организиран по начин, съчетаващ висока степен на компактизация с прецизна регулация на генната активност. Основните ѝ компоненти са линейна двуверижна ДНК и белтъци – хистонов и нехистонов, които заедно формират хроматина – структурната и функционална основа на хромозомата.

ДНК – молекулна основа. ДНК е двуверижна полинуклеотидна макромолекула, носеща генетична информация, кодирана в последователността на нуклеотидите. Двете вериги са свързани помежду си чрез водородни връзки между комплементарни азотни бази, а вътреверижната стабилност се осигурява от 3',5'- фосфодиестерни връзки. Дължината на ДНК в една хромозома може да достигне няколко сантиметра, което налага нейното ефективно опаковане в ограниченото пространство на клетъчното ядро.

Нуклеозома – базово ниво на организация. Първото и фундаментално ниво на организация на хроматина е нуклеозомата. ДНК се навива около хистонен октамер, съставен от по две молекули на хистоните H2A, H2B, H3 и H4, като образува структура, включваща приблизително 146 базови двойки ДНК. Отделните нуклеозоми са свързани чрез линкерна ДНК, с която асоциира хистонът H1, стабилизиращ по-високите нива на компактизация. Нуклеозомите формират 10 nm фибрила, известна като структура тип „мъниста на конец“, която представлява динамична платформа за взаимодействие с регулаторни белтъци.

Хроматинова фибрила и висши нива на компактизация. 10 nm фибрилата се подлага на допълнителна компактизация, формирайки 30 nm хроматинова фибрила, стабилизирана чрез електростатични взаимодействия между хистоните и участието на хистон H1. На следващо ниво хроматинът се организира в бримкови домени с диаметър около 300 nm, които са прикрепени към ядрения матрикс. Последващото нагъване и кондензация водят до образуване на метафазна хромозома с диаметър между 700 nm и 1.4 μ m, осигуряваща правилната сегрегация на сестринските хроматиди по време на клетъчното делене (Фиг. 3).

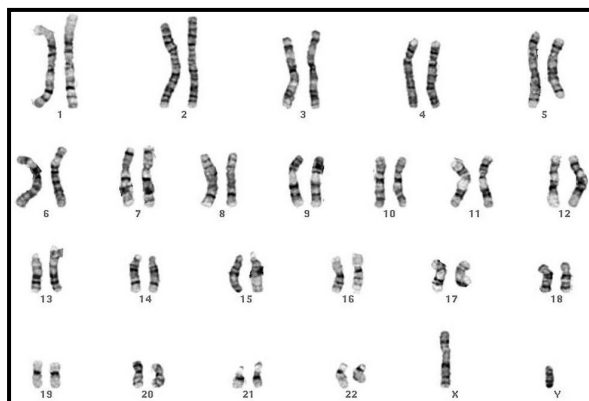
Белтъчни компоненти на хромозомата. Белтъчният състав на хромозомата включва няколко основни функционални групи. Първата група са **хистоните**, които осигуряват структурно опаковане и компактиране на ДНК. Втората група обхваща **нехистоновите структурни и регулаторни белтъци**, изпълняващи разнообразни и ключови функции в организацията и динамиката на хромозомите. Кохезините поддържат кохезията между сестринските хроматиди до момента на тяхното разделяне; кондезините участват в митотичното компактиране и оформянето на хромозомната архитектура; топоизомеразата II контролира топологичното състояние на ДНК, предотвратява прекомерното усукване и подпомага разделянето на хроматидите; АТФ-зависи-

мите хроматин-ремоделиращи комплекси регулират достъпа до ДНК и осигуряват динамичните структурни промени в хроматина.

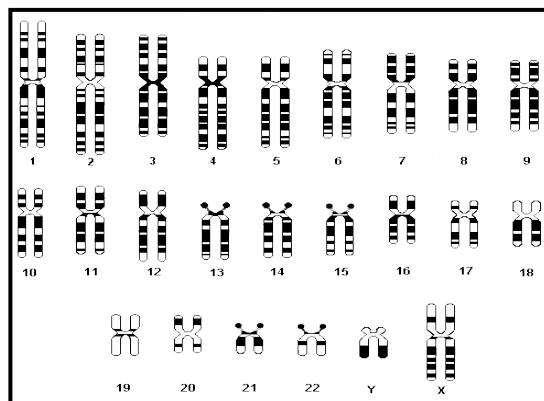
При цитогенетичните изследвания на хромозомите се наблюдават ясно диференцирани участъци от два основни типа – **хетерохроматинови** и **еухроматинови**. Те се различават по интензивността на оцветяване, която отразява степента на компактизация на наследствения материал. Хетерохроматинът се подразделя на два основни типа: **конститутивен** и **факултативен**. Конститутивният хетерохроматин присъства постоянно в определени участъци по дължината на хромозомите, като прицентромерни и теломерни региони, както и в други стабилни области, и не съдържа функционално активни гени. Факултативният хетерохроматин се формира и се наблюдава само в определени етапи от жизнения цикъл на клетката или в хромозомите на специфични тъкани. Той е информативен, тъй като съдържа гени, които в хетерохроматиново състояние са транскрипционно неактивни, но могат да бъдат активирани при преминаване към еухроматиново състояние.

Кариотип

Кариотипът представлява пълния хромозомен набор на даден организъм, характеризиращ се с определен брой, размер, форма и структура на хромозомите. За неговото изучаване се използват кариограми и идиограми. **Кариограмата** е визуално подредено изображение на метафазни хромозоми, организирани в хомоложни двойки и подредени по низходящ размер. Тя се получава чрез микроскопско заснемане на хромозомите в метафаза, последвано от дигитална обработка и систематично подреждане (Фиг. 4). Кариограмата позволява откриване на числени и структурни хромозомни аномалии, включително тризомии, монозомии, делеции, дупликации, инверсии и транслокации. **Идиограмата** представлява схематичен, стандартизиран графичен модел на хромозомите в кариотипа, който отразява техните морфологични особености, включително позицията на центромера, дължината на рамената и характерния бандинг модел (Фиг. 5). Тя е идеализирано и мащабирано представяне на кариотипа, изградено въз основа на статистически усреднени измервания. Идиограмата служи като референтна карта за цитогенетичен анализ, сравнение между различни кариотипи и картографиране на генни локуси.



Фигура 4. Кариограма на човешките хромозоми (Wikipedia, n.d.)



Фигура 5. Човешка идиограма (Kassem et al., 2012)

Изменчивостта на живите организми създава огромното многообразие в природата. Причините за нея са различни. Когато се променят фенотипни белези без да е променен генотипа, тези изменения не се предават в потомството и съществуват само през живота на организма, в който са възникнали или докато са валидни условията, които са ги предизвикали (**фенотипна, модификационна изменчивост**). Когато измененията се дължат на промяна в генетичния апарат на клетката (гени, хромозоми), те се предават по наследство (**генотипна изменчивост**). Те могат да са в резултат от: независимо и случайно прекомбиниране на гени според законите на Мендел и кросинговърови рекомбинации, не се появяват нови алелни състояния на гените, а се прекомбинират съществуващите алели (**рекомбинативна изменчивост**); или поява на нови алелни състояния на даден ген или други промени в генотипа (**мутационна изменчивост**).

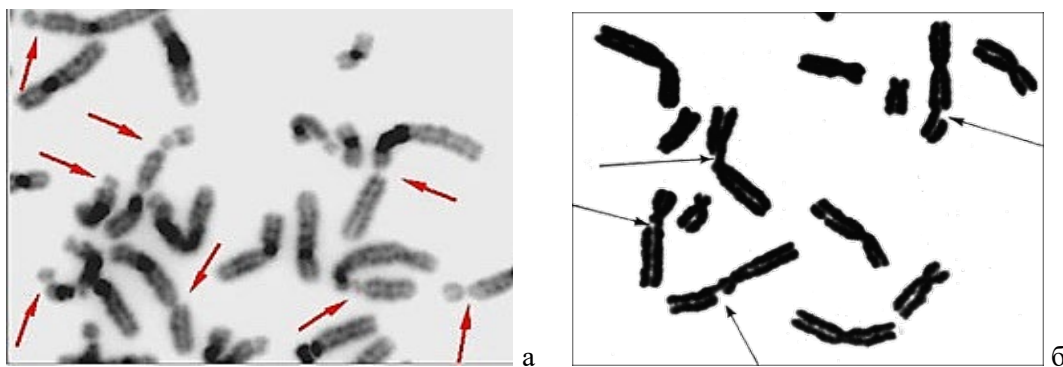
Терминът **мутация** е въведен през 1903 г. от Хуго де Фриз за обозначаване на скокообразно изменение на даден признак („Мутационна теория за еволюцията на организмите“). Мутациите могат да засягат наследствения материал в ядрото на клетката (**кариогенни мутации**) или в цитоплазмени органели (**плазмогенни мутации** – **пластидни** или **митохондриални**, унаследяват се по майчина линия с цитоплазмата на яйцеклетката). Според засегнатия генетичен материал мутациите биват: **генни** (промяна в химичната структура на ДНК в рамките на ген), **хромозомни** (промяна в нормалната структура или брой на хромозомите) или **геномни** (промяна в генома като цяло).

Факторите, които провокират мутационни изменения (**мутагенни фактори**), според своята природа може да бъдат **химични** (иприт, формалдехид, етилметансулфонат, нитрозамини, ароматни въглеводородни съединения, пестициди, флавоноиди, фурани и др.), **физични** (йонизираща радиация, ултравиолетови лъчи, електромагнитно поле и др.) или **биологични мутагени** (вируси, бактериални токсини, стероидни хормони, автоимунни процеси и др.).

Хромозомните мутации са промени в броя (геномни мутации) или структурата на хромозомите в кариотипа. Те може да бъдат констатирани при наблюдение със светлинен микроскоп.

Структурните хромозомни мутации (**хромозомни аберации, хромозомни преустройства**) са резултат от разкъсвания (разриви) в хромозомата. Откъснатите **фрагменти** могат да бъдат **центрични** (ако имат центромер) или **ацентрични** (без центромер).

Ако разрывът настъпи по време на интерфаза преди авторепликацията на ДНК, разкъсването ще засегне и двете хроматиди на хромозомата (**хромозомен тип разрыв**, Фиг.1а), а ако е в по-късен етап, той ще е само в едната хроматида, а другата хроматида на същата хромозома ще е цяла (**хроматиден тип разрыв**, Фиг.1б).



Фигура 1. Хромозомни (а) и хроматидни (б) разриви.

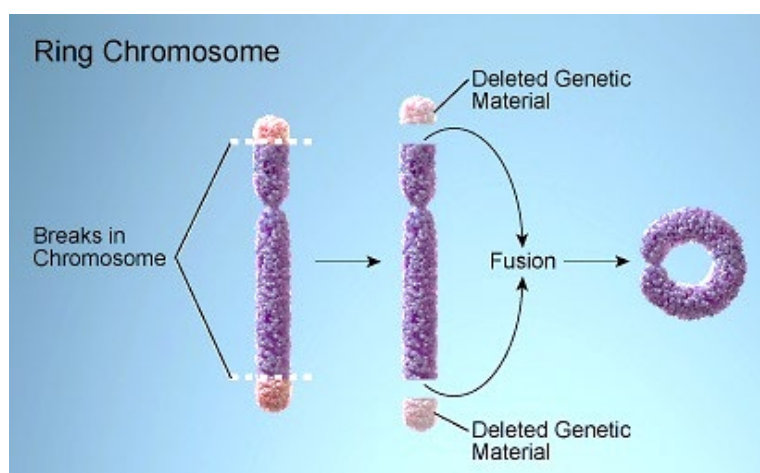
След разкъсване на хромозомата следва процес на възстановяване на увредения участък (**репарация**). Мутации възникват при неправилно присъединяване на фрагмент към хромозомата, от която е произлязъл или към друга хромозома, или в резултат от отпадането му.

Поради факта, че всяка хромозома е еволюирала като балансирана система с определен състав, локация и ред на гените в нея, всяка промяна на структурата ѝ ще се отрази на свойствата

на клетките и на организма. Обикновено хромозомните аберации са свързани с проява на наследствен фенотипен ефект.

Хромозомните аберации, засягащи структурата на една хромозома (**вътрехромозомни аберации**) могат да бъдат: отпадане на част от хромозомата (**дефишънс** или **делеция**), удвояване на участък от хромозомата (**дупликация**), завъртане на част от хромозомата (**инверсия**) или вмъкване на фрагмент в хромозома (**инсерция**).

Дефишънс и делеция. Отпадането на крайни (терминални) фрагменти от хромозомата (**дефишънс**) може да засегне едното хромозомно рамо (**единичен дефишънс**) или и двете рамене (**двоен дефишънс**). Поради отпадане на теломерите в абериалното хромозомно рамо може да се слепят хроматидите и да се формира хромозома с бримка (при единичен дефишънс), хромозома тип осморка или пръстеновидна хромозома (при двоен дефишънс, Фиг.2). Откъснатите крайни фрагменти (и съответно гените в тях), отпадат през следващото клетъчно делене, защото нямат центромер и не може да се свържат за нишките на делителното вретено (първична загуба на гени), а слепените хроматиди на хромозомата формират анафазен/телофазен мост (Фиг.3а,б). При неговото скъсване може да се откъснат допълнителни фрагменти (вторична загуба на гени).



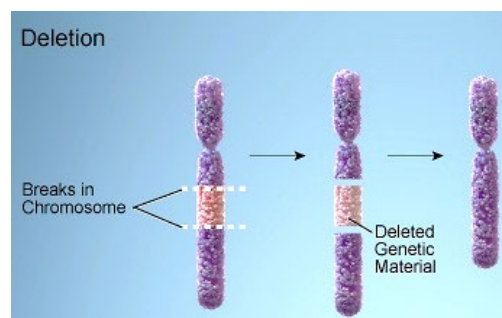
Фигура 2. Пръстеновидна хромозома след двоен дефишънс.



Фигура 3. Анафазен (а) и телофазен мост (б), ацентрични фрагменти (в).

При отпадане на вътрешен фрагмент (**делеция**, Фиг.4) се променя морфологичния тип на хромозомата. Например, ако делеция настъпи в равнораменна (метацентрична) хромозома, тя ще се превърне в разнораменна субметацентрична или субтелоцентрична в зависимост от дължината на отпадналия фрагмент. Ако фрагментът е ацентричен, това ще доведе до загуба на гени (Фиг. 3в).

Когато отпаднат малки по размери фрагменти (отделни хромомери или части от хромомери) този тип аберации се означават като **микродефишънси** или **микроделеции**. Обикновено те се запазват в хо-



Фигура 4. Делеция.

мозиготно състояние (когато аберацията е засегнала и двете хромозоми от хомоложната хромозомна двойка). Понякога се проявяват фенотипно, имитирайки генни мутации, но се отличават от тях по липсата на обратно мутиране (липсва реверсия към изходното състояние на гена). Обикновено мащабните дефишънси и делеции имат летален ефект в хомозиготно състояние и са жизнеспособни само в хетерозиготно състояние (когато едната хромозома от хомоложната хромозомна двойка е претърпяла аберацията, а другата е нормална). Определяните от тях мутации се проявяват като доминантни. Понякога в резултат от дефишънс или делеция отпада доминантен алел на ген и тогава при хетерозиготни индивиди фенотипно се проявява рецесивния алел на гена. Това явление се нарича **псевдодоминиране**.

При човека делеция в късото рамо на 4-хромозома е причина за Синдром на Волф-Хиршхорн. Около 1/3 от случаите не преживяват периода на новороденото. Характерни са аномалии в развитието на редица органи и тежко умствено изоставане.

Синдромът на котешкото мяукане (дефишънс в късото рамо на 5-хромозома) най-често засяга женския пол. Поради недоразвитие на ларинкса и неговата мускулатура плачът на новороденото напомня котешко мяукане, което в по-късна възраст изчезва. Наблюдават се тежко умствено изоставане и физическо недоразвитие.

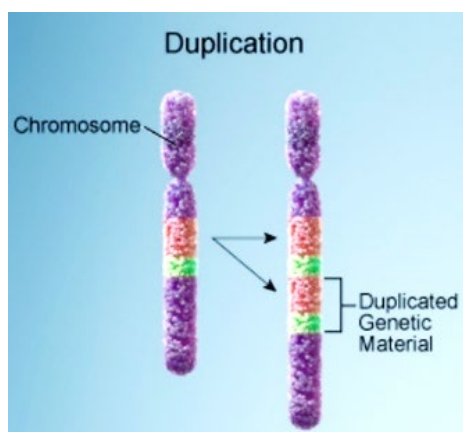
Делеция в дългото рамо на 18-хромозома води до микроцефалия, характерна форма на устата („уста на шаран“), деформация на очите, умствена изостаналост, затруднения в говора и др.

Пръстеновидна хромозома 20 се характеризира с късно започващи и прогресиращи неврологични нарушения. До 10 – 11-годишна възраст децата се развиват нормално или леко забавено. Първи симптоми са епилептични припадъци към 5 – 6-та година. Обикновено се проявява деградация на интелекта и характера на индивида.

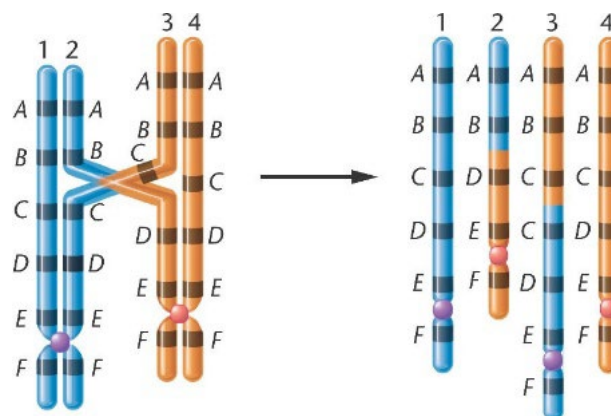
Пръстеновидна хромозома 21 се характеризира с изоставане в ръста и умственото развитие, големи ушни миди, малка уста, полови аномалии.

Децата с пръстеновидна хромозома 22 имат нормално физическо развитие, но тежко умствено изоставане, прогресиращо с възрастта. Характерни белези са големи бадемовидни очи, сключени вежди и топчест нос при малките деца.

Дупликация. Това са повтаряния (умножавания) на участъци от хромозомите и респективно на гените в тях. Дуплицираният регион може да обхваща един ген или да е по-машабен и да включва няколко гена. Повторените участъци може да са разположени непосредствено до оригиналния регион в хромозомата (**последователни дупликации**, Фиг.5) или да се намират в отдалечена позиция от него (**преместени дупликации**). Един от механизмите, които водят до възникване на дупликации е неравният кросингвър (Фиг.6).



Фигура 5. Последователни дупликации.



Фигура 6. Неравен кросингвър.

В резултат от дупликация се променя функционирането на повторените гени и на гените в съседство с тях. Стъртевант нарича това явление „ефект от генната среда“, според него действието на даден ген зависи от това кои са съседните му гени, т.е. от генната среда, в която се намира. Хромозомата е стриктно подредена и балансирана система от линейно разположени гени, в която всеки ген заема точно определено място (генен локус), и всяка промяна в структурата на хромозомата може да се отрази на функционирането на гените в нея.

Инверсия. Това е физическо завъртане на хромозомен участък на 180° , предшествано от двойна фрагментация по дължината на хромозомата. В резултат се обръща редът на гените в този регион и се променя генната среда, което се отразява върху експресията на гените в зоната на инверсия и на тези в съседство. Центромерът на хромозомата може да е извън инверсията (**парацентрична инверсия**) или да е в абериралия регион (**перицентрична инверсия**) (Фиг. 7). В резултат от перицентрична инверсия може да се промени морфологичния тип на хромозомата, когато разливите в двете рамена на хромозомата са на различно разстояние от центромера.

В хромозомата може да има един инвертирал сегмент (**проста инверсия**) или повече от един (**сложна инверсия**). При сложни инверсии засегнатите участъци може да са разположени един след друг (**последователни, тандемни инверсии**) или да се препокриват (**препокриващи се инверсии**, например един и същи сегмент от хромозомата да участва в две инверсии).

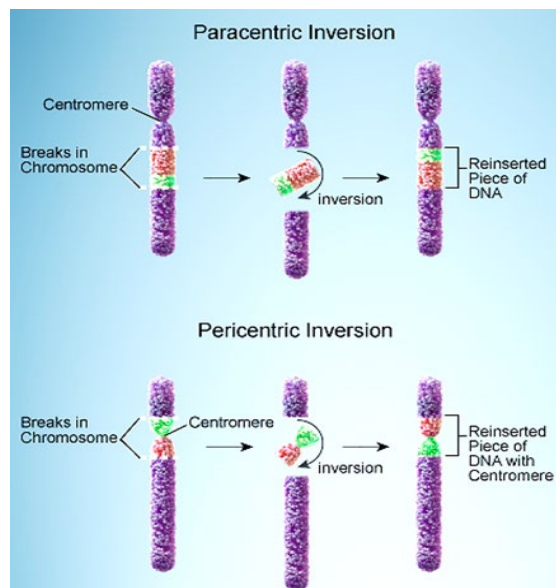
Обикновено инверсиите имат рецесивен летален ефект (хомозиготните по инверсии индивиди умират) и затова най-често се откриват в хетерозиготни индивиди.

При хетерозиготни по парацентрична инверсия индивиди, по време на мейозата, след протежъл кросинговъров обмен в зоната на инвертирания участък, се формират два аберантни типа хромозоми – ацентрична (без центромер) и дицентрична (с два центромера). През следващото клетъчно делене ацентричната хромозома не се свързва за нишките на делителното вретено и изостава в екваториалната зона на делящата се клетка през анафаза (първична загуба на генетичен материал). Дицентричната хромозома образува анафазен (телофазен) мост, който може да се скъса и да се откъснат допълнителни фрагменти (вторична загуба на гени). Формираните гамети най-често са нежизнеспособни.

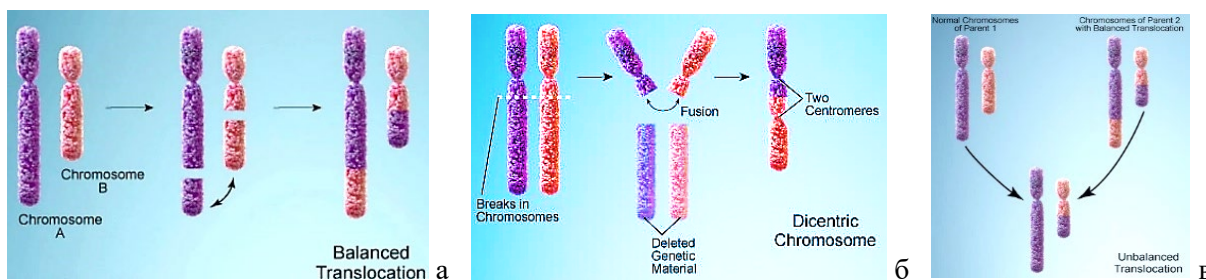
Инсерция. При този тип аберации става преместване на сегмент от едно място на друго място в хромозомата без да настъпва обръщане на 180° . Това води до ново съчетание на гените и може да промени първоначалните им свойства.

При **междухромозомните аберации** структурните промени засягат едновременно повече от една хромозоми. **Транслокация** е аберация с размяна на фрагменти между нехомоложни хромозоми, при което генетичният материал се преразпределя между тях, променят се генният състав и групите на скачване. Когато след размяната на участъци всяка хромозома има по един центромер, транслокацията е **симетрична (еуцентрична, Фиг. 8а)**, а когато възникват ацентрична и дицентрична хромозоми, транслокацията е **несиметрична (анеуцентрична, Фиг. 8б)**. Симетричните транслокации може да преминат през етапите на мейоза и митоза, и се предават в голям брой поколения, докато несиметричните транслокации имат летален изход.

Транслокацията е **реципрочна (балансирана, Фиг. 8а)**, когато при размяната всяка хромозома дава и приема участък или **небалансирана**, когато само едната хромозома има транслоциран фрагмент (Фиг. 8в). При **Робертсоновите транслокации** става сливане на хромозоми в центромерните региони (Фиг. 9). Обикновено този тип аберация засяга акроцентрични хромозоми.

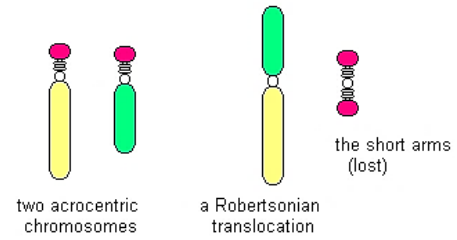


Фигура 7. Парацентрична и перицентрична инверсии.

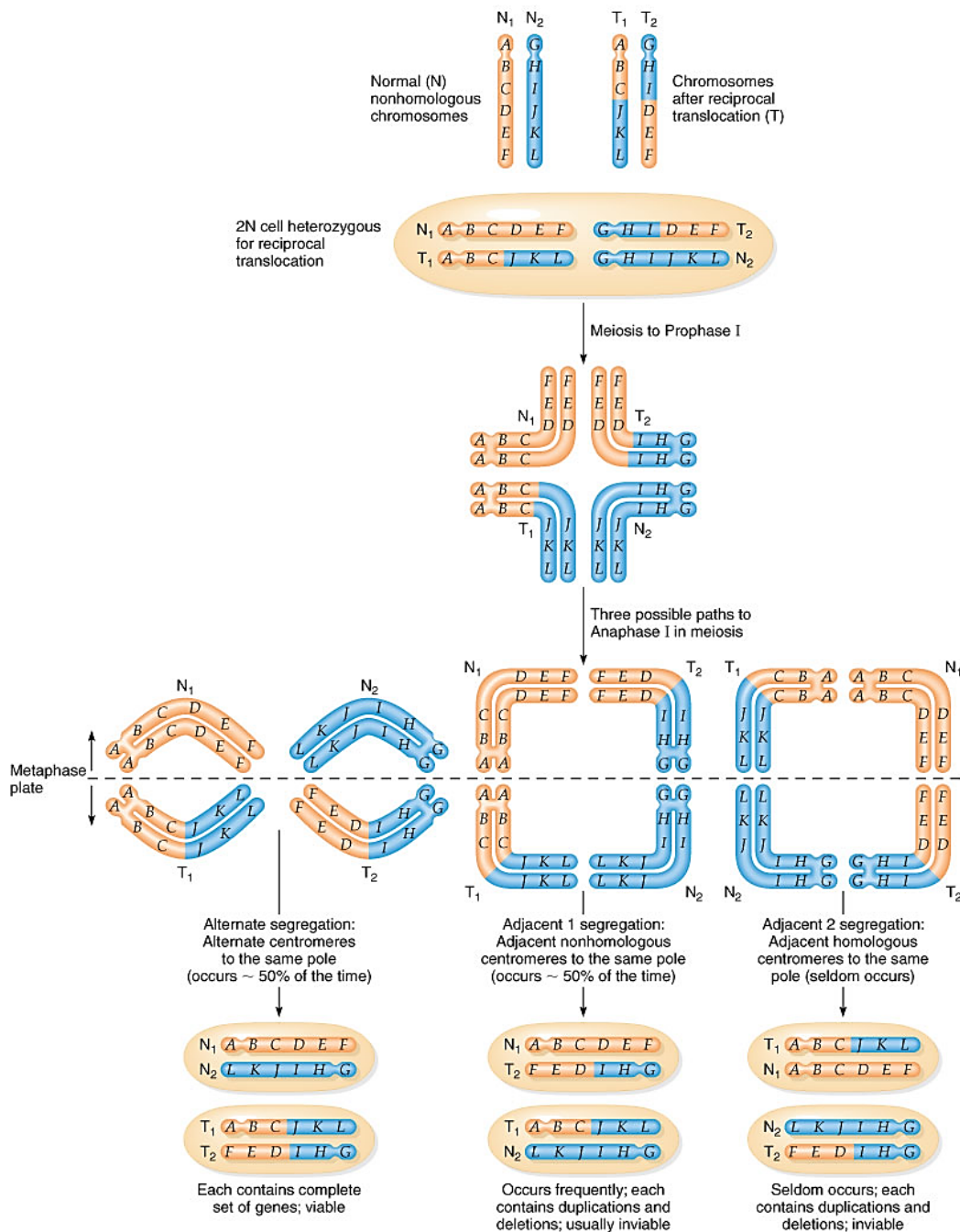


Фигура 8. Симетрична балансирана (а), несиметрична (б), небалансирана (в) транслокации.

При хетерозиготни по транслокация индивиди през мейоза (зиготен, профаз I) транслоцираните хромозоми конюгират по специфичен начин. В четирите хромозоми има хомоложни генни участъци, които конюгират помежду си и се формира кръстообразна структура (тетравалент, Фиг. 10). През диакинез, при терминализация на хиазмите, хромозомите от тетравалента с еднаква вероятност образуват структура, подобна на пръстен или структура, подобна на числото 8. При пръстеновидната конфигурация на хромозомите, през следващата анафаза към всеки от полюсите на делителното вретено се придвижат по една нормална и една транслоцирана хромозоми. В резултат се образуват гамети, в чиито ядра едни гени са дуплицирани, а други липсват. Такива гамети са нежизнеспособни или ако участват в оплождане не се формира жизнеспособна зигота (стерилни гамети).



Фигура 9. Робертсонова транслокация.



Фигура 10. Поведение на хромозомите през мейоза при хетерозиготна транслокация.

При осморковидна конфигурация на хромозомите, през анафаза двете нормални хромозоми се придвижат към единния полюс на делителното вретено, а двете транслоцирани хромозоми – към другия полюс. В резултат всяка гамета има пълния набор гени и при оплождане се формира жизнеспособна зигота (фертилни гамети). Това е причината при хетерозиготни по транслокация индивиди да се наблюдава полустерилност (или понижена фертилност).

Хромозомните мутации нарушават генния баланс, което води до възникването на хромозомни болести. Най-голямо медицинско значение имат делециите. Обикновено в хомозиготно състояние делециите имат летален ефект или са свързани с развитието на тежки физически и психически увреждания.

При човека мъжките и женски гамети започват развитието си в ранните етапи на зародишното развитие (ембриогенеза). Те са производни на първични полови клетки (зародишева клетъчна линия), наречени гоноцити – слабо диференцирани и диплоидни. Гоноцитите възникват в края на 3 гестационна седмица (г. с.), в стената на жълтъчната торбичка (ендобласта), в съседство с алантоиса. Мигрират към задната телесна стена на човешкия ембрион (дорзалния мезентериум), пролиферира и мигрират към мястото на бъдещите полови гребени. В края на 4 г. с. или в началото на 5 г. с. достигат областта на развиващите се гонади, където се заселват. Половата диференциация започва около 6 – 7 г. с. Външните полови белези стават ясно различими към 12 г. с. При ХУ ембриони се активизира SRУ гена на Y хромозомата, гонадите се развиват в тестиси, които отделят тестостерон, както и Антимюлеров хормон (АМХ). Формират се мъжките полови органи. При ХХ ембрион липсва SRУ, гонадите се развиват в яйчници, липсва на АМХ и се развиват женски полови органи. В гонадите гоноцитите се детерминират полово в първични мъжки или женски полови клетки съответно сперматогонии и овогонии ($2n$, $2c$). Процесът на образуване на половите клетки се нарича *гаметогенеза*. Гаметогенезата протича в една и съща последователност на събитията у мъжа и жената, но се различават значително по времетраене и структурни особености. Превръщането на сперматогониите в сперматозоиди се нарича *сперматогенеза*, а превръщането на овогонии в яйцеклетки – *овогенеза*.

Сперматогенеза. Премахва през три последователни стадия: размножаване (митоза); растеж и зреене (мейоза); цитодиференциране на сперматидите в зрели сперматозоиди. Първите два стадия се означават като сперматоцитогенеза, а третият – спермиогенеза. Сперматогенезата се извършва в извитите каналчета на семенника на полово зрелият индивид. Преди настъпване на пубертета в семенниците половите повлекла се преобразуват в семеобразуващи каналчета. Помощни клетки на сперматогенезата са Сертолиевите клетки и Лайдигови клетки. *Сертолиевите клетки* се намират в семенните каналчета като влизат в здрави комуникации с развиващите сперматогенни клетки. Функциите им са: опорна, поддържаща, трофична (изхранваща), кръвно-тестикларна бариера, предпазваща хаплоидните клетки от имунната система. Те секретират: андроген-свързващ протеин – за висока концентрация на тестостерон за сперматогенезата; инхибин В – регулира количеството на фоликулостимулиращия хормон (FSH), чрез отрицателна обратна връзка. Те фагоцитират излишната цитоплазма при структурирането на сперматозоидите. *Лайдигови клетки* се намират извън семенните каналчета, на групички, в интерстициума на семенниците. Основна функция – ендокринна, като синтезират и отделят тестостерон. Индиректно влияят на сперматогенезата – тестостеронът действа на Сертолиевите клетки. Отговорни са за развитието и поддържането на вторичните мъжки полови белези.

Етап на размножаване. Сперматогониите се разполагат върху базалната мембрана на семенните каналчета и са две клетъчни популации: тип А (тъмен тип Ad – митотично неактивни, служещи за резерв на стволови клетки; светъл тип Ap – митотично активни клетки, една част се превръщат се в тип В); тип В (най-малки клетки /6 – 8 μm /, прогениторни клетки, които претърпяват подготовка за делене. В ядрото се извършват репликация, транскрипция, а в цитоплазмата – синтез на активни цитоплазмени съединения и структурни ендогенни белтъци и АТФ. Сперматогониите от тип В се превръщат в сперматоцити от I ред ($2n$, $4c$).

Етап на растеж и зреене (мейоза) - Сперматоцитите I ред ($2n$, $4c$) влизат в мейоза I. *Етапът на растеж* обхваща профазата I – сложна и продължителна /22 дни/. Хроматинът в ядрото се спирализира и дехидратира, като промените са разделени на пет последователни фази: лептотен I, зиготен I, пахитен I, диплотен I и диакenez I. Оформят се хромозомните двойки – биваленти. През пахитен I всеки бивалент (хромозомна двойка) е представен от две хромозоми ($2n$), всяка с по две сестрински хроматиди (две мол. ДНК, $2c$) и се означава като „тетрада“. През пахитен I се извършва и crossing-over, свързан с размяна на генетичен материал между несестринските хроматиди в бивалентите. Получават се нови генетични рекомбинации. До края на профазата I хромозомите са окончателно оформени. Бивалентите се преместват към периферията на ядрото. Ядър-

цето и ядрената мембрана изчезват, изгражда се делителното вретено. Сперматоцитите от I ред нарастват 1-2 пъти спрямо размерите на сперматогониите.

Етап на зреене. Мейоза I продължава с метафаза I, анафаза I и телофаза I. В края на мейоза I от един сперматоцит от I ред се образуват два сперматоцита II ред ($n, 2c$). Зреенето продължава с мейоза II. През кратката ѝ интерфаза няма нови синтетични процеси. Следва профаза II, която е кратка и атипична, разделена на 5 фази: лептотен II, зиготен II, пахитен II, диплотен II и диакнез II, като през пахитен II се образуват „диади“ – всяка самостоятелна хромозома съдържа две хроматиди (2 мол. ДНК). Мейоза II завършва с образуването на два сперматиди (n, c) от всеки сперматоцит от II ред. Обобщено, в края на мейозата, от един сперматоцит от I ред се образуват четири равностойни сперматиди (съотношението е 1:4).

Спермиогенеза. Сперматидите претърпяват значителни преобразувания във формата и вътрешната си организация и се превръщат във високо специализирани и видово специфични хаплоидни клетки – сперматозоиди. Спермиогенезата се разделя на три последователни фази: *Голджи фаза, акрозомална фаза и фаза узряване*. Формират се отделните морфологични части на сперматозоида. Към края на етапа излишната цитоплазма се фагоцитира от Сертолиевите клетки, които се освобождават от сперматозоидите и те попадат в лумена на семенните каналчета (спермиация), а после в епидидимиса. Отделят се на порции, чрез еякулация, под формата на семенна течност, в която се прибавят и секретите на простата и семенните мехурчета.

Сперматозоидът при човека е *изграден от главичка, шийка и опашка (междинна, средна и крайна част)* и е с дължина от 50 – 60 μm . В *главичката* се намира ядрото, с хомогенен хроматин и основни белтъци (протамини) и акрозомата – на върха на главичката, с хидролитични ензими (хиапоронидаза, невраминидаза, кисела фосфатаза и протеаза с трипсиноподобна активност наречена акрозин). Ензимите са необходими за преодоляване на вторичните яйчни обвивки на яйцеклетката при оплождане (акрозомна реакция); *Шийката* на сперматозоида свързва главичката с междинната част на сперматозоида. В нея се разполагат проксимална центриола, която образува I-вото дел. вретено на зиготата и дистална центриола – видоизменена, като базално телце участва в структуриране на аксонемата. По дължината на *опашката* се намира осев комплекс (аксонема) – двигателен център на опашката, митохондрии – в междинната част около аксонемата, с енергийна функция. Сперматозоидът има много малко цитоплазма. Сперматозоидите се движат със скорост 1,5 – 3 mm/min. Броят им в един еякулат е около 300 млн., а в 1 ml от него броят варира от 20 – 30 до 120 млн. Оплодителната им способност до към 48 часа, а в репродуктивните органи на жената е по-дълга (72 часа) Сперматогенезата е чувствителен процес. Нормално се извършва при 25°C, а телесната температура е 36.6°C, поради това процесът е изнесен извън тялото в семенната торбичка – скротум. Рентгенови лъчи, недохранване, затлъстяване, алкохолизъм, някои лекарствени препарати, микроорганизми, тумори и др. влошават или напълно спират сперматогенезата. След 55 години сперматогенезата се запазва, но намалява оплодителната способност като се увеличава броят на абнормалните сперматозоиди в еякулата.

Овогенеза. Извършва се в яйчниците и включва следните последователни етапи: размножаване (митоза), растеж и зреене (мейоза). Освен образуване на жизнеспособни яйцеклетки от яйчниците се секретират и женски полови хормони – естрогени, прогестерон, гестагени, биологично активни вещества (простагландини и хистамин). При овогенезата мейоза I започва още в зародиша, докато мейоза II завършва най-рано, с началото на пубертета (9-14 години), а най-късно непосредствено преди настъпването на менопаузата, т. нар. климакс (45-50 години). Овогенезата при човека има пренатален и постнатален етап.

Пренатален етап. През 4 г. с. гоноцитите достигат до женските гонади, заселват си и се диференцират в първични женски полови клетки – овогонии ($2n, 2c$). Овогонииите се делят, пролиферират и до края на трети лунарен месец (л. м.) се групират на групички в периферията на яйчника, заобиколени от приплеснати епителни клетки. Това е т.нар. *интензивен период на размножаване*. През 5-ти л. м. овогонииите достигат около 7 млн. във всеки яйчник. Започва процес на клетъчна смърт – атрезия, като повечето от тях загиват. Броят им достига до 2 000 000 във всеки яйчник. След предварителна подготовка, много сходна с тази при сперматогенезата, овогонииите се диференцират в овоцити I ред ($2n, 4c$), като около всяка клетка се разполагат един ред плоски епителни клетки – *фоликулни клетки*. Образува се комплексна структура наречена *примордиален фоликул*. Овоцитите I ред започват мейоза I с профаза I, сходна с тази при сперматогенезата. Към 7 л. м. развитието им спира в етап на диплотен I. До раждането примордиалните фоликули продължават да загиват и остават от 700 000 до около 1.5 млн. в двата яйчника. По време на детството про-

дължават да намаляват и към началото на пубертета остават около 400 000 в двата яйчника. През репродуктивния период на жената (30 – 35 г.) се отделят общо около 400 яйцеклетки.

Постнатален етап. Премахва през периоди на растеж и зреене на овогенезата. Към момента на раждане всички овоцити I ред са инактивирани в диплотен I на профаза I. С настъпване на пубертета, при всеки овариален (яйчников) цикъл, започват да зреят от 5 до 15 – 20 първични овоцитите (примордиални фоликула). Обикновено само един достига до пълна зрялост. Овоцитите I ред преминават през метафаза I, анафаза I и телофаза I, а след това и през мейоза II. Процесите са много сходни с тези при сперматогенезата. Разликата е в резултата. В края на мейоза I от всеки овоцит I ред се образува един голям овоцит II ред (n, 2c) и едно малко полярно телце (n, 2c). В края на мейоза II от всеки овоцит II ред се образува една голяма яйцеклетка (n, c) и второ полярно телце. При овогенезата процесът в яйчниците спира по-рано, в етап метафаза II. Овоцитът II ред напуска яйчника. Настъпва овулация. Останалите етапи на овогенезата завършват само когато овоцит II ред е активиран от навлязъл сперматозоид при оплождането.

Яйчников цикъл са промените в яйчника, свързани с образуването на женските полови клетки (яйцеклетки). Включва три, неразривно свързани процеса, които се повтарят през 28 дни. Това са: овогенеза, стероидогенеза и фоликулогенеза. Овогенезата е процесът на образуване на яйцеклетки (представен вече в текста). Стероидогенезата е процес на синтезиране и отделяне на женските полови хормони – естрогени, гестагени и андрогени със стероидна природа. Фоликулогенезата е процес на образуване на специфично мехурче т. нар. зрял фоликул (Граафов фоликул), годен за овулация, в който се развива един овоцит II ред. Гонадотропин-освобождаващият хормон (GnRH), секретирани от хипоталамуса, стимулира аденохипофизата да отделя фоликулостимулиращ хормон (FSH) и лутеинизиращ хормон (LH). Под действието на FSH от 5 – 20 примордиални фоликула преминават през последователни етапи на растящи фоликули – ранен и късен първичен, вторичен, зреещ фоликул и зрял (Граафов) фоликул. Около овоцитите се образуват две вторични яйчни обвивки – *corona radiata* и *zona pellucida*. Първата е от няколко реда фоликулни кленки, слепени с хиалоронова киселина. Втората е безклетъчен, тънък гликопротеинов слой над плазмалемата (оолема) синтезиран от овоцитите и от фоликулните клетки. **Овулацията** е процес на пукане на зрелия Граафов фоликул и отделянето на овоцит II ред в метафаза II (заедно с вторичните яйчни обвивки) и фоликуларната течност от яйчника, който бързо навлиза в лумена на крайната и разширена част на маточната тръба, където се извършва оплождането. Прието е оволиралият овоцит II ред да се означава като яйцеклетка. В яйчника, след овулация, останалите клетки на Граафовият фоликул се видоизменят морфологично и функционално. Под действието на LH те пролиферират и образуват голяма структура наречена *жълто тяло*. Ендокринните ѝ клетки синтезират и отделят хормон наречен прогестерон, който подготвя ендометриума на матката за евентуално имплантиране на зародиш. Цикличните промени в ендометриума на матката се означават като **менструален цикъл**. От пубертета (11 до 13 години) до менопаузата (45 до 50 години) ендометриумът претърпява промени приблизително през 28 – 32 дни, които са под хормонален контрол. Ендометриумът на матката преминава през четири етапа: фоликуларна или пролиферативна фаза; секреторна фаза; пременструална фаза; менструална фаза. Размерите на яйцеклетката варират от 125 до 150 μm . Ядрото е заобиколено от лецитин като дребни лицитинови зърна. Под оолемата са разположени кортикални гранули (везикули), които участват в т. нар. „кортикална реакция“ при оплождането. Жизнеността на яйцеклетката е ограничена. Тя е годна за оплождане в продължение на 6-12 часа след овулация. След това, вече започналите процеси на дегенериране и стареене предизвикват разрушаване на яйцеклетката чрез автолиза и до към 24-ия час тя загива.

Оплождането при човека е вътрешно и включва осеменяване и оплождане. Осеменяването е изхвърлянето и депонирането на сперматозоиди в женския копулативен орган влагалище (vagina). Оплождането се осъществява в терминалния, разширен участък на маточната тръба, като участва само един сперматозоид (от 130 – 300 милиона в един еякулат) – моноспермия. Важни моменти в процеса са: капацитация на сперматозоидите (придобиват оплодителна способност); преодоляването на *zona pellucida*; формиране на допълнително уплътняване на оолемата срущу полиспермия; формиране на мъжки и женски хаплоидни пронуклеуси, които се сливат в диплоидна зигота.

Ембрионално развитие при човека от първа до осма седмица от оплождането. Ембрионалното развитие при човека продължава 280 дни. Най-общо се разделя се на два последователни периода: ембрионален период (от зигота до 56 ден от оплождането) и фетален период (от 57 ден до 280-ти ден или до раждането на фетуса). От своя страна ембрионалният период се раз-

деля на ранна ембриогенеза (до 16 ден – blastogenesis) и късна ембриогенеза (от 16 до 56 ден). През късната ембриогенеза започва структурирането на плацентата, както и процеси свързани с хистогенеза и органогенеза. Феталният период е характерен с диференциране на органи и системи готови за функциониране.

Ембрионално развитие през първа седмица от оплождането. Зиготата се дели чрез митоза. Започва дробене (бластулация, сегментация), което при човека е пълно, инеквално, асинхронно. През интерфазите няма растеж, зародишът не расте, клетките са бластомери. При първото асиметрично делене, към 30 ч. от оплождането, се получават два различни бластомера: по-малък (светъл) – микробластомер и по-голям (тъмен) – макробластомер. Микробластомерите се делят по-бързо, а макробластомерите – по-бавно. Към 48 ч. те са 4 броя, към 72 ч. – 8 бластомера, а към 96 ч. (4 ден) се формира структура от група бластомери наречена морула. Към 5 ден светлите микробластомери се разполагат периферно и образуват слой наречен *трофобласт*, а бластомерите – трофобласти. Те заграждат празнина (бластоцел) изпълнена с течност. Във вътрешността, тъмните макробластомери се групират и разполагат върху вътрешната повърхност на трофобласта. Формира се т. нар. *ембриобласт*, от който по-късно се развиват частите на зародиша. Образува се обща структура наподобяваща на мехурче – *бластоцист* (*blastocyst*). Към 6 ден от интензивната пролиферация на трофобластите се образуват два слоя: цитотрофобласт – вътрешен слой от клетки със запазена цитологична характеристика; синцитиотрофобласт – външен слой, клетките му са обединени от обща мембрана и цитоплазма, в която се намират ядрата им. Формира се синцитиум. Това съвпада с разрушаването на *zona pellucida* и падането на бластоциста свободно в кухината на матката (5, 6 ден). Бластоцистът влиза в пряк контакт с покривният епител на ендометриума от страната на ембриобласта. През 6 ден синцитиотрофобластът пролиферира, образува пръстеобразни повлечки, които отделят протеолитични ензими. Те разрушават покривния епител на ендометриума. С това се поставя начало на *имплантация* – потъването на бластоциста в ендометриума. Клетките на ембриобласта също пролиферират и образуват амниално мехурче (амнион) с два вида клетки: плоски (амниобласти) – контактуващи с цитотрофобласта и високи клетки (ектобластни клетки – ектобласт) – насочени към свободната повърхност на трофобласта. Непосредствено до ектобласта (7 ден) се формира клетъчна маса, която пролиферира и образува първичното жълтъчно мехурче. Клетките му, които контактуват с ектобласта се развиват във – ендобласт. Започва формирането на двуслоен диск от ектобласт и ендобласт.

Втора седмица от развитието (8 – 14 ден). Настъпват промени в ембриобласта, трофобласта и ендометриума. От ембриобласта се формира двуслоен зародишев диск (екто- и ендобласт). Появява се първична мезодерма (мезенхим – вретеновидни и звездовидни клетки с дълги израстъци), разположена в кухината на бластоциста. Чрез деламинация на клетките от първичната мезодерма и с последваща диференциация се формират екстра ембрионалните слоеве – соматоплеврален и спланхоплеврален мезобласт. С последваща диференциация се залага хориална кухина и хориална обвивка. Появяват се структури, които ще се развият в алантоис. С промените в трофобласта завършва имплантацията (11 – 12 ден). Синцитиотрофобластът пролиферира, образувайки израстъци, въси. Пенетрирайки в дълбочината на ендометриума, въсите проникват дълбоко навътре и стигат до кръвоносните съдове като ги разрушават. Образуват се кухини, означавани като синуси, изпълнени с майчина кръв. Слоевете на цитотрофобласта и екстраембрионален соматоплеврален мезобласт образуват зародишна обвивка – хорион. Постепенно се формират частите на хориона – ресничест и гладък. Налице е начална плацентация – начално утеро-плацентарно кръвообращение.

Трета седмица от развитието (15 – 22 ден). Извършва се гаструлация. В ембриобласта се структурира трислоен зародишев диск. Зародишът расте и придобива крушовидна форма с разширен (преден) главов край и стеснен (заден) опашен край. По повърхността на епибласта се появява първична клетъчна ивица – *linea primitiva* и първичен възел – Хенzenов възел. Клетки между ектобласта и ендобласта структурират трети зародишев слой – мезодерма. Появява се *гръбна струна* (*notochorda* или *chorda dorsalis*) (18 – 20 ден). По-късно структурните ѝ елементи се развиват в *nucleus pulposus*, участващ в изграждането на междупрешленовите дискове. От ендобласта се образува алантоис. От екстраембрионалния спланхоплеврален мезенхим се развива екстраембрионална хемопоеза (кръвообразуване) и ангиогенеза (развитие на кръвоносни съдове). Клетките на мезобласта се преструктурират в мезодермални торбички, разположени в страни от гръбната струна. Те се сегментират гръбно-коремно на три части: параксиален мезобласт (епимер); интермедиарен мезобласт (мезомер); латерален мезобласт (хипомер). От клетки

на ектобласта се затваря *нервната тръба* (tubus neuralis). Процесът е известен като неврулация за развитие на нервната система.

Четвърта седмица от развитието (до 28 ден). Процесите на хистогенеза и органогенеза се активизират и продължават до раждането. В началото на четвъртата седмица се формират окончателно осевите органи – *нервна тръба, нотохорда и първично черво* (развива се от ендобласта за развитие на храносмилателния канал). Появата им се основава на процесите на: ембрионална индукция; ембрионална детерминация; ембрионален растеж. В началото на периода епимерът се сегментира по дължината на гръбната част на зародиша, от двете му страни в т. нар. *сомити*. От своя страна епимерът се сегментира на дерматом, склеротом и миотом за развитие съответно на кожата, хрущална и костна тъкани в скелета и скелетни мускули. Мезомерът не се сегментира, а се развива в нефротомии за развитие на пикочополови органи. Хипомерът се разцепва се по дължина, като загражда интраембрионална кухина (целом) с външен и вътрешен слой. Структурират се съединителни и мускулни тъкани, зачатък на кръвоносни съдове, сърце и др.

Развитието 28 – 56 ден – Ембрионът расте активно и към края на етапа достига дължина 27 – 31 mm. Продължават промени свързани със структуриране частите на тялото и органите му. Достига се до окончателния брой на сомитите – 41 – 44 двойки (33 – 36 ден), развиват се горните и долни крайници, петопръстието, зачатък на лещата на очите и т. н., обонятелна плочка, гръбначен и главов мозък с отделните им части, сърцето се усложнява, развиват се кръвоносните съдове, сливане на симетрични лицеви участъци, развитие на външно ухо, мефанефротични образувания, поява на слезка, Волфов канал и т.н. През феталният период до раждането продължава диференциацията, разстежът и развитието на органите и системите, които се подготвят и започват да функционират.

Зародишни обвивки и плацентация. Това са амнион, хорион, алантоис, жълтъчна торбичка. *Жълтъчната торбичка* при човека е слабо развита, образува се през ранната ембриогенеза, като взема участие в образуване на гоноцитите и на първичното черво, взема участие първичното кръвообразуване, *Амнионът* е амниотично мехурче с амниална течност (околоплодна течност), в което се намира ембриона/фетуса. Предпазва плода от механични удари, осигурява температура и пространство за движения. *Хорионът* е външна зародишна обвивка, която огражда амниона. Участва в образуването на плацентата. Чрез плацентата хорионът осигурява газовата обмяна, хранителни вещества и отпадни продукти между майката и плода. Помага за защита на плода от имунната система на майката. *Алантоисът* при човека е силно редуциран, малък тръбест израстък на задното черво на ембриона. Участва в ранното кръвообращение и в образуването на съдовете в пъпната връв. *Плацентата* при човека е временен орган. Развива в матката по време на бременността. Осъществява връзката между майката и плода, поддържа бременността, осигурявайки растеж и развитие на плода, без да смесва пряко кръвта им. Изпълнява транспортна, трофична, ендокринна и имунологична функции. Плацентата при човека е диско-видна, хемохориална. Структурира се от две части – *детска и майчина част*. Детската част включва хориона с хориални въси, който бива два вида. Въсеносен хорион (chorion villosum) – представен от първични, вторични и третични, дървовидно разклоняващи се власинки. Гладък хорион (chorion laeve) – къси и слабо разклонени въси, които постепенно регресират. Структурите на майката са производни на ендометриума: покривен и жлезист епител; съединителна тъкан с децидуалните клетки (фибробластоподобни клетки) и екстрацелуларния матрикс с влакнестите материали и аморфното вещество; васкуларна мрежа на ендометриума – спирални артериоли, венули и капиляри. Връзката между фетуса и майката се извършва чрез пъпната връв, която при раждане достига около 50 cm. и в нея се намират две пъпни артерии и една вена.

Най-често под понятието тъкан се има предвид съвкупност от клетки и междуклетъчно вещество, представляващи една филогенетично възникнала система с общ произход и посока на диференциация на клетките за усъвършенстване изпълнението на отделни основни жизнени функции. Еволюцията на тъканите се осъществява в пряка връзка с усложняване на основните функции на организмите – метаболизъм, движение, дразнимост и защита. В резултат на това се обособяват разновидности от тъкани, които се класифицират въз основа на разнообразие от критерии. Най-често използвана и до днес е морфо-функционалната класификация, според която тъканите се разделят на четири основни типа – епителна, съединителна, мускулна и нервна.

Най-общо всяка тъкан се изгражда от клетки и междуклетъчно вещество. Въпреки специфичността на своята диференциация във всяка тъкан могат да се разграничат итай-общо три типа клетки: основни, преобладаващи с характерната функция за тъканта; допълнителни, специализирани клетки, със спомагателни функции; слабо диференцирани клетки със запазени способности за делене. Междуклетъчното вещество включва основно, аморфна субстанция и влакнести материали. Варира по състав и строеж, като при някои видове тъкани, до голяма степен, определя функциите и свойствата им. В хода на еволюцията при животните, в отговор на променящите се условия на средата, се развиват голям брой разновидности към основните типове тъкани. Такива са например разновидности на съединителната тъкан – кръв, рехавата съединителна тъкан, мастна съединителна тъкан, влакнеста съединителна тъкан и т. н.

Основните типове тъкани и техните разновидности имат и някои общи свойства. Това са: *регенерация (regeneration)* – свързана с възстановяване на изхабените или мъртви клетки с нови; *хиперплазия (hyperplasia, hyper – свръх и plasso – образувам)* и *хипертрофия (hypertrophia, tropho – храня)* – прекомерно разрастване на тъканта; *атрофия (atrophia, a – не)* – намаляване на обема на тъканта; *метаплазия (metaplasia, meta – след)* – в границите на основен тип тъкан един подвид преминава в друг; *неоплазия (neoplasia)* – туморно израждане.

Епителна тъкан (Textus epithelialis). Филогенетично се появява и стабилизира най-рано в сравнение с другите типове тъкани. През ембрионалното развитие на животните може да се развие и от трите зародишни листа – ектодерма, ендодерма и мезодерма. Покрива отвън тялото на многоклетъчните животни като постила вътрешната повърхност на кухите и тръбестите органи (храносмилателен тракт, дихателните и пикочопроводни пътища) и на телесните кухини (коремна и гръдна); изгражда почти всички жлези, с изключение на някои отдели на жлезите с вътрешна секреция.

Основните функции на епителната тъкан са ограничителна и защитна. *Допълнителни функции* са *транспортна* – свързана с пренасянето на вещества с помощта на транспортни системи. *Секреторна функция*, свързана с отделянето на различни по химичен състав вещества, йони и макромолекули. Роля в *сетивни зони*, като епителните клетки подпомагат възприемането на дразнения от околната среда.

Епителната тъкан представлява единна система изградена от голям брой клетки, подредени в редове или слоеве, малко слепващо, аморфно междуклетъчно вещество (подпомагащо клетъчните комуникации) и базална мембрана (*lamina basalis*) върху, която се разполагат всички клетки при еднослойните епителии или само първият ред клетки при многослойните. Базалната мембрана има опорна и защитна функция. Изпълнява полупропускливи свойства, които подпомагат транспортирането на вещества, чрез дифузия, от подлежащата съединителна тъкан към епителните клетки, както и обратно. Изгражда се основно от три типа клетки: преобладаващи; специализирани (жлезисти) клетки; слабо диференцирани (стволови клетки), които се делят постоянно и са отговорни за регенеративните способности на тъканта. Чрез секретите на специализираните жлезисти клетки често на повърхността на тъканта се образуват допълнителни образувания като косми, пера, люспи, нокти, рогови образувания, кутикула и др.). Епителните клетки притежават полярност. В епителната тъкан не навлизат кръвоносни съдове, но е добре инервирана. Притежава висока способност към регенерация (физиологична – перманентна и циклична и посттравматична).

Най-често се използва морфо-функционалната класификация, според която епителната тъкан се разделя на покритивен епител (*Epithelium superficiale*) и жлезист епител (*Epithelium glandulare*). *Покритивният епител бива три основни вида – еднослоен, преходен и многослоен.*

Еднослоен покривен епител. Изграден е от един ред епителни клетки, като всички лежат и комуникират с подлежащата базална мембрана. Разделя се на два вида: еднореден и многореден (псевдомногослоен). При едноредния, ядрата на клетките са на една и съща височина от базалната мембрана и в зависимост от формата на клетките се разделя на плосък, кубичен и призматичен (цилиндричен). При многоредния (напр. покрива вътрешната повърхност на много въздухоносни пътища – носна кухина, трахея, бронхи) ядрата на епителните клетки се намират на различна височина от базалната мембрана.

Преходен покривен епител. Постила вътрешната повърхност на някои отделителни органи – пикочно легенче, някои пикочопроводи, пикочен мехур. Изгражда се от три клетъчни зони. Има признаци на еднослоен многореден (тънки цитоплазмени връзки, свързват клетките от горните слоеве с базалната мембрана) и многослоен епител (с перманентна физиологична регенерация).

Многослойният покривен епител. Състои от голям брой клетки подредени в редове, влизащи в състава на слоеве с характерни морфологични, функционални и метаболитни особености. Най-често се разполага на повърхности подложени на натиск, опъване и триене. Разделя се на два подвида: невроговяващ и вроговяващ. Многослойният невроговяващ покривен епител покрива повърхности граничещи с влажна среда (напр. устна кухина, хранопровод, анус, влагалище при бозайници); епидермисен (риби, ларви на земноводни и др.). Изграден е от три слоя, като в зависимост от формата на клетките от повърхностния слой се разделя на плосък, кубичен и призматичен. Многослойният вроговяващ покривен епител покрива телесни повърхности, граничещи с външна суха среда. Изгражда епидермиса на кожата при влечуги, птици и бозайници. Състои се от голям брой редове от клетки (няколко, десетки и стотици) обединени в пет слоя. Характерен е с процес на вроговяване (кератинизация), със специализация и диференциация на епителните клетки. Най-външният, повърхностен вроговен слой, се състои от приплеснати, мъртви клетки, изпълнени с белтъка кератин, като последните един два реда непрекъснато отпадат и се заместват от по-долните редове. Регенерацията е физиологична – перманентна и посттравматична.

Жлезист епител. Клетките на тъканта имат способност да синтезират и отделят сложни специфични продукти наречени секрети. Разделя се на два вида – екзокринен и ендокринен. Екзокринните жлези отделят секрета си директно върху външни или вътрешни повърхности на организма, с помощта на изводни канали. Ендокринните жлези отделят секрети (инкрети, хормони) директно в телесната течност, кръвта или лимфата, без изводни канали.

Съединителна тъкан (Textus connectivus). Тази тъкан не контактува пряко с външна среда или вътрешни празнини. Връзката се извършва посредством епителната тъкан. През ембрионалното развитие на животните се залага от мезодермата и най-често се развива от мезенхимни клетки. *Основна функция* на съединителната тъкан е структурно-опорна като участва при изграждане и моделиране тялото на многоклетъчните животни. *Изпълнява още трофична и защитна функция, както и редица допълнителни функции.* Съединителната тъкан се изгражда от два основни компонента: клетки (cellulae textus connective) и междуклетъчно вещество (substantia intercellularis) или матрикс (т. нар. базова, аморфна субстанция). Клетките са разположени в междуклетъчното вещество по единично или на групички, като са разнообразни по функция и морфология. Не образуват редове (с малки изключения) или слоеве. Могат да бъдат фиксирани или подвижни. Междуклетъчното вещество включва съединителнотъканни извънклетъчни влакна (fibrae textus conectivi) (влакнести материали) и основна (базова) субстанция (substantia fundamentalis) известна още като аморфно вещество, както и тъканна течност. Основната субстанция на междуклетъчното вещество се изгражда от глюкозоамиоглигани (мукополизахариди) и адхезивни (структурни) гликопротеини. Влакнестите материали се структурират в три вида влакна – колагенови и ретикуларни от белтъка колаген и еластинови от белтъка еластин. Материалите за междуклетъчното вещество се синтезират и отделят от основните клетки на различните разновидности на съединителната тъкан. Съединителната тъкан притежава регенеративни възможности в различни граници, в зависимост от особеностите на разновидностите ѝ.

Според хистофизиологичната класификация съединителната тъкан се разделя на три групи: с недиференцирано междуклетъчно вещество (мезенхим, слизеста, хордална, пихтиеста); с влакнесто междуклетъчно вещество (хлабава, мастна, ретикуларна, пигментна, фиброзно-компактна и еластична, кръв); с твърдо междуклетъчно вещество (хрущялна и костна).

Кръв. Кръвта се състои от кръвни клетки (клетъчни елементи, формени елементи) и кръвна плазма. Клетъчните елементи са: червени кръвни клетки (еритроцити); бели кръвни клетки (левкоцити – гранулоцити и агранулоцити) и тромбоцити. Процесът на образуване на кръвните клетки

се означава като *хемопоеза*. При възрастните се осъществява се от червения костен мозък в костния канал на дългите тръбести кости. Кръвната плазма е течна междуклетъчно вещество на тъканта със сламеножълт цвят. Представлява колоид, в който има разтворени ниско и високомолекулни съединения. Съдържа основно вода (до 90%), белтъци (7-8%) и около 1% неорганични соли, други органични вещества – въглехидрати и мазнини. *Кръвта изпълнява следните функции*: хранителна – доставя до клетките хранителни вещества идващи от храносмилателната система; регулативна – транспортира и разпределя вода, неорганични и органични материали; дихателна – газообмен на кислород и въглероден двуокис в организма, извършва се от еритроцитите с помощта на белтъка хемоглобин; отделителна (чрез отделителната система изнася непотребни материали от метаболизма); защитна (чрез фагоцитоза, коагулационен механизъм, изработване на антитела и бактерицидни вещества, извършва се от левкоцитите и тромбоцитите); хомеостатична – участва в регулиране постоянното рН на средата и телесната температура.

Еритроцитите са най-многобройните кръвни клетки (милиони в 1 μ l) като варират при различните видове животни. Червеният им цвят се дължи на хромобелтъка *хемоглобин* – дихателен пигмент, който се свързва лесно с кислорода и лесно го отдава на тъканите. От тях също лесно приема CO_2 . Във връзка с осигуряване на по-голяма газообменна повърхност при гръбначните животни са установени следните еволюционни промени: изменение на формата (от елипсоидна – при рибите до двойноудълбнат диск – при човека); намаляване на размера и увеличаване на броят им (от риби към земноводни, влечуги, птици и бозайници и човек); редукция на ядро и клетъчни органели при бозайници и човек. Основната функция на еритроцитите е газообменна. *Левкоцитите* са високо специализирани кълбовидни ядрени клетки, разнородни по морфология и биологична роля. Броят им в 1 μ l кръв варира, но е значително по-малък от броя на еритроцитите и тромбоцитите. Левкоцитите са два подвида: гранулоцити (зърнести левкоцити) и агранулоцити (незърнести левкоцити). В зависимост от морфофункционалните особености гранулоцитите са три вида: неутрофили, еозинофили и базофили. Агранулоцитите се разделят на две групи: моноцити и лимфоцити. Левкоцитите изпълняват *защитна функция*. По-голяма част от тях имат свойството да фагоцитират, а други да изпълняват имунозащитна функция. Всички притежават ядро, клетъчен център, митохондрии, рибозоми и богати на хидролитични ензими лизозоми, което е показател за активна обмяна на веществата. Могат да преминават през ендотелните клетки на капилярите изграждащи стената им и да се установят в околните тъкани, най-често рехави съединителна тъкан, където осъществяват своите разнообразни функции. Левкоцитите участват в клетъчния и хуморален имунен отговор на организма. *Тромбоцитите* при бозайниците и човека представляват безядрени цитоплазмени сегменти. Броят им у човека нормално е 150 – 400 000 в mm^3 и варира. Основната им функция е свързана с механизмите на кръвосъсирването. Кръвните клетки имат кратък живот и се възстановяват чрез перманентна физиологична регенерация.

Рехави (хлабава) съединителна тъкан. Това е най-широко разпространената тъкан от разновидности на съединителната тъкан. Няма пряк контакт с външната среда като контактува с нея посредством епителната тъкан. Участва в изграждането на всички органи в многоклетъчните организми. Рехавата (хлабава) съединителна тъкан участва в изграждането „скелета“ на органите в организма и моделиране на тялото. Задължително придружава кръвоносните, лимфните съдове и нерви. Заедно с тях навлиза и участва в изграждането на мускулите, сухожилията, фасциите, костите и др. Осъществява връзката на кожата с подлежащите органи затова най-голямо количество рехави съединителна тъкан има в подкожието. Участва в изграждането на лигавицата от стената на кухите тръбести органи. *Основната ѝ функция е свързваща.* Участва и в защитата на организма, транспортирането на хранителни вещества (трофична функция), благодарение на разнообразния ѝ клетъчен състав. Изгражда се от два основни компонента – клетки и междуклетъчно вещество. Клетките са основни (стволови и диференцирани) и допълнителни. Основните клетки са: фибробласти и фиброцити – синтезират и отделят материали за междуклетъчното вещество; хистеокити, мастоцити и плазмоцити – изпълняват обща защитна функция, стволови клетки – отговорни за регенерация и обновяване. Допълнителни клетки са: мастни, пигментни, някои видове левкоцити, мускулни клетки и др. Междуклетъчното вещество е в голямо количество (над 70% от теглото на тъканта) и включва аморфно, влакнесто вещество и тъканна течност. Трите вида влакна са застъпени в умерено количество, разпределени по единично в рехави мрежа, което придава общия рехав строеж на тъканта.

Хрущялна тъкан (Textus cartilagineus). Покрива ставните повърхности, подпомага растежа на дългите тръбести кости с оформянето на хрущялните пластинки в двата края на диафи-

зата. Кръвоносни съдове в тъканта не навлизат. Транспортирането на необходимите вещества се извършва чрез дефузионни процеси. Изградена е от основни клетки – хондробласти (млади клетки) и хондроцити (специализирани клетки), които синтезират материали за междуклетъчното вещество. В състава ѝ влиза и голямо количество междуклетъчно вещество с аморфна и влакнеста съставка. Хондроцитите се разполагат в кухини наречени лакуни. Обикновено са по няколко в една лакуна и произлизат от митотичните деления на един изходен хондробласт. Образува т. нар. изогенни групички. Една изогенна групичка заедно с териториалния матрикс около нея оформят основната *функционалната единица на хрущяла – хондрон*. При гръбначните животни тъканта бива: хиалинна, еластична и влакнеста. Хрущялната тъкан има слаби регенеративни способности.

Костна тъкан (Bone tissue). Заедно с хрущялната тъкан участва в изграждането на осевия скелет, крайниците и в моделиране формата на тялото. Участва в минералния обмен на организма. Дейността на костната тъкан е под контрола на нервната и ендокринната система. Изгражда се от основни клетки: остеобласти и остеоцити (синтезират материали за междуклетъчното вещество) и остеокласти (т. нар. косторазрушители), които участват в ремоделирането на костната тъкан. Междуклетъчното вещество (каменно, твърдо) се състои от аморфно вещество и влакнести материали, основно колагенови влакна, които често са слепени успоредно от белтъка осеомукоид в пластинки или ламели. Минералните соли стигат до 55% от теглото на тъканта. В костната тъкан навлизат кръвоносни съдове. При гръбначните животни има два вида: грубовлакнеста и ламеларна (пластинчеста). Последната бива гъбеста и плътна с *основна структурна и функционална единица – остеон (Хаверсова система)*. Остеонът се състои от: 4 – 20 бр. цилиндрично вмъкнати един в друг ламели от успоредно слепени колагенни влакна; остеоцити; Хаверсов канал, централно затворен, в който навлизат отвън кръвоносни съдове, малко рехавата съединителна тъкан и разклонение на нервни влакна. Костната тъкан има добра регенерация – физиологична и посттравматична.

Мускулна тъкан (Textus muscularis). Представлява клетъчна общност от високо диференцирани и удължени мускулни клетки (миоцити) или мускулни влакна. Характеризират се със свойствата възбудимост, проводимост и съкратимост. Първите две се обуславят от свойствата на клетъчната мембрана (сарколема), а съкратимостта е пряко свързана с функционирането на специфични клетъчни органели наречени *миофибрили* и на съкратителните белтъци (филаменти) в тях – актин, миозин, тропомиозин и тропонин. През ембрионалното развитие при животните произлиза от мезодермата и се развива от мезенхимните клетки (мезенхима). Само миоепителните клетки имат ектодермлен произход. Според структурната организация на съкратителния апарат тъканта се разделя на три основни вида – гладка, набраздена (косо и напречно набраздена) и миоепителни клетки. Напречно набраздената бива скелетна и сърдечна (съкратителна, типична и импулсопроводна, нетипична). Основната структурна единица на скелетната мускулна тъкан е мускулното влакно – миофибра. На сърдечната мускулна тъкан е мускулната клетка кардиомиоцит. Запазвайки клетъчните си ограничения клетките се нареждат едно до друго и образуват мускулни влакна. Контактуват помежду си чрез интеркаларни дискове. Основна структурна единица на гладката мускулна тъкан е мускулната клетка – лейомиоцит. Мускулната тъкан се характеризира с липсата на собствено междуклетъчно вещество. Тази роля се изпълнява от рехавата съединителна тъкан, която чрез тънки прослойки (малко количество) навлиза навътре в тъканта между клетките и влакната и като носи със себе си разклонения на кръвоносни съдове и нерви. Специфични клетъчни органели за набраздената мускулна тъкан са *миофибрилите*, които като тънки тръбички се намират по дължината на многоядрената миофибра. По дължината на всяка миофибрила се забелязват тъмни и светли зони (ивици), напречно разположени по дългата ос на влакното, където по специфичен начин са подредени молекулите на съкратителните белтъци – актин, заедно с тропомиозин и тропонин, и миозин. От пълното съвпадение на светлите и тъмни зони във всички миофибрили на една миофибра се определя напречното набраздяване по дължината му. При малко отклонение на това разположение се формира косо набраздяване – ивиците са наклонени. По средата на светлите зони, също напречно на дългата ос, се разполагат молекулите на белтъците дезмин и α актин. Те изграждат т. нар. Z дискове. Разположението на молекулите на съкратителните белтъци се повтаря между два Z-диска. Разстоянието между два Z диска се нарича *саркомер*, който представлява основната функционална единица на набраздената мускулна тъкан. Скелетната мускулна тъкан се съкращава волево, под действието на централната нервна система, докато сърдечната и гладката мускулни тъкани се съкращават неволево, под

действие на вегитативната нервна система. Регенерацията на тъканта е много ограничена. Възстановяването е по-скоро за сметка на рехавата съединителна тъкан.

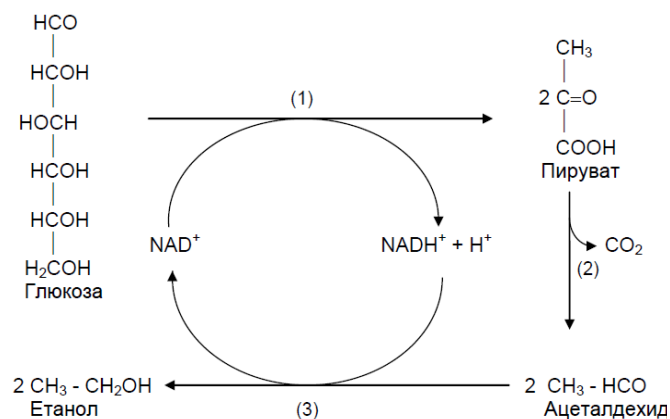
Нервна тъкан (Nervous tissue). Представлява комплекс от основни, специализирани нервни клетки наречени неврони (невроцити) и придружаващи, спомагателни глиеви клетки – невроглия. Невроните са основна структурна и функционална единица на нервната тъкан. Функцията им е да: възприемат дразненията от околната среда и различните части на тялото; анализират, интегрират, трансформират информацията и да изработват съответни нервни импулси; препращат нервните импулси в посока към други неврони или органи от организма за подходяща реакция на организма (мускули или жлези). През ембрионалното развитие при гръбначните животни се развива от ектодермата, чрез процеса невролация (затваряне на нервната тръба). Невроните са високо специализирани клетки. Изградени са от клетъчно тяло (перикарион – метаболитен център на клетката) и израстъци, които са: дендрити – къси, дървовидно разклоняващи се и един дълъг израстък – аксон. Дендритите възприемат и насочват получената информация в посока към перикариона. В аксона се генерират и провеждат нервните импулси към реагиращите клетки или други неврони. Невроните имат специфични клетъчни органели – *тигроидни тела* и *неврофибрили*. Тигроидните тела представляват големи комплекси от рибозоми и гранулиран ендоплазмен ретикулум, които в хистологични препарати се оцветяват базофилно, изпълват цитоплазмата, която наподобява на тигрова кожа. При по-малки размери се структурират като малки гранули – Нислови зърна/Нислови гранули. Това е показател за интензивен синтез на структурни и транспортни белтъци. Неврофибрилите са специфично структурирани и оформят цитоскелета на клетката. Разполагат се в перикариона и израстъците. Имат значение за поддържане на клетъчната форма и за транспортирането на различни субстанции и органели в израстъците. Невроглията изпълнява спомагателна функция в нервната тъкан – хранителна, секреторна, възстановителна (репаративна), опорна, защитна, регулаторна. Невроглията бива: епендимна глия (епителоподобни клетки, изграждат стената на празнини, напр. гръбначномозъчен канал); макроглия (астроцити – фиброзни, влакнести и протоплазмени и олигодендроцити); микроглия (микроглиеви клетки със защитна функция, единствени имат мезодермален произход). Астроцитите имат основно регулаторна функция Протоплазмените астроцити са с многобройни къси и дървовидно разклоняващи се израстъци, чрез които влизат в междуклетъчни комуникации. Участват в изграждането на сивото мозъчно вещество. Влакнестите астроцити са с по-малко израстъци, но по-дълги и с по-малко разклонения. Те участват в изграждането на бялото мозъчно вещество. Олигодендроцитите са с малки размери, с къси израстъци. В бялото мозъчно вещество участват в образуването на миелиновата обвивка на миелиновите нервни влакна.

Ферментациите са анаеробни процеси на разграждане на субстратите, при които АТР се синтезира само чрез фосфорилиране на ниво субстрат и акцептор на водорода, отделен при биологичното окисление на субстратите е органично съединение. Микроорганизмите, осъществяващи ферментации са факултативни или облигатни анаероби. Факултативните анаероби, като ентеробактериите, в присъствие на кислород превключват метаболизма си на дишане. Облигатните анаероби не могат да синтезират компоненти на дихателна верига, свързана с кислород. Много от тях не понасят присъствието му – строги анаероби.

Микроорганизмите осъществяват няколко вида ферментация; класифицирането им се прави на базата на получените крайни продукти.

АЛКОХОЛНА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Редица гъби, някои бактерии, водорасли и протозои ферментират захарите до етанол и CO_2 в процес наречен алкохолна ферментация. Дрождите (*Saccharomyce*) разграждат глюкозата (и други захари) в гликолитичния обменен път. Полученият пируват се декарбоксилира до ацеталдехид от ензима *пируват декарбоксилаза*. Ензимът е ключов за ферментационния процес и съдържа тиаминпирозинфосфат. Ацеталдехидът се редуцира до етанол от *алкохолдехидрогеназа* и по този начин водородният баланс остава постоянен (Фиг. 1). В анаеробни условия ферментацията на глюкоза е много интензивна, но дрождите почти не растат. При аерация, ферментацията отслабва и започва дишане. Този феномен е известен като **ефект на Пастър**. Аерацията понижава консумацията на глюкоза и образуването на етанол; стимулира се растежа на дрождите. В ефекта на Пастър участват няколко регулаторни механизма. Един от тях се проявява на нивото на процесите на



Фиг. 1. Алкохолна ферментация при дрожди. (1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват декарбоксилаза; (3) алкохол дехидрогеназа

фосфорилиране. В основата му е **конкуренцията за ADP и P_i** . Окислението на глицералехид-3-фосфата в гликолитичния път се нуждае от ADP и P_i . В аеробни условия дихателната верига и окислението на глицералдехид-3-фосфата се конкурират за ADP.

Вторият регулаторен механизъм е **алостеричния контрол на активността на фосфофруктокиназата**. Този ензим алостерично се инхибира от АТР. В присъствие на АТР се увеличава сигмоидалността на кривата на насищане на ензима със субстрат. АМР действа като положителен ефектор и елиминира подтискащия ефект на АТР.

Освен глюкоза, дрождите могат да ферментират и пируват. Междинен продукт е ацеталдехид и това се доказва чрез прибавяне на NaHSO_3 . Той се свързва с ацеталдехида (образува се ацеталдехидсулфит), който не може да акцептира водорода от редуцирания NAD. Тази функция се поема от дихидроксиацетонфосфат, който се редуцира до глицерол-3-фосфат и дефосфорилира до глицерол. Тази модифицирана ферментация Нойберг нарича **втора форма** на алкохолната ферментация. Използва се за получаване на глицерол.

Прибавянето на NaHCO_3 или Na_2HPO_4 към ферментиращия разтвор също води до образуване на глицерол, тъй като ацеталдехида се превръща в етанол и ацетат в резултат на реакция дисмутация. Това е **третата форма** на алкохолната ферментация по Нойберг. Класическата алкохолна ферментация Нойберг нарича **първа форма**.

Съществуват няколко вида бактерии, които осъществяват алкохолна ферментация. *Zyotomonas mobilis* (изолиран от ферментиращия сок на мексиканския кактус *Agave mexicana*) и

Zyotomonas anaerobica превръщат глюкозата в пируват по пътя на Ентнер-Дудороф. Тези бактерии съдържат ензима *пируват декарбоксилаза*. Продукти на ферментацията са етанол, CO_2 и не големи количества лактат. *Sarcina ventriculi* и *Ervinia amylovora* ферментират глюкозата до пируват по гликолитичния път. Пируватът се превръща в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и CO_2 с ензимите *пируват декарбоксилаза* и *алкохол дехидрогеназа*. *Sarcina ventriculi* образува като странични продукти ацетат и молекулен водород, а *E. amylovora* – лактат.

При бактериите сравнително рядко се среща ензимът *пируватдекарбоксилаза*. Много млечнокисели бактерии, ентеробактерии и *Clostridium spp.* образуват значителни количества етанол, но при тях отсъства пируват декарбоксилаза. Ацеталдехид се образува при редукция на ацетил- CoA в реакцията, катализирана от *ацеталдехид дехидрогеназа*.

МЛЕЧНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

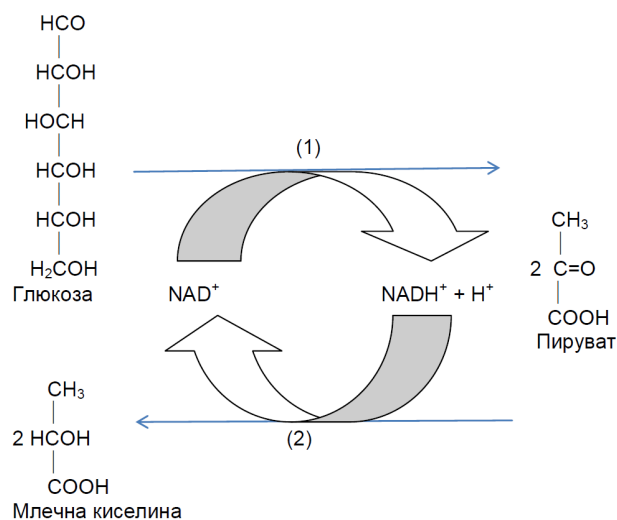
Млечната киселина (лактат) е широко разпространен краен продукт на ферментационните процеси, а няколко рода бактерии, наречени млечнокисели, продуцират млечна киселина в големи количества. Млечнокиселите бактерии от родове *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* се отнасят към **Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. Те са Грам-положителни; пръчковидни и кълбовидни; неспорообразуващи, предимно неподвижни. Аеротолерантни анаероби с ферментативен метаболизъм; не съдържат хемопротеини, като цитохроми и каталаза. Всички млечнокисели бактерии се отличават с висока захаролитична активност и отсъствие на повечето анаболитни пътища, което обуславя голяма възискателност към хранителните субстрати. Тези микроорганизми се развиват в растителни тъкани и разлагащи се растителни остатъци (*Lactobacillus plantarum*, *L. delbrückii*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*), мляко и млечни продукти (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*), чревния тракт и слизестите обвивки на човек и животните (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus faecalis*, *S. salivarius*, *S. bovis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*).

Род *Bifidobacterium* се отнася се към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Всички представители на род *Bifidobacterium* са строги анаероби; те не понасят кислород; за развитието им е необходима атмосфера, съдържаща 10% CO_2 . *Bifidobacterium bifidum* е с V- или Y-образна форма, откъдето е получил името си (лат. *bifidus* – раздвоен). Преобладава в чревния тракт на кърмачета (бифидобактерии се откриват и в дебелото черво на възрастни хора), тъй като се нуждае от въглехидрати, съдържащи N-ацетилглюкозамин, който се съдържа в човешката кърма (но не в кравето мляко).

Млечнокиселите бактерии осъществяват няколко вида ферментация.

1. Хомоферментативна млечнокисела ферментация – млечната киселина е преобладаващ продукт (повече от 90% от всички продукти). Глюкоза се превръща в гликолитичния път до пируват, който акцептира водорода от глицералдехид-3-фосфат дехидрогеназната реакция и се редуцира до млечна киселина с ензима *лактат дехидрогеназа* (Фиг. 2). От 1 mol глюкоза се получават 1.8 mol млечна киселина. Енергетичният баланс на ферментацията е 2 mol ATP на 1 mol изразходвана глюкоза.

2. Хетероферментативна млечнокисела ферментация – получават се приблизително 50% млечна киселина и 50% други продукти. Хетероферментативните млечнокисели бактерии не притежават ензимите *алдолаза* и *триозофосфат изомераза*. Глюкозата се превръща в пентозофосфатния път до ксилулозо-5-фосфат, който в реакцията, катализирана от *пентозофосфофокетоллаза* се разпада до глицералдехид-3-фосфат и ацетилфосфат. Глицералдехид-3-фосфатът се превръща в лактат, а ацетилфосфатът през ацетил- CoA и ацеталдехид в етанол. Други млечнокисели бактерии (*Lactobacillus brevis*) превръ-



Фиг. 2. Хомоферментативна млечнокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) лактат дехидрогеназа.

щат ацетилфосфата изцяло или частично в ацетат, при което макроергичната връзка се пренася върху ADP – синтезира се АТР. Излишъкът от водород се поема от глюкоза, която се редуцира до манитол. Балансът на хетероферментативната млечнокисела ферментация е 1 mol АТР на всеки mol изразходвана глюкоза.

МРАВЧЕНОКИСЕЛА (СМЕСЕНА) ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРИ ЕНТЕРОБАКТЕРИИ

Представителите на разред *Enterobacteriales* се отнасят към **Група 2 – Протеобактерии, γ-Протеобактерии**. Те са Грам-отрицателни, неспорообразуващи пръчици; хемоорганотрофи. Факултативни анаероби. Условно-патогенни микроорганизми.

Род *Escherichia* – къси пръчици; неподвижни и подвижни; подвижните форми са перитрихи. *Escherichia coli* населява чревния тракт на животните и човек няколко часа след раждането и е нормален комменсал. При определени условия може да предизвика заболявания – уринарни, интестинални инфекции, менингити, вътреболнични инфекции. Запазва известно време жизнеспособност и извън стомашно-чревния тракт, поради което лесно се изолира. Използва се като тест-микроорганизъм за установяване на фекалното замърсяване на питейна вода.

Род *Enterobacter* – подвижни пръчици (перитрихи), разпространени в почва, вода, интестиналният тракт на човек и животни. Ферментират захарите с отделяне на газ. Могат да причинят, макар и рядко менингити, сепсиси, раневи инфекции, вътреболнични инфекции.

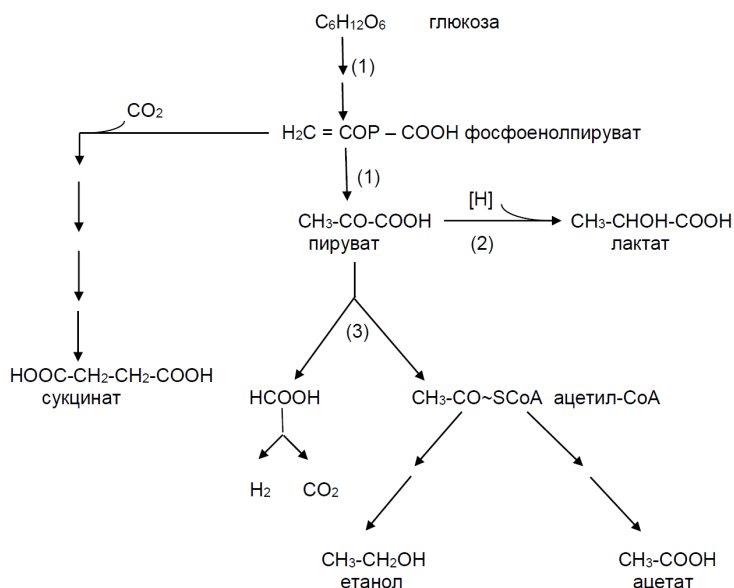
В отсъствие на кислород ентеробактериите осъществяват два вида смесена ферментация.

1. Родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* ферментират захарите до млечна, оцетна, мравчена, янтьрна киселини, неголеми количества C_2H_5OH , CO_2 и H_2 .

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път. На ниво фосфоенолпируват (ФЕП) се отделя разклонението за синтез на янтьрна киселина. Останалата част от ФЕП се превръща в пируват. Значителна част от него се редуцира до млечна киселина; бактериите от родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* продуцират значителни количества млечна киселина. От пируват с ензимния комплекс *пируват:формиат лиаза* (ключов за ферментацията) се получава ацетил-СоА и мравчена киселина. Мравчената киселина е краен продукт, но част от нея се разпада до CO_2 . Ацетил-СоА се превръща в етанол и в оцетна киселина (Фиг. 3).

2. Родове *Enterobacter* и *Erwinia* за сметка на киселините образуват значителни количества C_2H_5OH , CO_2 и 2,3-бутандиол – **бутандиолова** ферментация.

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път до пируват (няма разклонение на ниво ФЕП, т.к. не се получава сукцинат). Малка част от пирувата се редуцира до млечна киселина. От пируват, с ензима *пируват:формиат лиаза* се получават формиат и ацетил-СоА. Част от формиата се разпада до CO_2 и H_2 , а ацетил-СоА изцяло се превръща в етанол. От пирувата се получава 2,3-бутандиол – специфичен продукт, който дава име на ферментацията. Двата вида ферментация се разграничават чрез реакция с метилрот (MR) и реакция на Фогес-Проскауер (VP).



Фиг. 3. Смесена ферментация при *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

(1) ензими на гликолитичния път;
(2) лактат дехидрогеназа
(3) пируват:формиат лиаза.

МАСЛЕНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

През 1861 г. Луи Пастър открива ферментация на захари, при която се получава бутират. Съществува се от облигатни анаероби, представители главно на 4 рода: *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*.

Видовете *Clostridium* поглъщат захарите с фосфотрансферазна система; хексозите се разграждат до пируват в гликолитичния обменен път; пируватът се превръща в ацетил-CoA, CO_2 и H_2 под действието на ензима *пируват:ferredоксин оксидоредуктаза*, който е ключов за ферментацията. Двете молекули ацетил-CoA кондензират, при което се формира ацетоацетил-CoA, който постепенно се превръща в маслена киселина (Фиг. 4). Енергетичният баланс на ферментацията е 3 mol ATP на 1 mol глюкоза.

Clostridium acetobutylicum ферментират глюкозата до бутират, бутанол и ацетон. Първоначално се образува бутират, но подкислението на средата активира ензими (като *ацетоацетат декарбоксилаза*), които катализират образуването на бутанол и ацетон. Процесите на синтез на различните продукти са свързани. Декарбоксилирането на част от ацетоацетата води до загуба на част

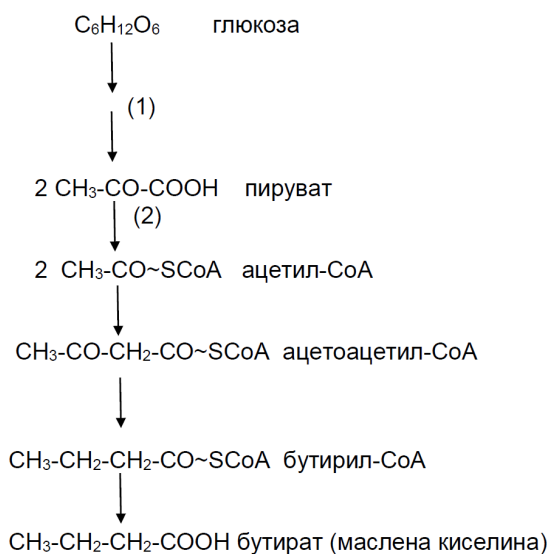
от потенциалния акцептор на водорода от редуцирания NAD, който се прехвърля върху бутирил-CoA – образува се бутанол. В процеса се включва, след активиране, постъпващия от средата бутират. Някои щамове редуцират ацетона до 2-пропанол. Ако pH се поддържа на ниво по-високо от 5.0, образуването на ацетон и бутанол силно се подтиква.

Род *Clostridium* се отнася към Група 3 – **Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. *Clostridium* са Грам-положителни; стари култури могат да се оцветят отрицателно по Грам. Изоларат се от почва, оборски тор, замърсени води, храносмилателния тракт на животни и човек. Повечето видове са подвижни перитрихи (срещат се и неподвижни). Образуват терморезистентни спори, които са кръгли или елипсовидни и променят формата на клетката. През определени етапи от развитието си клетките съдържат гранулеза (скорбялоподобно вещество), която се оцветява от йод в синьо. Натрупването на гранулеза се използва като таксономичен белег. *Clostridium* се отличават с изразен ферментативен тип метаболизъм. Анаероби с преходни форми – от строги анаероби (*C. pasteurianum*, *C. kluyveri*) до почти аеротолерантни (*C. histolyticum*, *C. acetobutylicum*). Не съдържат хемопротеини (цитохроми и каталаза). Повечето видове са мезофилни (opt.t 30 – 37°C), но се срещат и термофилни, като *C. thermoaceticum*, *C. thermohydrosulfuricum*. *Clostridium* се различават силно по отношение на субстратите, които могат да ферментират. Захаролитичните видове разграждат предимно полизахариди, а пептолитичните – белтъци и аминокиселини. Оптимално pH за развитието е 6.5 – 7.2. Някои пептолитични *Clostridium* могат да причинят болести при раневи инфекции (газова гангрена и тетанус), а също така хранителни отравяния.

ПРОПИОНОВОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Пропионовокиселите бактерии обитават търбуха и чревния тракт на преживните животни, където превръщат млечната киселина, получена при различни ферментационни процеси в пропионова. Пропионова киселина образуват видовете *Propionibacterium*, *Selenomonas*, *Micromonospora* и *Clostridium propionicum*.

Род *Propionibacterium* се отнася към Група 4 – **Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Плеоморфни пръчици с размери 0.5 – 0.8 x 1.0 – 5.0 μm . Срещат се поединично, по двойки, в къси верижки, в Y или V образни конфигурации. Неспорообразуващи, неподвижни. При неблагоприятни условия формират бухалковидни форми. Не растат на твърди среди при достъп на въздух. Анаероби, но притежават вариабилна аеротолерантност. Притежават цитохроми и



Фиг. 4. Масленокисела ферментация.

(1) ензими на гликолитичния път;

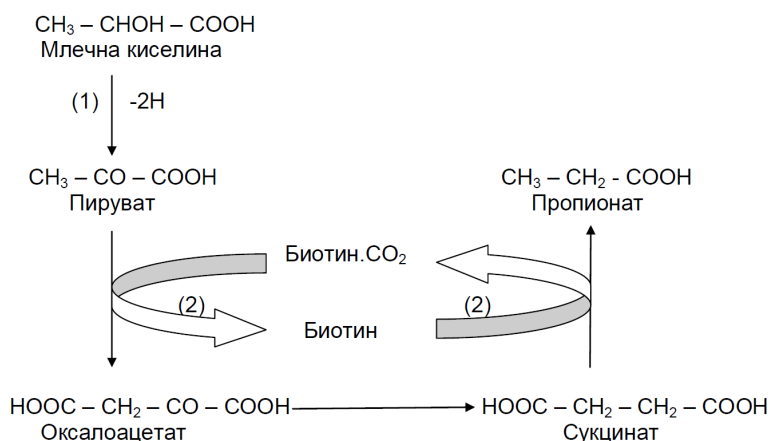
(2) пируват:ferredоксин

каталаза. Оптимална температура за развитие – 30 – 37°C. Хемоорганотрофи. Откриват се главно в сирене и млечни продукти и са част от нормалната микрофлора на човешката кожа. Ферментират глюкоза, захароза, лактоза, пентози, малат, глицерол, лактат с образуване на значителни количества пропионат. При ферментацията се получават също ацетат и неголеми количества CO₂.

Род *Micromonospora*. Проактиномицети; отнасят се към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Притежава добре развит, разклонен, септиран субстратен мицел. Въздушен мицел липсва. Грам-положителни клетки. Стената съдържа *meso*-диаминопимелинова киселина и глицин. Аероби и микроаероби. Хемоорганотрофи. Чувствителни са към pH стойности под 6.0. Растат при температури 20 – 40°C. Обитават почва, води (морски и сладководни), седименти. Няколко вида се откриват в интестиналния тракт на термити и търбуха на овце.

Формирането на пропионата става по два пътя; превръщането на глюкозата се осъществява по гликолитичния обменен път.

1. Сукцинат-пропионатен път. Функционира при повечето пропионовокисели бактерии. Първоначално, пируватът се карбоксилира до оксалоацетат. В реакцията участва биотин, като преносител на CO₂; CO₂ се използва циклично. Оксалоацетатът се превръща в сукцинат. Сукцинатът се активира и декарбоксилира до пропионат (Фиг. 5).



Фиг. 5. Сукцинат-пропионатен път на пропионовокисела ферментация. (1) лактат дехидрогеназа; (2) транскарбоксилаза

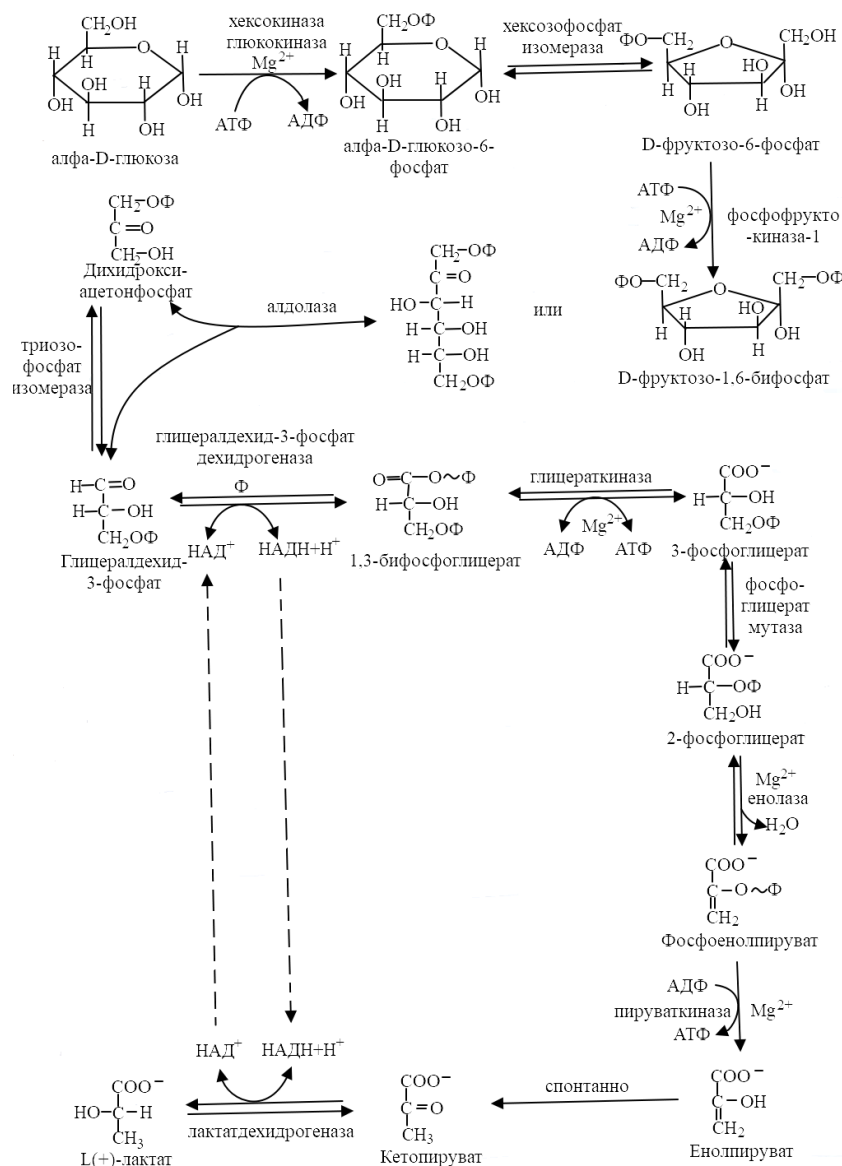
2. Акрилоил-СоА път. Функционира при *Clostridium propionicum*. Междинен продукт е акрилоил-СоА. Субстрат може да бъде L-, D- или DL-лактат, които претърпяват взаимни превръщания под действие на ензима *лактат рацемаза*. Част от млечната киселина се окислява до пируват, от който се получава ацетил-СоА, CO₂ и редуцират фередоксин с ензима *пируват:фередоксин оксидоредуктаза*. Ацетил-СоА се превръща в оцетна киселина. Останалата част от лактата се превръща в лактил-СоА, от който се получава акрилоил-СоА. Следва редукция до пропионил-СоА и освобождаване на пропионат. Донори на електрони са редуцирания флавопротеин и редуцирания фередоксин, получени в другото разклонение на пътя. Крайни продукти в този път са пропионова и оцетна киселини и CO₂.

1. Катаболизъм на въглехидрати

Въглехидратите са най-предпочитаният източник за окислително разграждане, в хода на което организмите получават енергия в използваема форма. Разграждането на въглехидратите протича в два етапа: 1) полизахаридите и олигозахаридите се разграждат до монозахариди; 2) монозахаридите се разграждат до CO_2 и H_2O .

1.1. Анаеробно разграждане на глюкоза – гликолитичен обменен път (гликолиза)

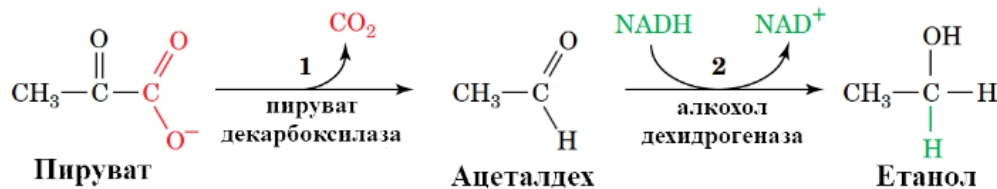
Разграждането на глюкозата (респ. др. монозахариди) в клетката започва в цитоплазмата, при анаеробни условия, по гликолитичния обменен път, наречен гликолиза. В хода на гликолизата, 1 молекула глюкоза се разгражда до 2 молекули пирогроздена киселина (пируват), а отделената енергия се съхранява в макроергични връзки – синтезира се АТФ (Фиг. 1., Г. Косекова – Лекции по биохимия).



Фиг. 1. Реакции в гликолитичната верига.

Разграждането на 1 молекула глюкоза по гликолитичната верига, в анаеробни условия, води до получаване на: 2 молекули пируват + $2\text{H}_2\text{O} + 4\text{ATP}$. От добитата енергия, под формата на АТФ, само 2 молекули АТФ са реален добив, тъй като в подготвителната фаза на гликолизата се изразходват 2 молекули АТФ.

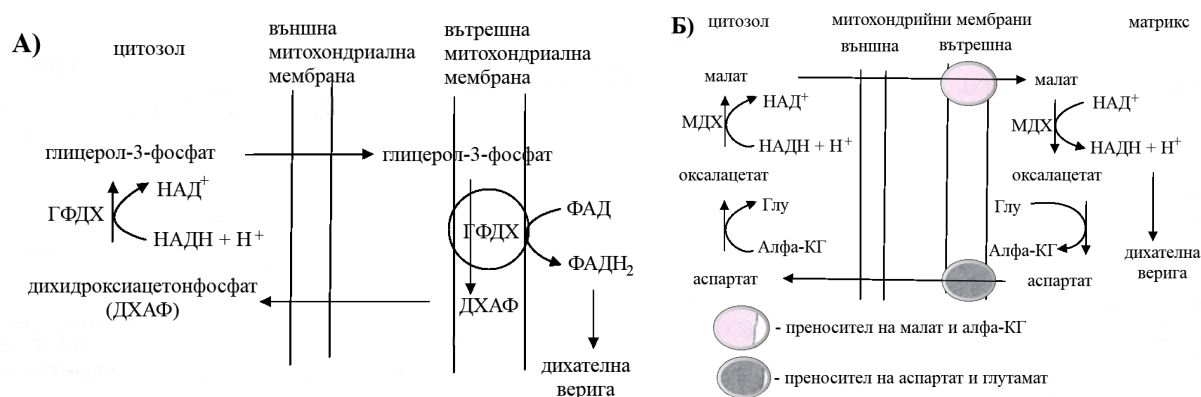
При анаеробни условия, напр. при хлебни дрожди *Saccharomyces cerevisiae*, пируватът се превръща в етанол (алкохолна ферментация) (Фиг. 2. Voet & Voet, 5th Ed.)



Фиг. 2. Анаеробно разграждане на пируват до етанол (алкохолна ферментация).

1.2. Връзки между гликолиза и дихателни вериги

Вътрешната митохондриална мембрана е непропусклива за НАДН и НАДФН, които се отделят в хода на окислителните процеси в цитоплазмата (вкл. гликолизата). Установени са 2 совалкови механизма, осъществяващи преноса на водород от цитоплазмата към митохондриите, където се осъществява транспортирането му по дихателните вериги до кислорода: 1) глицеролфосфатна совалка; 2) малатна совалка (Фиг. 3, Г. Косекова – Лекции по биохимия). При разграждане на 1 молекула глюкоза до 2 молекули пируват по гликолизата (2АТФ) и при използване на глицеролфосфатна совалка (4АТФ) или малатна совалка (6АТФ) се синтезират 6 и съответно 8 молекули АТФ. Глицеролфосфатната совалка действа в скелетните мускули и мозъка, а малатната совалка – в сърдечния мускул, черния дроб и мастната тъкан.

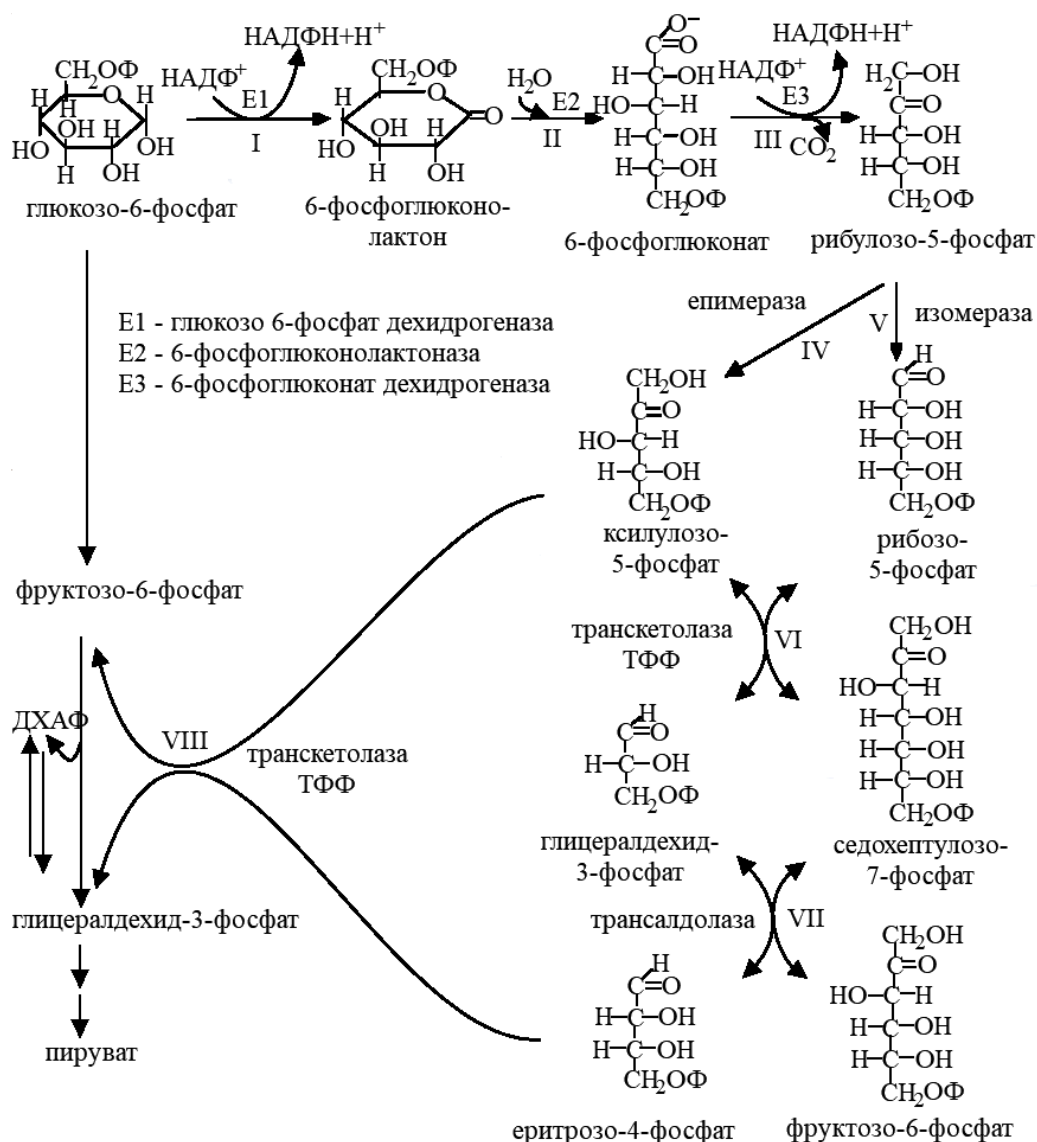


Фиг. 3. Совалкови механизми за пренос на водород от цитоплазмата към дихателните вериги в митохондриите. А) Глицеролфосфатна совалка. Б) Малатна совалка. Съкращения: ГФДХ – глицеролфосфат дехидрогеназа; МДХ – малат дехидрогеназа; Глу – глутамат; α-КГ – α-кетоглутарат.

1.3. Други пътища за разграждане на глюкоза

1.3.1. Пентозофосфатен път (ПФП)

ПФП протича в цитоплазмата при анаеробни условия и се отклонява от гликолизата на нивото на глюкозо-6-фосфат. Отново се влива в гликолизата на нивото на фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат. В хода на ПФП се получава НАДФН, който е необходим за синтезните процеси. Получава се рибозо-5-фосфат, който се използва в биосинтеза на нуклеотиди, а от тях и на нуклеинови киселини. Полученият глицералдехид-3-фосфат се използва за получаване на глицерол-3-фосфат в мастна тъкан за синтеза на триацилглицероли (Фиг. 4, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

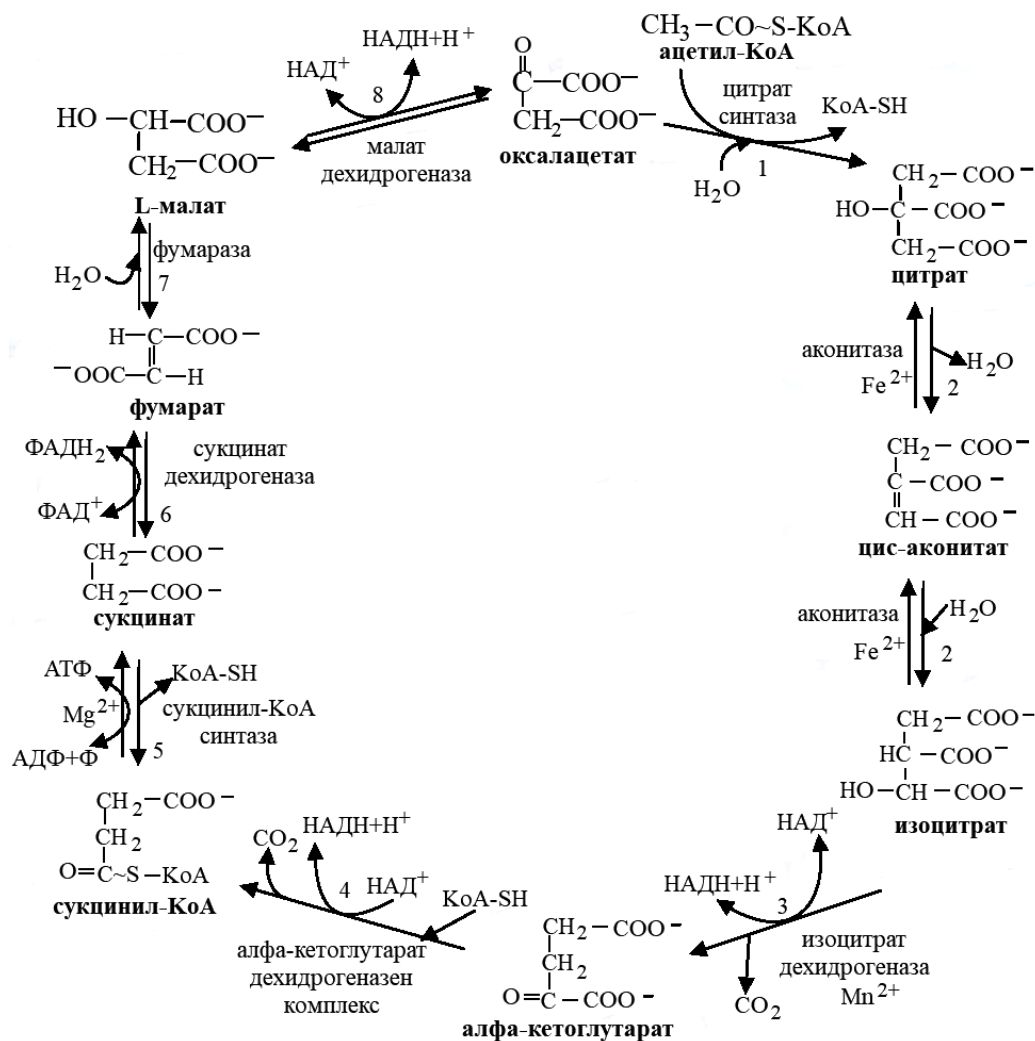


Фиг. 4. Пентозофосфатен път, в който 3 молекули глюкозо-6-фосфат се превръщат в 3 CO_2 , 2 фруктозо-6-фосфат и 1 глицералдеhid-3-фосфат. Вляво вертикално е представена схематично гликолизата. В реакции VI и VIII, катализирани от транскетолаза, се пренасят C_2 -фрагменти. C_3 -фрагмент се пренася от трансалдолазата в реакция VII.

Ензими: I – глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа; II – лактоназа; III – 6-фосфоглюконат дехидрогеназа; IV – епимераза; V – изомераза; VI – транскетолаза; VII – трансалдолаза; VIII – транскетолаза.

1.2. Цитратен цикъл (цикъл на Кребс).

Серия от реакции, катализирани от осем ензима, които разграждат ацетиловата група на ацетил-КоА до CO_2 и H_2O (**Фиг. 5, Г. Косекова – Лекции по биохимия**). Протича в митохондриалния матрикс при аеробни условия. Главен източник на АТФ – отделя се водород от отделните метаболити, който се поема от НАД и ФАД и се подава към дихателните вериги – синтезира се АТФ. Главен катаболитен път за разграждане на въглехидрати, мазнини и белтъци. Цикълът на Кребс е тясно свързан и с анаболитните процеси – от негови метаболити започват важни синтезни пътища.



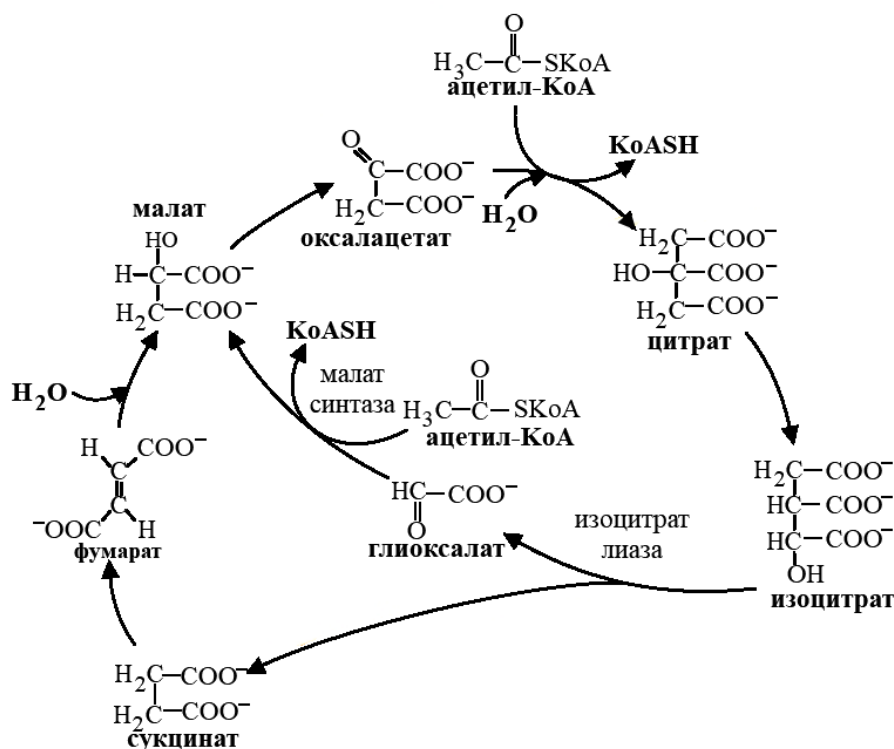
Фиг. 5. Реакции на цитратен цикъл. 1 – Кондензация на оксалацетат и ацетил-КоА до цитрат; 2 – превръщане на цитрат в изоцитрат; 3 – окислително декарбоксилиране на изоцитрат (като β -хидроксикиселина) до α -кетоглутарат; 4 – окислително декарбоксилиране на α -кетоглутарат (като α -кетокиселина) до сукцинил-КоА; 5 – енергията на тиоестерната макроергична връзка на сукцинил-КоА се пренася върху АДФ и се получава сукцинат и АТФ на субстратно ниво; 6 – Дехидрогениране на сукцинат до фумарат; 7 – хидратиране на фумарат до малат; 8 – дехидрогениране на малат до оксалацетат.

Енергиен добив от цитратния цикъл. От разграждането на 1 молекула ацетил-КоА в цикъла на Кребс се получават 12 молекули АТФ. От 1 молекула глюкоза се получават 2 молекули ацетил-КоА, от които се синтезират 24 молекули АТФ в комбинацията цикъл на Кребс + дишателни вериги.

Енергиен добив при анаеробно и аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза до CO_2 и H_2O : гликолиза (2 молекули АТФ) + совалкови механизми за пренос на редуциращи еквиваленти (6/4 молекули АТФ) + окислително декарбоксилиране на пируват до ацетил-КоА (6 молекули АТФ) + цикъл на Кребс (24 молекули АТФ) = 38/36 молекули АТФ.

1.3. Глиоксалатен цикъл

Представлява скъсен вариант на цикъла на Кребс. Характерен за някои микроорганизми и растения. При еукариотните организми е локализиран в специализирани цитоплазмени органели – глиоксисоми. От включени в цикъла 2 молекули ацетил-КоА се синтезира оксалацетат или негов предшественик от цитратния цикъл – малат, фумарат или сукцинат. Не се отделя CO_2 (не се разгражда органично съединение), но има окислителни стъпала – печели се енергия (макар и по-малко). Има синтетично значение – получения оксалацетат респ. малат да се използват за синтез на въглехидрати; да се синтезират аминокиселини. Използва се от микроорганизми и прорастващи растения за превръщане на мазнини във въглехидрати и в аминокиселини (белтъци) (Фиг. 6. Г. Косева – Лекции по биохимия).



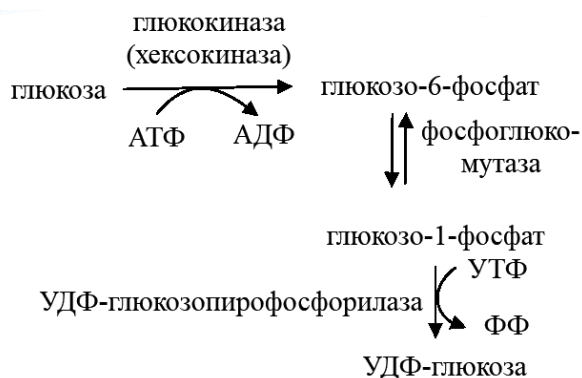
Фиг. 6. Глиоксалатен цикъл

2. Биосинтез на олиго- и полизахариди

Олигозахаридите са най-често междинен продукт от разграждането и/или биосинтезата на полизахаридите. Под действие на α -амилаза, вътрешните α -1,4-гликозидни връзки в хомополизахаридите скорбяла и гликоген биват хидролизирани до получаване на смес от малтоолигозахариди с разклонена структура. Под действие на α -1,6-глюкозидаза, биват хидролизирани α -1,6-разклоненията в скорбялата и гликогена.

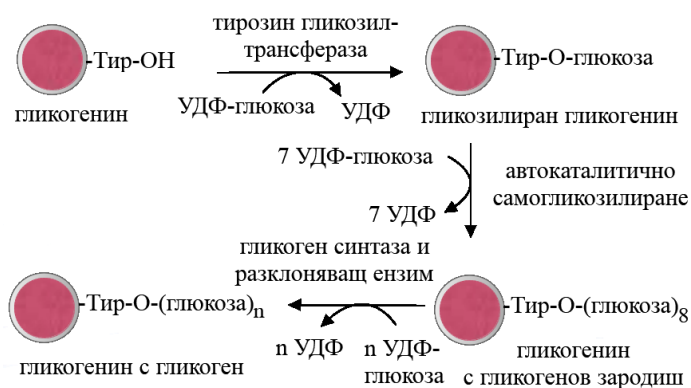
2.1. Биосинтез на гликоген.

Синтезата на гликоген започва с активиране на глюкозата до УДФ-глюкоза. Хексокиназа в мускулите и глюकोкиназа в черния дроб фосфорилират глюкозата до глюкозо-6-фосфат (Фиг. 7. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



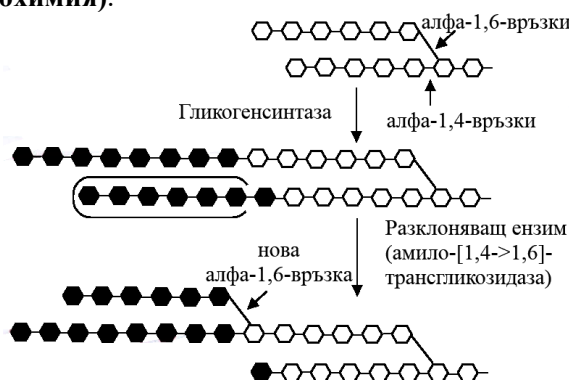
Фиг. 7. Активиране на глюкоза до УДФ-глюкоза при синтезата на гликоген.

За синтезата на гликоген е нужен зародиш от поне 7 глюкозни остатъка, свързани с α -1,4-гликозидни връзки. Той се образува с участието на ензимите тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин (автогликозилиращ се ензим) (Фиг. 8. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



Фиг. 8. Образуване на глицогенов зародиш (праймер), с участието на тирозин гликозилтрансфераза и глицогенин.

Полученият къс фрагмент е зародишът, необходим за действие на глицоген синтазата. Тя удължава веригата, добавяйки един по един глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, образувайки α -1,4-гликозидни връзки (Фиг. 9. Г. Косекова – Лекции по биохимия).

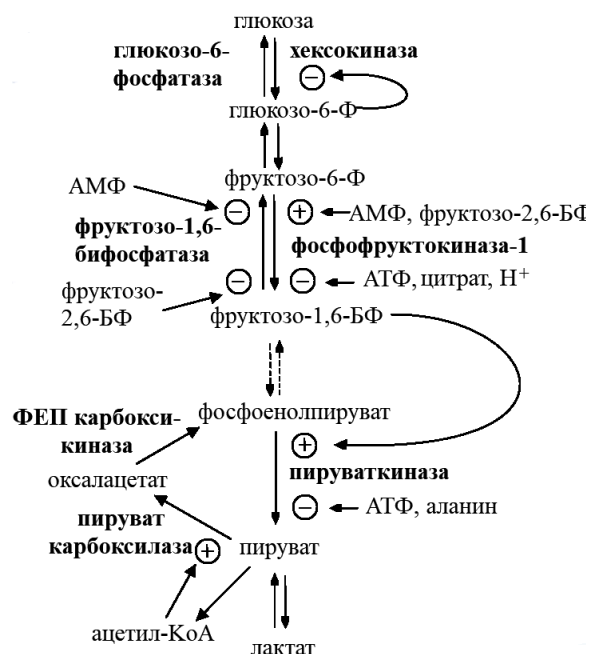


Фиг. 9. Действие на глицоген синтаза за удължаване на веригата и на амило-(1,4->1,6)-трансгликозидаза за разклоняване на веригата. Синтазата прехвърля глюкозни остатъци (един по един) от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, а разклоняващият ензим прехвърля фрагмент от 7 остатъка от главната верига към -ОН група на 6-о място в глюкозен остатък от същата или друга верига.

3. Регулация на въглехидратния метаболизъм

3.1. Регулация на гликолиза и глюконеогенеза

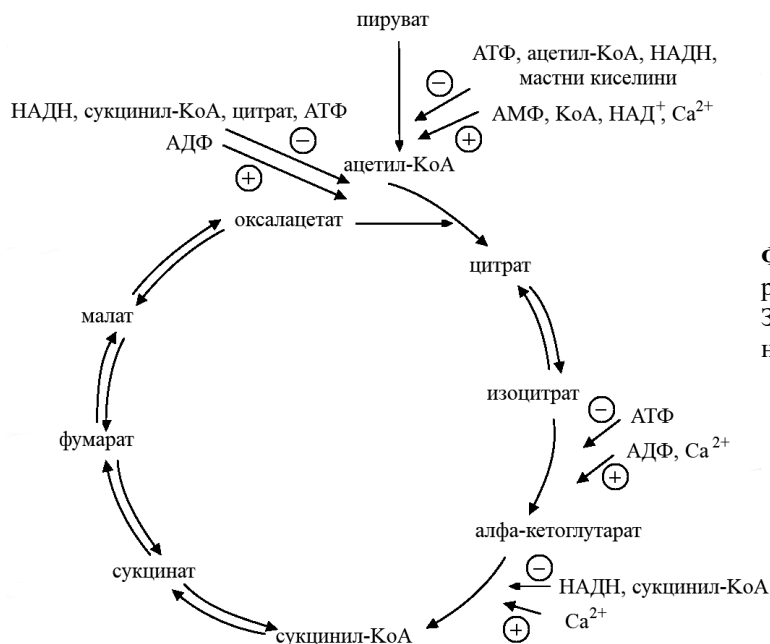
Гликолизата и глюконеогенезата не протичат едновременно, а се регулират реципрочно, в зависимост от нуждите на организма. Регулаторни ензими за глюконеогенеза са: пируват карбоксилаза, ФЕП карбоксикиназа, фруктозо-1,6-бифосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза (Фиг. 10, Г. Косекова – Лекции по биохимия). Катализираните реакции са екзергонични и необратими. Най-важният регулаторен ензим при глюконеогенезата е фруктозо-1,6-бифосфатазата – инхибира се алостерично от фруктозо-2,6-бифосфат, който активира фосфофруктокиназа-1 от гликолизата. Балансът между гликолиза и глюконеогенезата е под хормонален контрол. В черния дроб, при ниско ниво на глюкоза, глюкагонът стимулира образуване на АМФ, който активира протеин киназа А да фосфорилира фосфофруктокиназа-2 (инактивиране) и фруктозо-2,6-бифосфатаза (активиране). Това инактивира фосфофруктокиназа-1 и активира фруктозо-1,6-бифосфатаза. Това измества равновесието в полза на глюконеогенезата. Високо ниво на глюкоза намалява концентрацията на цАМФ, увеличава концентрацията на фруктозо-2,6-бифосфат и това стимулира гликолизата.



Фиг. 10. Регулация на глюконеогенезата и гликолиза.

3.2. Регуляция на цикъла на Кребс

В цикъла на Кребс има 3 регулаторни ензима: цитрат синтаза, изоцитрат дехидрогеназа, α -кетоглутарат дехидрогеназен комплекс. Значение има и пируват дехидрогеназния комплекс (ПДХК), който доставя ацетил-КоА (Фиг. 11, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

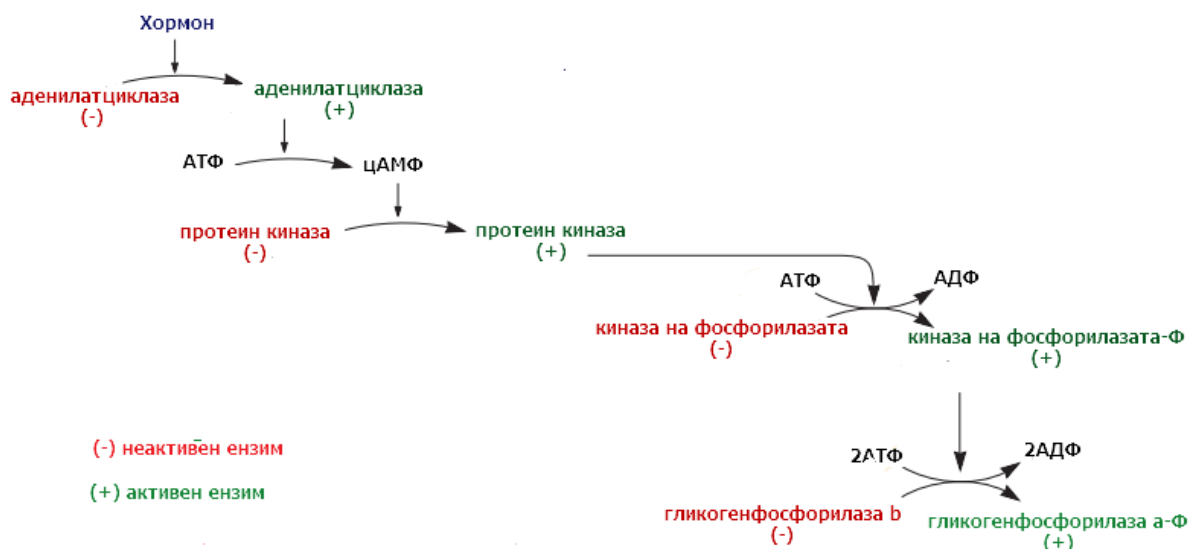


Фиг. 11. Регуляция на пируват дехидрогеназен комплекс и цитратен цикъл. Знакът плус показва активиране, а минусовият знак – инхибиране.

ПДХК се инхибира алостерично от висока концентрация АТФ, НАДН и ацетил-КоА – показател за наличие на енергия и субстрати. АМФ, КоА и НАД⁺ активират алостерично ПДХК. Интезитетът на цитратния цикъл намалява при недостиг на субстратите (оксалацетат и ацетил-КоА) или НАД⁺. Сукцинил-КоА, АТФ и цитрат са алостерични инхибитори на началните реакции на цикъла. Калциевите йони сигнализируют мускулно съкращение и стимулират окислителните реакции, доставящи енергия в използваем вид.

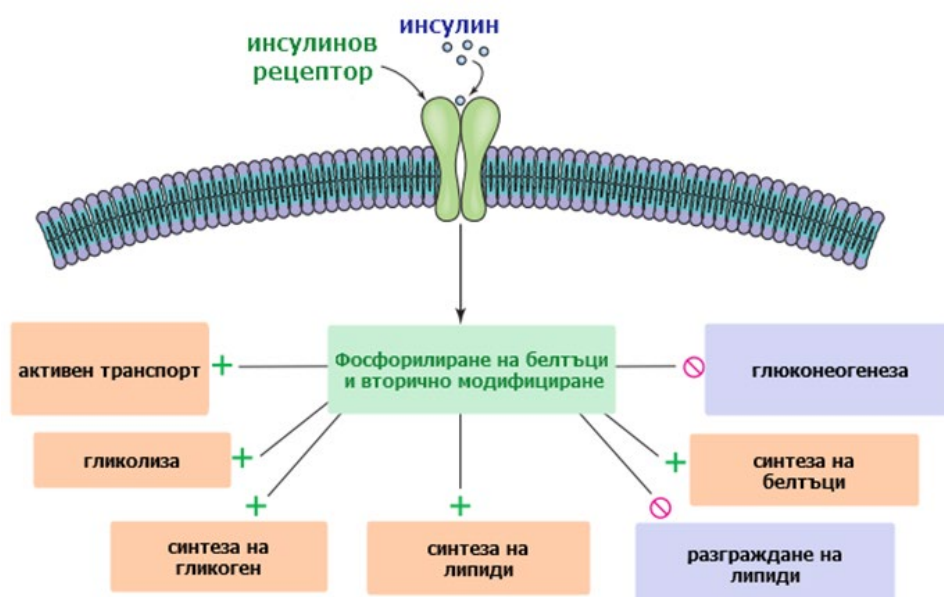
3.3. Регуляция на гликогеновия метаболизъм

Глюкагон и епинефрин (адреналин) стимулират разграждането на гликогена (гликогенолиза) – епинефрин активира гликогенолизата в черния дроб и в мускулите. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата, водеща до разграждането на гликогена (Фиг. 12, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 12. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата.

Инсулинът стимулира синтеза на гликоген, чрез активиране на фосфопротеин фосфатаза, която дефосфорилира гликоген синтаза b (неактивна) и я превръща в активна форма (гликоген синтаза a) (Фиг. 14, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 13. Ефекти на инсулина върху гликогеновия метаболизъм и ковалентното модифициране на регулаторни ензими.

Динамичното състояние на белтъците в организма е свързано с процеси на непрекъснато разграждане. При животните и човека, разграждането на белтъците има и смилателна стойност – постъпващите с храната белтъци се разграждат до α -аминокиселини (АК), които се усвояват от организма. Разграждането на белтъците е хидролитно – извършва се от протеолитични ензими, наречени пептидхидролази (протеази), които хидролизират пептидните връзки, при което се получават по-къси белтъчни фрагменти (пептиди) и свободни аминокиселини. Протеази се синтезират от всички живи организми, като изпълняват разнообразни функции – храносмилателна, защитна, регулаторна и др. Според мястото си на действие в полипептидната верига, протеазите се разделят на две основни групи ендопептидази и екзопептидази. Ендопептидазите хидролизират връзки във вътрешността на полипептидната верига, като повечето от тях проявяват специфичност по отношение на аминокиселините, участващи в образуването на пептидната връзка (трипсин, химотрипсин, пепсин, ренин, тромбин, плазмин, еластаза, колагеназа, кератиназа, протеази с растителен произход, като папаин, химопапаин, фицин, бромелин, както и някои микробни протеази).

Пепсин, трипсин, химотрипсин и ренин са смилателни ендопептидази при животинските организми. Те се отделят извън клетката и действат в средата или в кухината на храносмилателния тракт. Тези ензими се синтезират в клетките в неактивна форма – като преензими или зимогени и се активират извън клетките. Това е защитен акт на организма срещу нежелано вътреклетъчно действие. Активирането се състои в отделяне на части от полипептидната верига, които блокират активния център.

Екзопептидазите хидролизират крайни пептидни връзки в полипептидната верига, което води до освобождаване на аминокиселини и дипептиди. Разделят се на: карбоксипептидази – отделят АК със свободна карбоксилна група от С-края на полипептидната верига и аминопептидази – отделят АК със свободна amino група от N-края на полипептидната верига.

Хидролизното разграждане на белтъците води до получаване на 20 α -АК, които се подлагат на разграждане (катаболизъм).

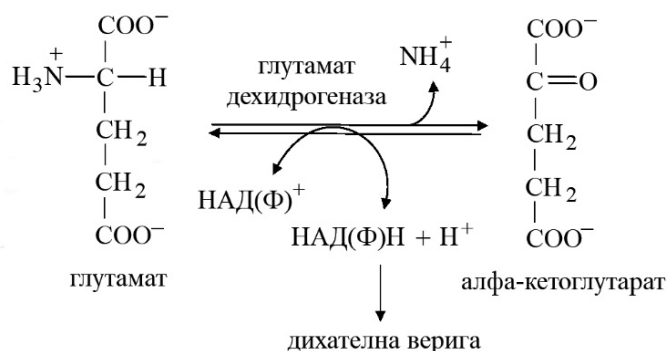
Катаболизъм на α -аминокиселини

Разграждането на аминокиселините започва с отделяне на amino групата.

Дезаминиране на АК – отделяне на amino групата от АК като амоняк.

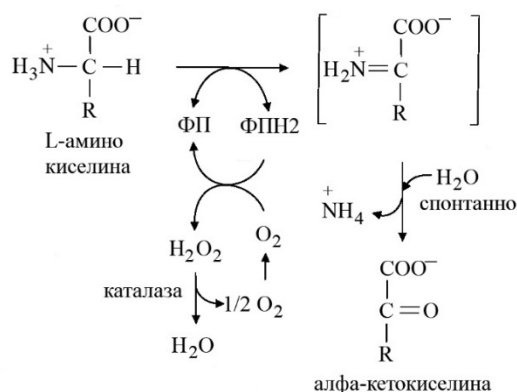
Окислително дезаминиране

Единствено глутаматът се дезаминира окислително с ензима глутамат дехидрогеназа, която пренася отделения водород върху НАД, който се редуцира и по дихателната верига се синтезират теоретично 3 молекули АТФ. Азотът се отделя като амониев йон. (Фиг. 1)



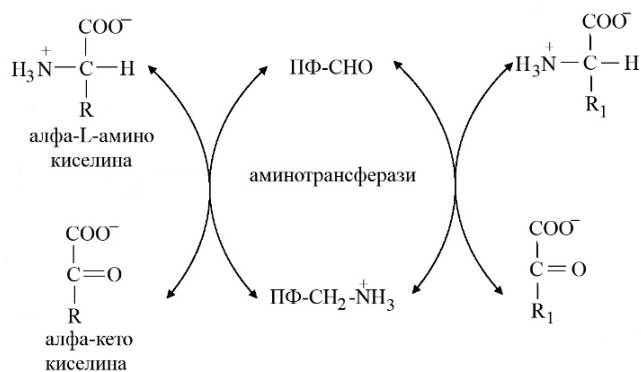
Фигура 1. Окислително дезаминиране на глутамат под действие на ензима глутамат дехидрогеназа. (Косекова Г. и съавт., 2010)

С изключение на глутамат, всички останали АК се дехидрогенират от ензими, свързани с флавинова редокс-система, която е свързана с аеробни дехидрогенази и отдава водорода директно на кислорода с образуване на водороден пероксид H₂O₂ – процес, при който не се печели енергия. Ензимите, които катализират този процес се наричат аминooksидази (Фиг. 2)



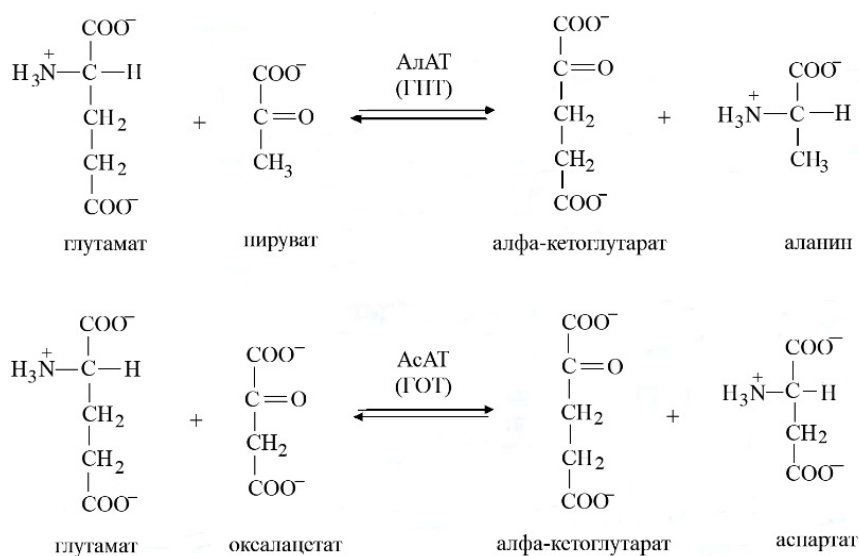
Фигура 2. Окислително дезаминиране на L-аминокиселини. (Косекова Г. и съавт., 2010)

Трансаминиране на АК – прехвърляне на амино група от една АК към кетокиселина, при което АК се превръща в кетокиселина, а кетокиселината в аминокиселина. Широко застъпен процес в животински организми и микроорганизми. Ензимите, които катализират този процес са аминотрансферази, които действат с коензим пиридоксал фосфат (ПФ). (Фиг. 3)



Фигура 3. Трансаминиране на аминокиселина и кетокиселина под действие на аминотрансферази с кофактори пиридоксал фосфат (ПФ-CHO) и пиридоксаминфосфат (ПФ-CH₂-NH₃⁺). (Косекова Г. и съавт., 2010)

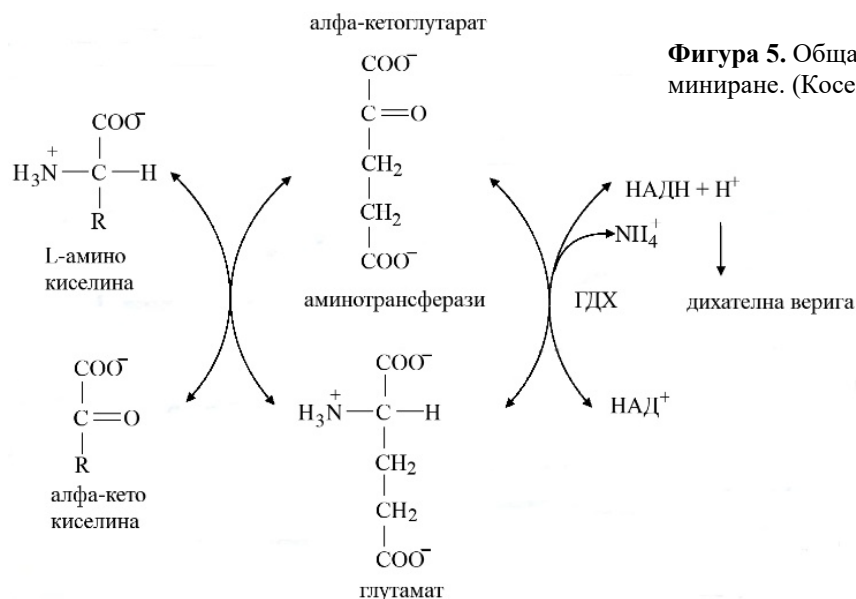
Като примери се представят реакциите, катализирани от аланин аминотрансферазата (АлАТ) и аспартат аминотрансфераза (АсАТ). Амино групата на глутамата се прехвърля към кетокиселината пируват. При отделяне на амино групата, глутаматът се превръща в α-кетоглутарат. Прехвърлянето на аминокиселината към пируват води до получаване на аминокиселината аланин. Тази реакция се катализира от аланин аминотрансферазата. Аспартат аминотрансферазата катализира прехвърляне на амино групата от глутамат към кетокиселината оксалацетат, който се превръща в аминокиселината аспартат. (Фиг. 4)



Фигура 4. Реакции, катализирани от аланин аминотрансферазата (АлАТ) и аспартат аминотрансфераза (АсАТ). (Косекова Г. и съавт., 2010)

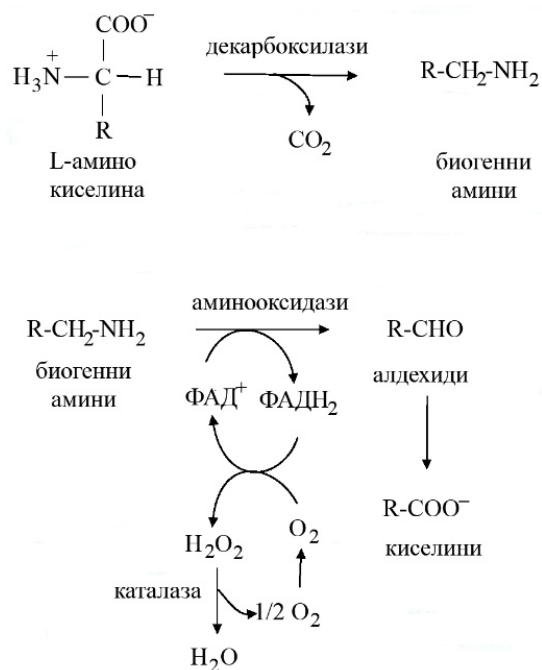
При трансаминирането аминогрупите не се отделят като амоняк, но процесът има значение за превръщането на кетокиселините (продукти от въглехидратната обмяна) в АК и обратно т.е. осъществява се връзка между обменните пътища на белтъци и въглехидрати. Чрез трансаминирането се регулира в качествено отношение АК резервоар в клетките в зависимост от нуждите на белтъчната биосинтеза.

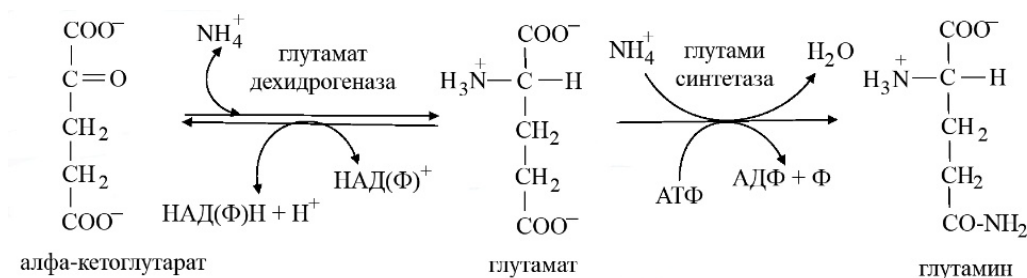
Трансдезаминиране на АК – комбинация между трансаминиране и окислително дезаминиране на глутамат, който е единствената АК, дезаминираща се с енергетичен добив. Ако АК се трансаминира с α -кетоглутарат ще се получат различни кетокиселини и глутамат. Глутаматът се подлага на окислително дезаминиране, отделя се амоняк и отново се превръща в α -кетоглутарат, с което се затваря кръгов процес. Така се осигурява бързо и лесно дезаминиране на всички АК. (Фиг. 5)



Декарбоксилиране на АК – отделяне на CO_2 от АК. Процесът се катализира от декарбоксилази. Страничен обменен път за АК при растенията и животинските организми. При микроорганизмите декарбоксилирането на АК е широко застъпен процес и обикновено доминира над дезаминирането като главен обменен път. Получават се амини, които в малки количества упражняват физиологични и фармакологични ефекти върху организмите и се наричат биогенни амини. Отстраняването на биогенните амини от клетките включва окислително им дезаминиране до алдехиди. Процесът се катализира от аминooksидази, които действат с ФАД и в резултат на дехидрогенирането се получава H_2O_2 . Получените алдехиди се окисляват до карбоксилни киселини, които се включват в катаболитните пътища на мастните киселини. (Фиг. 6).

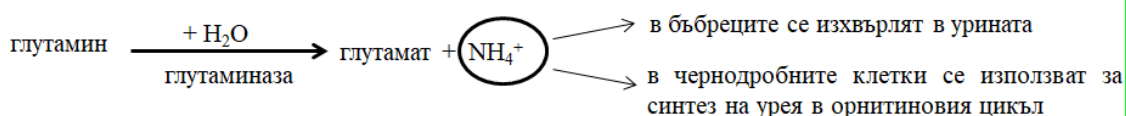
Обезвреждане на токсичния амоняк, отделен при разграждане на аминокиселините става чрез свързването му в използвана и нетоксична форма. Това става чрез редукивно аминиране на α -кетоглутарат и синтез на глутамин (Фиг. 7). Глутаминът се синтезира в мозъка и други тъкани. Тази аминокиселина е транспортна форма на включения в нея амоняк.





Фигура 7. Редуктивно аминирание на α -кетоглутарат и синтез на глутамин. (Косекова Г. и съавт., 2010)

Глутаминът лесно преминава през мембрани, тъй като е незареден и е източник на безвреден амониак, който може да се използва за различни синтези. По кръвен път се пренася до черния дроб, бъбреци и други тъкани. Под действие на ензима глутаминаза, глутамин се разгражда хидролитно до глутамат и амониев йон:



Разграждане въглеродния скелет на аминокиселините

В зависимост от това до какви метаболити се разграждат АК, се разделят на гликогенни, кетогенни и смесени (Фиг. 8).

Гликогенни АК – при разграждане се превръщат в предшественици на глюкозата (пируват, оксалацетат, α -кетоглутарат, фумарат, сукцинил-КоА).

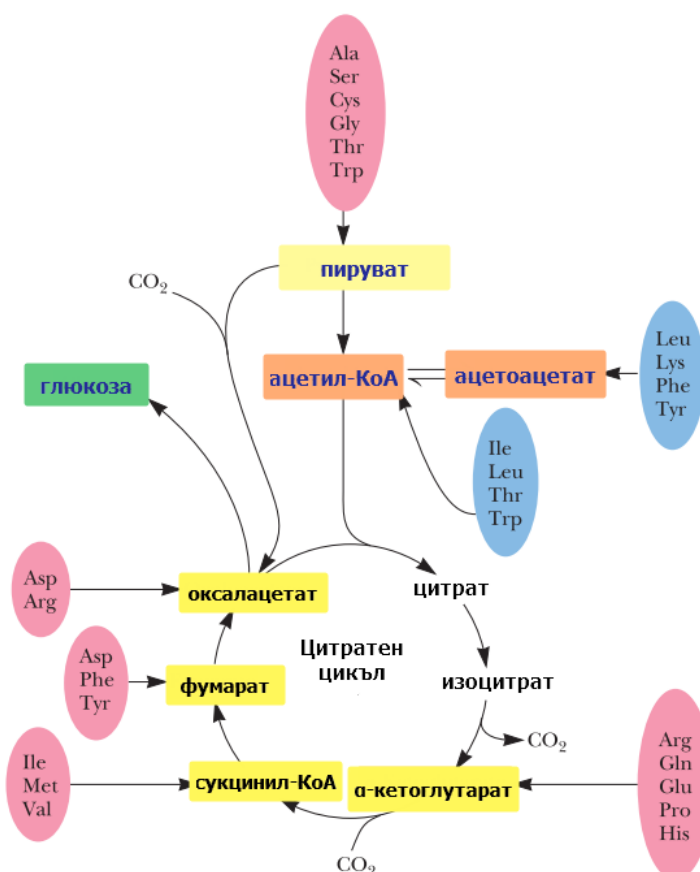
Кетогенни АК – при разграждане се превръщат в ацетоацетат, ацетил-КоА, ацетоацетил-КоА

Смесени АК – при разграждането им може да се получат както предшественици на глюкозата, така и на кетоновите тела.

Основни закономерности при разграждане на аминокиселини

Азотът на АК се отделя като амониак, а при аргинин се отделя като урея (карбамид). Съдържащите сяра АК губят свързаната сяра чрез пренасяне (при метионин), отделяне в неокислена форма (сулфид) или в окислена форма (сулфит). Въглеродните скелети на АК чрез различни реакции се включват в основните катаболитни пътища – гликолиза или цикъл на Кребс.

Някои АК достигат до две от посочените места, защото имат различни пътища на разграждане или при своя път на разграждане дават два различни продукта. Повечето АК дават отклонения от основните пътища за разграждане, което води до различни крайни продукти, някои от

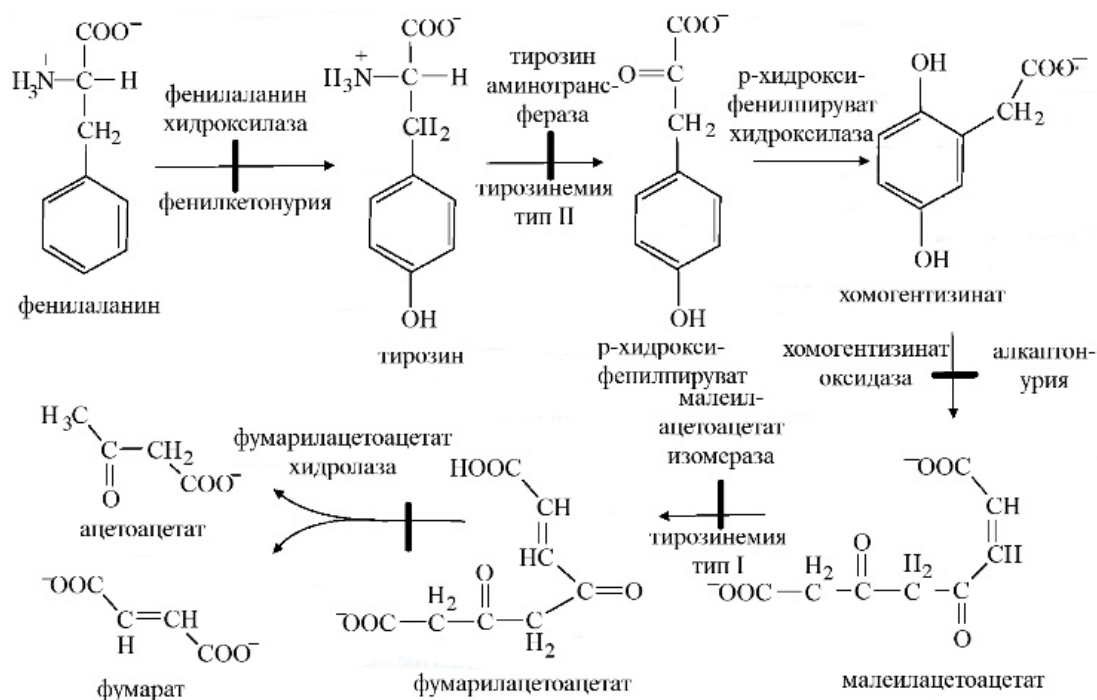


Фигура 8. Обобщена схема за разграждане на гликогенни аминокиселини и кетогенни аминокиселини. (R. Garrett & C. Grisham, 2010)

които имат специфично биологично действие. При някои от тези отклонения АК се превръщат една в друга. При разграждане на някои АК се отделят едновъглеродни групи: формилни ($-\text{CHO}$), формиминни ($-\text{CH}=\text{NH}$), хидроксиметилни ($-\text{CH}_2\text{OH}$), метилни (CH_3), които чрез трансферни процеси вземат участие в синтеза на важни от биологична гледна точка метаболити. Като преносител на тези групи се явява кофакторът тетрахидрофолиева киселина (ФКН4), която се получава от фолиева киселина (ФК). С ензимния белтък (специфични трансферази) ФКН4 се свързва посредством ковалентна връзка. В образуването на връзката взема участие карбоксилната група на глутаминовата киселина от кофактора.

Като пример се представя разграждане на фенилаланин и тирозин.

Нормалният път за разграждане на фенилаланин в тъканите е хидроксилирането му до тирозин – реакцията се катализира от фенилаланин хидроксилаза. (Представя се реакцията, Фиг.8-20, стр. 279) При недостатъчност на някои от ензимите, необходими за разграждането на тези две аминокиселини се развиват някои заболявания. При невъзможност да се хидроксилира, фенилаланинът се дезаминира до фенилпируват, който със своите производни фениллактат и фенилацетат се натрупват като крайни продукти – при деца това води до нарушаване на умственото развитие. Тирозинът може да се включи в синтеза на важни от биологична гледна точка съединения: хормони на щитовидната жлеза; хормона на сърцевината на надбъбречните жлези – адреналин; меланин – кожен пигмент или да се декарбоксилира до биогенния амин тирамин. (Фиг. 9)

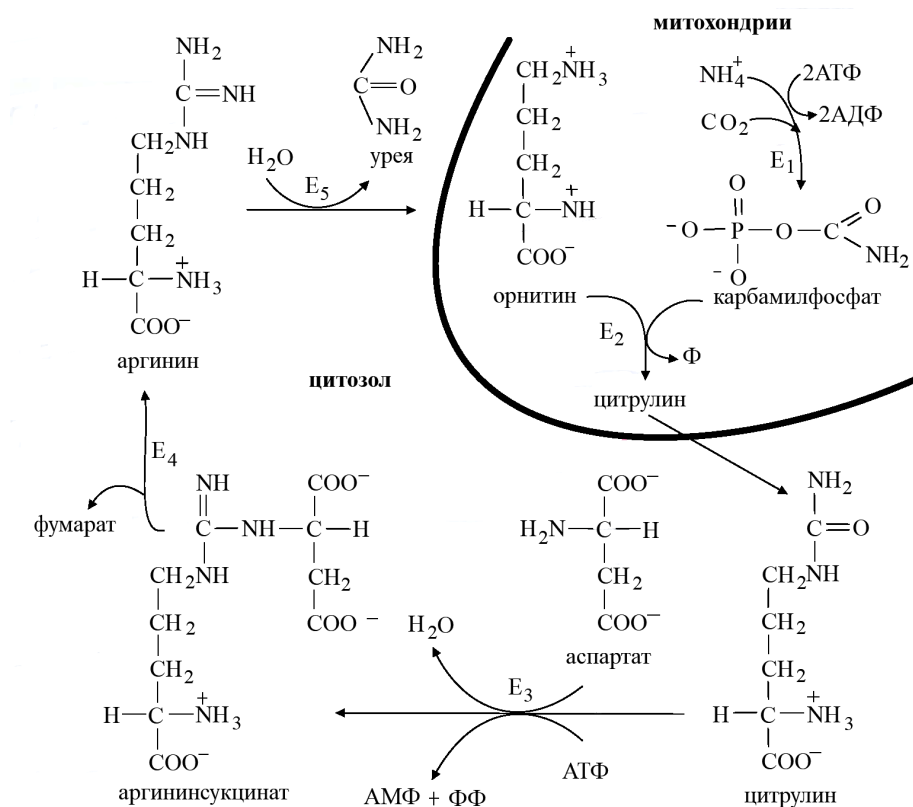


Фигура 9. Разграждане на фенилаланин и тирозин (Коскова Г. и съавт., 2010)

Крайно обезвреждане на амониак в уреен (орнитинов) цикъл

Орнитиновият цикъл протича в чернодробните клетки – част от реакциите протичат в митохондриите, а друга част в цитозола. В този обменен път се извършва крайно обезвреждане на токсичния амониак до урея. Уреята се синтезира от амониак, CO_2 и азота от α -аминогрупата на аспартат. За получаване на 1 молекула безвредна урея в урейния цикъл се изразходват 3 молекули АТФ. Уреята е крайния продукт на азотния катаболизъм при човека (при човека липсва ензима уреаза, който разгражда уреята до CO_2 и 2NH_3). (Фиг. 10)

Орнитиновият цикъл е свързан с цикъла на Кребс (цитратен цикъл) чрез обмен на метаболити и енергия. Цикълът на Кребс доставя на урейния цикъл необходимите CO_2 и АТФ. Полученият фумарат в урейния цикъл, в митохондриите може да се включи в цикъла на Кребс и да се превърне в оксалацетат, който чрез трансаминиране да се превърне в аспартат (необходим за урейния цикъл).



Фигура 10. Орнитинов (уреев) цикъл. Ензими, катализиращи отделните реакции: E1-карбамилфосфат синтететаза; E2 – орнитин транскарбамилаза; E3 – аргининосукцинат синтететаза; E4 – аргининосукциназа; E5 – аргиназа. (Косекова Г. и съавт., 2010)

Специфични структури и биологично-активни вещества в растителните клетки

Растителната клетка представлява основна структурна и функционална единица, която може да бъде отделен организъм (при едноклетъчните водорасли) или част от многоклетъчен организъм. В нея са съсредоточени всички прояви на живота – растеж, дразнимост, дишане, обмяна на веществата, възпроизвеждане и т. н.

Специфични за растителната клетка органели са клетъчната стена, пластидите, вакуолата и включенията.

Клетъчна стена

При еукариотните водорасли клетките са обхванати от разнообразни обвивки – пеликула, перипласт, броня, покривало. При различните таксономични групи водорасли тези обвивки имат разнообразен химичен състав, структура и ултраструктура.

При кормусните растения клетъчната обвивка се нарича клетъчна стена и изпълнява опорна и механична функция. Разположена е над плазмалемата и достига средна дебелина до няколко μm . Изградена е от скелетни вещества и аморфен матрикс (представлява гелообразна маса от пектинови вещества и хемицелулози). Скелетните вещества са най-вече целулоза, организирана в микрофибрили и потопени в матрикса. По структура клетъчната стена е съставена от средна пластинка, първична и вторична стена със слоеве.

Клетъчната стена може да промени химичната си природа като: *вдървява* (чрез отлагане на лигнин), *вкорковява* (чрез отлагане на суберин), *минерализира се* (отлагане на CaCO_3), *ослизнява се* (благодарение на хидрофилността на пектиновите вещества в стената). Химическите промени водят до надебеляване на стената – формиране на вторична клетъчна стена. По стената винаги остават пори, през които минават части от ендоплазмената мрежа, обвити с хиалоплазма – това са плазмодезмите. По този начин чрез плазмодезмите се осъществява постоянна обмяна и свързаност на съседните клетки.

Пластиди

Пластидите представляват двумембранни органели, които осъществяват храненето на растенията. При кормусните растения се срещат във всички органи – лист, стъбло, корен, цвят, плод. Основната маса, която изпълва вътрешността им се нарича *строма* (*матрикс*) – с белтъчно-липидна природа. Пластидите са отграничени от цитоплазмата чрез *външна биомембрана*. *Вътрешната биомембрана* образува структурирана вътрешномембранна система – *тилакоидна система*. При висшите растения има силно развита система от два типа тилакоиди: *тилакоиди на граните* (къси и плътни) и *тилакоиди на стромата* (дълги и рехави). Особеностите в ултраструктурата на пластидите имат важно таксономично значение. Пластидите са *полуавтономни органели* – съдържат ДНК. Тя съдържа част от информацията, необходима за синтеза на пластидните белтъци.

В зависимост от баграта (респективно функцията) си, пластидите се разделят на *хлоропласти* (зелени), *хромoplastи* (жълто-червени) и *левкопласти* (безцветни).

Вакуола и клетъчен сок

В растителната клетка вакуолата може да заеме до 90% от клетъчния обем. Тя е отделена от цитоплазмата чрез единична мембрана, наречена тонопласт. Като основен резервоар за вода, вакуолата поддържа тургура на растителната клетка. Съдържимото на вакуолата се нарича клетъчен сок. Клетъчният сок съдържа неорганични йони, K и Ca, Cl, NO, PO, въглехидрати (моно- и дизахариди, а при някои растения и полизахариди), органични киселини (малат, оксалова киселина, лимонена киселина), аминокиселини, багрила (антоциан, беталаин), танини, алкалоиди, глюкозиди и фитохормони, хидролитични ензими (протеинази, гликозидази).

Въглехидратите в клетъчния сок са под формата на моно-, ди- и полизахариди. Монозахаридите (глюкоза и фруктоза) са застъпени при гроздето, крушата, ягодата, морковата и др. Дизахаридите (захароза) се срещат в плодовете на динята и пъпеша; семената на ореха, фъстъка, граха;

в стъблата на захарната тръстика; кореноплода на захарното цвекло и др. Полизахариди (инулин) има в корените на гергината и синята жлъчка; в грудките на земната ябълка.

Глюкозидите са група растителни органични вещества, състоящи се от съединения на захари (глюкони) със съответни алкохоли, феноли, алдехиди (агликони). Съдържанието им в растителния клетъчен сок достига до 20%. Те биват етеричномаслени – съдържат като аглюкон етерични масла (ванилията, тютюна и др.); сърдечнодействащи – дигиталин (напръстник); цианогенни – съдържат силно отровния цианогенен гликозид амигдалин (при семената на горчивия бадем, кайсията); серни гликозиди – при разпадане образуват силно парливо, сяросъдържащо масло, имат антимикробно действие (хрян, ряпа); багрилни гликозиди – антоциани (придават червен до син цвят), антохлори (флавонови) – жълт до оранжев цвят, антофеин – кафяв.

Органичните киселини са в свободно състояние или под формата на разтворими соли. Те придават кисела реакция на клетъчния сок и кисел вкус на частите на растението, в които се съдържат. Най-често срещани са оксалова киселина, ябълчна киселина, винена киселина и лимонена киселина.

Алкалоидите са органични азотсъдържащи съединения. Те са отпадъчни продукти от белтъчната обмяна. Имат горчив вкус и са отровни. Известни са над 2000 вида – морфин, кофеин, атропин, папаверин, теобромин и др.

Млечният сок изпълва вакуолите на млечните цеви. Има различен химичен състав за отделните видове. Той е безцветен (при черницата, копривата, конопа), бял (при млечката, глухарчето, смокинята) или оранжево-жълт (при змийското мляко).

Включения

Включенията са продукти от жизнената дейност на клетката. Те са органични и неорганични съединения. Представяват запасни или екскреторни (отпадъчни) вещества. Към групата включения, временно изведени от обмяната на веществата, се отнасят скорбелните зърна, липидните капки и алейроновите зърна. Втората група отложения – с крайни продукти от обмяната, включва оксалатни кристали, етерични масла и балсами. Една част от включенията са течни, а други са твърди (зърна, кристали). Скорбелните зърна в растенията са с кристална структура и имат различна форма и размери. Образоването на скорбелните зърна започва в определена точка на стромата на пластида, наречена образувателен център (хил). Скорбелните зърна нарастват, като около центровете им се наслагват последователно скорбелни слоеве. Липидните капки са акумулиращи вакуоли, запълнени с мастна емулсия. Натрупват се в хиалоплазмата и в най-голямо количество се срещат в семената на слънчогледа, фъстъка и ореха. Алейронови зърна са белтъчини, които се натрупват във вакуолите на зреещите семена и образуват колоиден разтвор, който след изсъхване образува алейронови зърна – семена на житни и бобови растения, слънчоглед и др. Кристалите са по химичен състав най-често калциеви соли на оксаловата киселина и по-рядко калциев карбонат или силикати. Етеричните масла представляват сложни смеси на терпенови алкохоли, алдехиди, кетони и др. Имат фитонцидно действие и защитна роля. Съдържат се в листата и стъблата на ментата, чубрицата, мащерката, ригана, лайката, лавандулата, и др. Смолите са твърди аморфни вещества, неразтворими във вода, но разтворими в етерични масла. По-известни от тях са таманът, кехлибарът, дъвката и др. Балсамите са смеси от етерични масла и смоли. Те са гъсти и лепкави течности с определена миризма. По-известни са терпентиновото масло, канадският балсам и др.

Отделителни структури при висшите растения

Отделителните структури се класифицират в две големи групи: външни – когато секретираното вещество се отделя навън от растението, и вътрешни – когато секретираното вещество остава вътре в растението.

Външни секреторни структури

Разположени са на повърхността на растението и отделят секрети навън. Към тях се отнасят жлезисти власинки (трихоми), жлезисти полета (осмофори), водни устица (хидатоиди) и нектарници.

Жлезистите власинки са образувания на епидермата. Те са живи и специализирани да отделят секрети (етерични масла, смолисти и слюзести вещества). Отделянето става от една или няколко излъчващи клетки, чийто секрет се отделя в пространството между клетъчната обвивка

и кутикулата на отделящите клетки, която често се разкъсва и секретът излиза навън. При някои секретът се отделя заедно с излъчващата клетка (лудо биле). Жлезистите власинки могат да бъдат главести или люсповидни. Главестите власинки са с една (мушката, индрише и др.) или с няколко излъчващи клетки (четири при домот). Люсповидните (сediaщи) жлезисти власинки се срещат при етеричномаслените растения от сем. Устноцветни. В зависимост от веществата, които отделят, жлезистите власинки са маслени (при сем. Устноцветни, Черничеви, Сложноцветни и др.), смолести (по люспите на презимуващите пъпки на брезата, тополата и др.), водни (по листата на фасула, нахута и др.), парливи (коприва), солни (образуват се при халофитни растения) и др. При насекомоядните растения са обособени външни жлезисти структури, които по тип също са жлезисти трихоми и отделят сок, близък до стомашния (смилаелни жлези).

Осмофорите представляват жлезисти полета, разположени във венчелистчетата или другите части на цвета. Изградени са от няколко реда клетки, които отделят летливи ароматни вещества, на които се дължи ароматът на цветовете при редица растения (нарцис, казанлъшка роза, момина сълза, салеи и др.). Отделянето на секрета става за кратко време и е свързано с изразходването на големи количества запасни вещества.

Хидатодите (водни устица) имат подустна стаичка, рехаво разположена паренхимна тъкан с плътно допрени до нея трахеи, но се различават от другите устица по мъртвите затварящи клетки и по това, че винаги са отворени. Те отделят вода от вътрешността на листата върху повърхността им във вид на капки – процесът се нарича гутация. В отделената вода се съдържат захари, соли и др.

Нектарниците са епидермални клетки или няколко реда клетки, разположени под епидермата, в близост до проводящите тъкани, най-често по цветовете на растенията. Нектарниците отделят вода с разтворени в нея вещества (нектар). Нектарът е гъст, сладък сок, който привлича насекоми опрашители. Той съдържа вода, захари (глюкоза, захароза, фруктоза), слизести вещества и др. Нектарът се отделя навън през клетъчната обвивка и разкъсаната кутикула или през устицата.

Вътрешни секреторни структури

Вътрешните секреторни структури са разположени във вътрешността на растенията в различни техни органи. Те натрупват в себе си отделяните вещества, излъчват ги в специални вместилища или в междуклетъчните пространства. Вътрешните отделителни структури са секреторни клетки, секреторни вместилища, секреторни канали и млечни цеви.

Секреторните клетки се срещат поединично разпръснати между клетките на останалите тъкани, от които се различават по форма. В зависимост от веществата, които съдържат, се различават: етеричномаслени секреторни клетки – в листата на дафиновото дърво, камфоровото дърво, в корените на дилианката, перуниката и др.; слизести клетки – в плодовете на бамята, в корените на медицинската ружа и слеза; танинови клетки – в проводящите снопчета (ликото) на шарения фасул, бяза; кристалоносни клетки (оксалатни) – срещат се в почти всички растения и съдържат прости кристали, друзи или иглести кристали.

Секреторни вместилища и канали се образуват във всички растителни части под формата на кръгли празнини или канали, получени по схизогенен лизигенен начин. При схизогенното формиране жлезистите клетки се раздалечават и образуват празнина, постлана със секреторни клетки. В нея се събира секретираният от клетките вещество. Секретът се отделя периодично. Празнините могат да бъдат кръгли вместилища (жълт кантарион) или канали. Смолести канали се формират в иглолистните растения (бор, смърч), които образуват цяла система в растението. Схизогенни етеричномаслени канали има в растения от сем. Сенникоцветни (магданоз, копър, анасон, целина). Лизигенните вместилища се формират от група излъчващи клетки, които, след като образуват секрета, по ензимен път разтварят (лизират) стените си и съдържимото им се слива в една обща празнина. Характерни са за листата и плодовете на цитрусовите растения.

Млечните цеви представляват единични клетки, които могат да бъдат неразклонени (коприва, зимзелен) или разклонени. Последните са с голяма дължина и малко напречно сечение (млечки, фикус, смокиня, черница). Многоклетъчните млечни цеви са група клетки, свързани помежду си във вериги, като преградните им стени са перфорирани или изцяло изчезнали. Когато отделните цеви се свързват с напречни каналчета (анастомози), се означават като анастомозиращи млечни цеви, изграждащи една обща мрежа (глухарче, салатата, синя жлъчка, мак и др.). При неанастомозиращите млечни цеви липсват странични връзки (змийско мляко, чесън). Клетките

на млечните цевы са живи, с целулозни, невдървесинени клетъчни стени и изпълнени с латекс вакуоли (глухарче, змийско мляко, лук, мак, каучуконосните дървета). Латексът (млечният сок) представлява гъста емулсия, която е прозрачна (при черницата), бяла (при глухарчето), оранжева (при змийското мляко), жълто-кафява (при конопа), червена (при кървавия корен). Млечният сок съдържа захари – до 5%, дъбилни вещества, гликозиди, алкалоиди, соли, органични киселини, ензими (смокиня, пъпешово дърво), белтъчни зърна и кристали, скорбелни зърна, етерични масла, восъци, смоли, каучук, гутаперча и др.

През последните години се наблюдава нарастващ интерес към растенията като естествени суровини за производство на лекарствени препарати, което поставя нови предизвикателства пред приложната ботаника. Тези предизвикателства са свързани с изследването, рационалното използване и опазването на лекарствените растения, както и с откриването на нови видове с потенциални фармакологични свойства. Лечебни растения са тези, които се използват директно в народната медицина или представляват източник на растителна суровина за химико-фармацевтичната индустрия.

В световен мащаб към момента са описани над 12 000 вида лечебни растения от общо повече от 350 000 известни растителни вида. В България броят на лечебните растения възлиза на около 750 вида, като ежегодно се събират приблизително 350 от тях. В глобалната медицинска практика около 40% от използваните лекарствени препарати са на растителна основа, а сред лекарствата, прилагани за лечение на сърдечно-съдови, белодробни и стомашно-чревни заболявания, приблизително 80% се извличат от лечебни растения.

Лечебните растения служат като суровина за изолиране на биологично активни вещества, които чрез полусинтетични процеси се превръщат в лекарствени средства, като например кортикостероиди, полови хормони и други. Предимството на лекарствените препарати, получени от растителни източници, се състои в добрата поносимост и ниската токсичност, което позволява тяхното продължително приложение при хронични заболявания.

Таксономично, покритосеменните лечебни растения се отнасят към 68 семейства. Най-голяма част от тях спадат към следните семейства – Сложноцветни (Asteraceae), Устноцветни (Lamiaceae), Розоцветни (Rosaceae), Сенникоцветни (Apiaceae) и Бобови (Fabaceae).

Семейство Сложноцветни (Asteraceae) – най-широко използвани видове:

Белият равнец (*Achillea millefolium*) е многогодишно тревисто растение, разпространено по тревисти терени, крайпътни зони и храсталаци. За лечебни цели се използват щитовидните съцветия и цъфтящите надземни части. Растението притежава кръвоспиращо, спазмолитично, диуретично, противовъзпалително и апетитовъзбуждащо действие.

Златната пръчица (*Solidago virga-aurea*) представлява многогодишно тревисто растение с късо хоризонтално коренище. Среща се в храсталаци и редки гори, както и по тревисти и гористи места. Лечебно приложение имат връхните цъфтящи части, които се използват при заболявания на отделителната система. Външно растението се прилага при гнойни рани и кожни възпаления.

Лечебното глухарче (*Taraxacum officinale*) е многогодишно растение, широко разпространено по ливади, пасища и край пътища. В лечебната практика се използват както корените, така и цялото растение. Те проявяват диуретично и общотонизиращо действие и се прилагат при жлъчни и чернодробни заболявания.

Подбелът (*Tussilago farfara*) е многогодишно тревисто растение с пълзящо коренище, което се среща предимно по влажни места. Листата и цветовете притежават омекчаващо действие при кашлица, имат противовъзпалителен и апетитовъзбуждащ ефект.

Лечебната лайка (*Matricaria chamomilla*) е едногодишно растение, разпространено по тревисти и изоставени терени, край пътища и в посеви. С лечебна цел се използват съцветията, които проявяват противовъзпалително, антисептично, омекчаващо и ранозаздравяващо действие.

Обикновеният пелин (*Artemisia absinthium*) представлява многогодишно тревисто растение с характерен аромат и силно горчив вкус. Среща се по тревисти и каменисти места. Като лекарствена дрога се използват връхни части, събирани в началото на цъфтежа. Растението проявява противовъзпалително действие, тонизира мускулатурата на храносмилателните органи, стимулира секрецията на храносмилателни сокове, подобрява храносмилането и възбужда централната нервна система.

Обикновеният репей (*Arctium lappa*) е двугодишно растение, което през първата година образува приземна листна розетка, а през втората – високо цветоносно стъбло. За лечебни цели се използват корените, изкопавани през първата година от развитието. Те имат диуретично, потогонно, антибактериално и метаболизма подпомагащо действие. Външно се прилагат при рани.

Лечебният невен (*Calendula officinalis*) е едногодишно растение, при което като лекарствена дрога се използват съцветията. Те проявяват противомикробно действие и ускоряват проце-

сите на ранозаздравяване. Растението се прилага при лечение на язвена болест на стомаха и дванадесетопръстника, както и при сърдечносъдови, кожни и други заболявания.

Синята жлъчка (*Cichorium intybus*) е многогодишно тревисто растение с месест, вретеновиден корен. Среща се по сухи тревисти места и край пътища. За лечебни цели се използват коренът и надземната част, които проявяват апетитовъзбуждащо действие и стимулират храносмилателните процеси.

Семейство Устноцветни (Lamiaceae) включва ароматни тревисти растения и полухрасти, богати на етерични масла, с широко приложение във фитотерапията.

Лютивата мента (*Mentha piperita*) е многогодишно тревисто растение, отглеждано като етеричномаслена култура. Листата и надземната част проявяват противовъзпалително, болкоуспокояващо и антисептично действие. Външно ментата се прилага при главоболие, кожни възпаления, за инхалации, при възпаление на венците, зъбобол и неприятен дъх в устната кухина.

Машерката (*Thymus serpyllum*) представлява дребен полухраст с приповдигащо се стъбло, разпространен по сухи, скалисти и слънчеви места. Използват се цъфтящите върхни части, които притежават антисептично, противовъзпалително, отхрачващо и спазмолитично действие. Прилага се и под формата на инхалации.

Лечебната маточина (*Melissa officinalis*) е многогодишно тревисто растение с характерна лимонена миризма. За лечебни цели се използват листата и цъфтящите върхни части. Растението действа апетитовъзбуждащо, подобрява храносмилането и има изразено нервноуспокояващо действие.

Обикновеният риган (*Origanum vulgare*) е многогодишно растение с късо пълзящо коренище. Като дрога се използват цъфтящите върхни части, които проявяват отхрачващо, антисептично и седативно действие и стимулират храносмилателните процеси.

Теснолистната лавандула (*Lavandula angustifolia*) е полухраст със силно разклонени прави стъбла. Използват се цветовете и полученото от тях етерично масло, които имат успокояващо действие върху централната нервна система, болкоуспокояващ и дезинфекционен ефект, както и спазмолитично действие върху гладката мускулатура.

Босилекът (*Ocimum basilicum*) е едногодишно тревисто растение. Лекарствена дрога представлява надземната цъфтяща част. Растението се прилага като диуретично, противовъзпалително, спазмолитично и апетитовъзбуждащо средство, както и при колити, заболявания на венците, ринити и трудно зарастващи рани.

Розмаринът (*Rosmarinus officinalis*) е вечнозелен, силно разклонен храст, отглеждан предимно като декоративно растение. Като дрога се използват листата, които имат противовъзпалително, жлъчкогонно, диуретично и стимулиращо храносмилането действие.

Семейство Розоцветни (Rosaceae) включва редица лечебни растения с високо съдържание на витамини, флавоноиди и дъбилни вещества.

Обикновената шипка (*Rosa canina*) е храст, образуващ лъжлив плод – шипка. Използват се зрелите, изсушени плодове, богати на витамин С, витамини от група В, витамин К и флавоноиди. Притежават антискорбутно и диуретично действие и се прилагат при чернодробни заболявания.

Горската ягода (*Fragaria vesca*) е многогодишно растение с пълзящи столови. Използват се листата и плодовете, които имат адстрингентно действие при диария, както и при кашлица и стомашно-чревни разстройства.

Полската къпина (*Rubus caesius*) е храст, с полегнали или дъговидно извити стъбла. С лечебна цел се използват корените, листата и плодовете, имащи противовъзпалително, кръвоспиращо и затягащо действие и се използват при диария, гастрити и простудни заболявания.

Лечебният камшик (*Agrimonia eupatoria*) е многогодишно тревисто растение. Използват се надземните части, събрани по време на цъфтеж. Притежават адстрингентно и диуретично действие и се прилага при стомашно-чревни и жлъчни заболявания, както и при хемороиди.

Обикновената дюля (*Cydonia oblonga*) е храст или дърво. Семената съдържат слузни вещества и дъбилни съединения, които имат омекчаващо и противовъзпалително при заболявания на дихателната и храносмилателната система.

Обикновеният глог (*Crataegus monogyna*) е храст или ниско дърво. Използват се листата, цветовете и плодовете, при сърдечносъдови заболявания, леки форми на хипертония, сърдечни неврози, безсъние и нервна възбуда.

Трънката (*Prunus spinosa*) е разклонен, бодлив храст с бели цветове. Използвана дрога са цветовете и плодовете. Плодовете имат затягащо действие, а цветовете – успокояващо, пикочогонно, при възпаление на бъбреците и пикочния мехур.

Лечебната лавровишня (*Laurocerasus officinalis*) е дървесен вид или храст, вечнозелен. Като droga се използват листата, брани по време на цъфтеж. Имат болкоуспокояващ ефект при коремни болки и кашлица.

Семейство Сенникоцветни (Ariaceae) се характеризира с високо съдържание на етерични масла. Към това семейство спадат:

Петнистият бучиниш (*Conium maculatum*) – силно отровно растение, съдържащо алкалоиди. Използването му в домашни условия е противопоказано. В миналото е прилагано като болкоуспокояващо в крайните стадии на злокачествени заболявания.

Анасонът (*Pimpinella anisum*) е едногодишно растение, отглеждано като етеричномаслена култура. Като droga се използват плодовете. Те са богати на етерично масло с главна съставка анетол. Имат отхрачващо, антисептично, спазмолитично, потогонно и температуропонижаващо действие.

Копърът (*Anethum graveolens*) е едногодишно растение с кухо, високо стъбло. С лечебна цел се употребяват плодовете и цъфтяща надземна част. Имат стимулиращо храносмилането, успокоително, газогонно действие, подтискат рефлекс на повръщане.

Полският ветрогон (*Eryngium campestre*) е многогодишно бодливо, сивозелено растение с дълъг вретеновиден корен. Расте по сухи тревисти и каменисти места. Използвана droga са корените и надземната част. Имат диуретично действие, при хипертрофия на простата, пясък и камъни в бъбреците и други бъбречни заболявания.

Магданозът (*Petroselinum crispum*) и целината (*Apium graveolens*) са двугодишни растения. Като droga служат плодовете, листата и корените. Имат основно апетитовъзбуждащо и диуретично действие.

Семейство Бобови (Fabaceae) – най-често използвани лечебни представители:

Жълтата комунига (*Melilotus officinalis*) е двугодишно растение, което през първата година образува само розетни приземни листа. Надземната част на растението има затягащо действие, използва се и за налагане на трудно зарастващи рани.

Лечебният жаблек (*Galega officinalis*) е многогодишно растение, срещащо се по влажни, сенчести места. С лечебна цел се използват цъфтящите стръкове, които понижават съдържанието на захар в кръвта, действат диуретично и потогонно, увеличават млечната секреция.

Бодливият гръмотрън (*Ononis spinosa*) е многогодишно тревисто, бодливо растение. Използват се корените, събрани през есента след узряване на плодовете. Имат пикочогонно и противовъзпалително действие. Прилагат се при отоци, камъни и пясък в бъбреците и пикочния мехур, хронични възпаления на пикочните пътища, ревматизъм, подагра, кожни обриви и др.

Златният дъжд (*Laburnum anagyroides*) е дървесен вид с тройни, елипсовидни листа. Цветовете едри, златистожълти. Използвана droga са семената. Служат като суровина за получаване на алкалоида цитизин, който възбужда центъра на дишането.

Целебната раменка (*Anthyllis vulneraria*) е многогодишно тревисто растение. В народната медицина надземната част се използва при гнойни рани, струпей, ухапвания от кучета и насекоми, цистити, уретрити и др.

Освен събирането на цветни лечебни растения от техните естествени местонаходища, значителна част от най-търсените видове се подлагат на целенасочено култивиране. Контролираното отглеждане на покритосеменни лечебни растения допринася за намаляване на натиска върху природните популации, предотвратява изчерпването на редки и защитени видове и осигурява устойчиво използване на растителните ресурси. Допълнително предимство на култивирането е възможността за постигане на постоянство и стандартизация в съдържанието на биологично активни вещества, което е от съществено значение за медицинската и фармацевтичната практика.

В световен мащаб в култура се отглеждат над 100 вида лечебни растения, като в България се култивират около 40 – 50 вида, което подчертава значението на страната ни като традиционен производител и износител на лекарствена растителна суровина.

Паразитиращите у човека червеи – около 250 вида, се наричат хелминти и систематически принадлежат към тип плоски червеи (Platyhelminthes) и тип кръгли червеи (Nematoda). Хелминтите са високо специализирани паразити с променена физиология (движение, хранене, размножаване, обмяна на веществата), което ги отличава съществено от техните близкородствени свободно живеещи червеи. В жизнените цикли на хелминтите човек може да бъде краен и/или междинен гостоприемник, а болестотворното въздействие се проявява като механотравматично с увреждане на тъкани и структури, нутритивно с отнемане на хранителни вещества и витамини, интоксикация от продуктите на жизнената дейност на хелминтите, предизвикване образуването на тумори, улесняват развитието на различни вирусни и бактериални инфекции, снижаване на имунната защита и др. Количеството на хелминтите, времето, през което са навлезли в гостоприемника и мястото на тяхната локализация са от съществено значение за тежестта и протичането на дадена хелминтоза. В някои случаи в тялото на човек може да паразитират стотици паразити – глисти, власоглави без да предизвикат смърт, докато в други случаи само един паразит може да доведе до летален изход – напр. ехинокок или цистицерк в мозъка.

Тялото на плоските червеи (**Тип Platyhelminthes**) е дорзо-вентрално сплеснато; стената на тялото – кожно-мускулна торба, е изградена от покривката на тялото и разположената под нея система от мускулна влакна в няколко слоя, а вътрешността е запълнена с паренхим, който има опорна функция, служи като депо за резервни вещества и участва в обмяната. За първи път в животинското царство се появяват храносмилателна и отделителна системи. Нервната система е от ганглиев тип. Плоските червеи са хермафродитни животни и имат полова система с жлези със собствени, добавъчни жлези и органи обезпечаващи вътрешно оплождане.

Тениите (**Клас Cestoda**) паразитират във възрастно състояние в червата на гръбначни животни, а ларвните стадии се развиват в различни тъкани и органи – мускули, черен дроб, сърце, мозък и др., както в гръбначни, така и в безгръбначни животни; те са биохелминти. В тялото на човек паразитират представители на няколко десетки вида тении, като в повечето случаи той е краен гостоприемник. Тениите имат плоско, лентовидно, силно удължено тяло, изградено от голям брой членчета; някои видове достигат до 30 м дължина, но има и видове с дължина едва 3 – 4 мм. В предния край на тялото има обособен сколекс, носещ прикрепителни органи (смукала, кукички); след него е шийката (несегментиран участък на нарастване) и членчета – проглотиди. Много характерен признак на тениите е пълната липса на храносмилателна система. Паразитите лежат в смляната храна на тънките черва на гостоприемника и всмукват хранителни вещества с цялата си повърхност. Половата система е разположена метамерно, т.е. повтаря се във всяко членче (липсва в първите незрели членчета). Така се гарантира производството на огромен брой яйца, осигуряващи оцеляването на вида.

Taenia solium (свинска тения) е разпространена повсеместно. На дължина достига 2 – 3 метра и стробилата ѝ съдържа около 800 проглотида. Сколексът е с размер 0.6 – 2 мм; има 4 вендуза и ростелум с два реда кукички и служи за прикрепване към чревната лигавица. Яйчникът в хермафродитното членче е триделен. В зрялото членче матката има 9 – 12 странични разклонения и съдържа около 50 000 яйца.

Краен гостоприемник на *Taenia solium* е човекът. Паразитът може да живее няколко години в тънките черва. С изпражненията навън се изхвърлят зрели членчета, пълни с оплодени яйца. Като всеядно животно, което поглъща дори изпражнения, свинята става междинен гостоприемник на тенията и в стомаха ѝ попадат зрелите проглотиди и яйца. В дванадесетопръстника (началото на тънкото черво) от яйцата се освобождават ларви онкофери, които пробиват активно чревната лигавица. С кръвния ток те се отнасят до скелетната мускулатура, където за 2 – 2.5 месеца се образуват ларви цистицеркуси (*cysticercus cellulosae*). Цистицеркусът представлява продълговато мехурче, дълго 1 см, изпълнено с течност, с прикрепен към вътрешната му стена и обърнат навътре сколекс на тенията. Човек се заразява при ядене на опаразитено с цистицеркуси, недобре термически обработено свинско месо. Сколексите на ларвите се освобождават и достигнали до тънките черва, се прикрепват се към лигавицата. Започва интензивно нарастване чрез прищип-

ване в шийната област и след около 3 месеца се формират възрастни тении. Заболяването се нарича тениоза.

Освен краен, човекът може да бъде и междинен гостоприемник на свинската тения. В този случай заболяването се нарича цистицеркоза, тъй като у човека се развиват цистицеркусите. Заразяването може да стане чрез поглъщане на яйца на свинска тения със замърсени с човешки изпражнения плодове и зеленчуци или чрез автоинвазия, ако човек е болен от тениоза. От яйцата се излюпват онкосфери, които с кръвния ток достигат вътрешни органи (много често мозък, очи), където се развиват цистицеркуси. Човек може да боледува само от цистицеркоза без едновременно да страда от тениоза.

Свинската тения оказва на човека токсично (чрез отделените в гостоприемника метаболитни продукти), механично (чрез вендузите и кукичките на сколекса си) и нутритивно (поглъща много хранителни вещества от чревното съдържимо поради големите си размери) въздействие.

Говеждата тения – *Taenia saginata* (синоним *Taeniarhynchus saginatus*) е разпространена повсеместно. Тя достига на дължина до около 10 – 15 м и съдържа 1000 – 2000 проглотици. Сколексът е закръглен, с диаметър 1 – 2 мм и има 4 вендуза. Липсва ростелум с кукички. Яйчникът в хермафродитното членче е двуделен, а матката в зрялото членче има 18 – 36 странични разклонения и съдържа до 150 000 яйца. Ежедневно се откъсват и отделят 6 – 8 членчета.

Краен гостоприемник на говеждата тения е човекът. Тя паразитира в тънките черва и може да живее до 25 години в тялото му. Болният отделя с екскрементите зрели членчета или яйца. Яйцата са овални, обвивката е тънка и прозрачна. Вътре се намира зародиш – онкосфера, обвита от двупластна напречно набраздена обвивка (ембриофора). Зародишът има 3 двойки кукички. Попаднали във външната среда, проглотиците отделят яйцата си, докато се движат. Тези онкосфери могат да останат жизнеспособни в продължение на няколко дни до седмици в канализация, реки и пасища. Междинните гостоприемници – говеда и биволи, могат да погълнат ембрионирани яйца, когато ядат замърсена храна. В дванадесетопръстника (началото на тънкото черво) обвивката на яйцето се разпада и се освобождава ларвата онкосфера, която пробива чревната стена; чрез кръвта тя достига да различни части на тялото и се установява в мускулатурата в рамките на 70 дни. Там се превръща в ларва цистицеркус – *cysticercus bovis*, която е мехуровидна, с диаметър около 1 см, изпълнена с прозрачна течност и оформен сколекс на бъдещата тения. Ларвата може да се локализира също в белия и черния дроб. В тялото на говедата ларвите могат да са жизнени до 1 – 2 години, след което загиват. Хората обикновено се заразяват с говежда тения в резултат на консумация на сурово или недостатъчно термически обработено говеждо месо, което съдържа инфекциозните ларви – цистицерки. Когато цистицеркусът достигне тънкото черво, се освобождава сколексът, чрез който става прикрепване за лигавицата. За около 5 до 12 седмици ларвата нараства до зряла тения.

Говеждата тения е голям хелминт и увреждащото ѝ действие върху човека е механично, токсично и нутритивно. Заболяването се доказва с установяване на тениозни яйца в изпражненията на болния и изследване на типа на матката и броя на нейните разклонения в зрелите проглотици.

***Echinococcus granulosus* (кучешка тения, ехинокок).** Видът е разпространен повсеместно.

Ехинококът е малка тения с дължина 3 – 6 мм, а стробилата е от 3 проглотици. На сколекса си има четири вендуза и ростелум с 36 – 40 кукички в два реда. В зрялото последно членче на тенията се съдържат около 1000 оплодени яйца.

Краен гостоприемник на кучешката тения са кучета, чакали, вълци, лисици. Междинни гостоприемници са тревопасни домашни и диви животни, а също и човек. В червата на крайния гостоприемник могат да се развиват стотици тении. Зрелите членчета се отделят с изпражненията или активно използват от червата и така става замърсяване с яйцата на ехинокока на козината на животното, почвата, водата, плодове, зеленчуци, предмети и т.н. Яйцата са устойчиви в околната среда и чрез замърсена храна или вода попадат в междинния гостоприемник. В червата на междинния гостоприемник от яйцето се излюпва ларва онкосфера. Тя активно прониква в кръвта и така се разнася най-често до черния дроб, белия дроб, мозък и по-рядко до слезка, бъбреци, мускули и други вътрешни органи. Тук ларвата расте и се превръща в ехинококов мехур (*echinococcus unilocularis*), който може да достигне до 10 – 20 см в диаметър. В говеда са установявани ехинококови мехури тежащи до 60 кг. Той е сложно устроен и има три обвивки:

- външна – съединително-тъканна; тя е образуване на тъканите на инвазията гостоприемник за изолиране на ларвата;

- средна – плътна и еластична неклетъчна обвивка, която защитава съдържимото на мехура от проникване на вируси, бактерии и др.;
- вътрешна – зародишна (герминативна), която образува сколекси и пъпкува дъщерни мехури.

Ехинококовият мехур е изпълнен с прозрачна безцветна течност, богата на минерални вещества. В нея се съдържат дъщерни мехури, в които могат да се образуват допълнително нови дъщерни мехури със сколекси. За разлика от цистицеркусите на свинската и говеждата тения, които са малки и съдържат по един сколекс, ехинококовият мехур съдържа огромен брой сколекси. Така описаният ехинококов мехур се нарича фертилен (зрял, плодовит). Мехурът понякога може да е стерилен – без дъщерни мехури и сколекси. Ехинококовите кисти растат бавно, но могат да причинят клинични симптоми при хората и да бъдат животозастрашаващи. Кистата оказва натиск върху околните тъкани, което може да доведе до нарушена функция на органите, спонтанни фрактури на костите и други неврологични ефекти. Когато кучето или друг от крайните гостоприемници изяде заразен вътрешен орган или дори част от ехинококов мехур от инвазирано животно, се заразява с кучешка тения. От погълнатите сколекси в червата му се развиват стотици възрастни тении.

Кръглите червеи (**Тип Nematoda**) имат неначленено вретеновидно или нишковидно тяло, кръгло в напречно сечение. Кожно-мускулната торба е съставена от многослойна кутикула, хиподерма, която може да има клетъчен строеж или да е синцитий и надлъжно разположени мускулни влакна само в един слой. Имат първична телесна празнина, изпълнена с водниста течност под налягане. Храносмилателната система се състои от предно, средно и задно черво. Отделителната система най-често е представена от видоизменени кожни жлези или е протонефридиен тип; при някои видове липсва. Нервната система е представена от ганглии и нервни стволкове; сетивните органи са развити слабо. Преобладаващо кръглите червеи са разделнополови, половия апарат е по-просто устроен в сравнение с Плоските червеи. Повечето Нематоди отлагат яйца, но има и живораждащи. Жизненият цикъл е прост – няма редуване на поколенията, с малки изключения. Развитието е с метаморфоза, при паразитите има смяна на гостоприемниците или престой в околната среда. Типът е много богат на видове, които са се приспособили за живот във всички възможни биотопи.

***Ascaris lumbricoides* (детски глист).**

Това е най-често срещаният паразитен червей при хората. Смята се, че между 810 милиона и 1,2 милиарда души по света са заразени с хелминта, като хората, живеещи в тропически и субтропични зони, са изложени на по-голям риск от инфекция. Инфекцията с *Ascaris lumbricoides* е известна като аскариаза (аскаридоза).

Аскарисът има дълго, неначленено, вретеновидно тяло със заострени краища и с размери 20-50 см при женските и 15 – 30 см при мъжките индивиди. Живите червеи имат розово-бял цвят, докато мъртвите са с жълтеникав оттенък. Задният край на мъжките е коремно завит и притежава две спикули. В предния си край глистът има три устни, които заграждат устния отвор. Възрастните аскариси паразитират в тънкото черво на човека, който е единствен техен гостоприемник. Опаразитяване се установява във всички възрастови групи, но най-масово се среща при децата. Хранят се с чревното съдържимо и слуз, като могат да поглъщат и кръв. За едно денонощие женският глист отделя около 200 000 яйца, които напускат тялото на болния човек с изпражненията и попадат във външната среда. Биологичният смисъл на тази висока плодовитост е в това, че на пътя на развитието – от външната среда до новия гостоприемник, има много препятстващи фактори, водещи до гибел на голяма част от потомството и само много високата плодовитост може да обезпечи продължаването на вида. Аскарисът е типичен геохелминт – за развитието на зародишите в яйцата му са необходими специфични условия на почвата: влага, кислородно съдържание и оптимална температура около 24°C. При такива условия в яйцето се развива инвазиоспособна ларва за около 15 – 20 дни. При много високи или ниски температури, засушаване, недостатъчно кислород и пряка слънчева светлина, времето на развитие на яйцата силно се удължава или те загиват. Отделените от женския паразит яйца са продълговато-овални с четири обвивки. Най-външната белтъчна обвивка е дебела и вълнообразна с жълто-кафяв цвят и тя придава особена неправилна форма на яйцето. Тази обвивка обаче лесно отпада и в престоили изпражнения яйцето изглежда гладко отвън. Между втората и третата има значително пространство, изглеждащо като светъл пръстен. Женският аскарис отделя два типа яйца:

- оплодени – полюсите на яйцето са свободни и прозрачни, а зародишната маса е концентрирана в центъра на яйцето;
- неоплодени – жълтътната материя изпълва равномерно цялото яйце.

Яйцата на аскарисите са изключително устойчиви в околната среда и могат да запазят жизнеността си за повече от 10 години в почвата. Човек се заразява по фекално-орален път, когато със замърсени плодове, зеленчуци, вода или с мръсни ръце погълне зрели аскарисови яйца с инвазионни ларви. Мухите допринасят много за разпространяването на яйцата. В дванадесетопръстника от всяко погълнато яйце се излюпва рабдитна ларва, която не се превръща веднага във възрастен паразит, а извършва миграция и съзряване в човешкото тяло. В червата ларвите проникват през лигавицата и субмукозата и навлизат в лимфните и кръвоносни съдове. Оттам ларвите преминават последователно през черния дроб и сърцето, след което влизат в белодробното кръвообращение. За разлика от възрастните хелминти, ларвите на аскариса са аеробни. Те пробиват стените на белодробните капиляри, проникват в алвеолите, където се хранят и нарастват. В аеробните условия на белия дроб развитието на ларвите продължава около две седмици. След това, те мигрират от алвеолите през бронхите до трахеята. Веднъж попаднали в трахеята, ларвите се изкашлят със секрета във фаринкса и след поглъщане навлизат в храносмилателната система. Те преминават през стомаха и се локализируют в тънките черва, където узряват до възрастни червеи за около два месеца. Целият биологичен цикъл на аскариса от поглъщането на яйцата до формирането на възрастната форма в тънкото черво продължава около 2,5 – 3 месеца. В зависимост от степента на опаразитеност, в червата на човек могат да съществуват стотици глисти. Продължителността на живот на аскарисите в червата е 1 – 2 години.

Уврежданията от аскарисите са: механично (в случаите, когато има много хелминти може да се стигне до пълна чревна непроходимост или перитонит); токсично, изразяващо се в обща интоксикация от метаболитни продукти; нутритивно; при нетипична локализация в каналите на черния дроб, панкреаса и белите дробове аскарисите предизвикват запушвания, разрушаване на тъкани, перитонит, често с летален изход.

***Trichinella spiralis* (трихинела).**

Трихинелата представлява малък червей с дължина 3 – 4 мм при женския и 1 – 2 мм при мъжкия екземпляр. Цялото развитие на паразита протича в един гостоприемник – човек, всеядни или хищници бозайници – свиня, котка, куче, плъх, мишка, мечка, лисица, вълк, чакал и др.

Установени са 4 вида трихинели, 2 от които са регистрирани при хората: *Trichinella spiralis* обикновено паразитира в свиня, котка, куче, гризачи и се среща повсеместно; *Trichinella nativa* паразитира най-често при диви животни (мечка, лисица, вълк, чакал, котка и др.) и се среща в природните условия на Евразия и Северна Америка.

Зрялата форма се развива в тънките черва на гостоприемника (чревна фаза). Ларвата се развива в мускулната тъкан на същия гостоприемник (мускулна фаза).

Гостоприемникът се заразява като погълне инвазирано с вътремускулна трихина животно или части от него.

В стомашно-чревния тракт под влияние на киселия стомашен сок, капсулираните ларви се освобождават и след 2 – 3 часа се внедряват в чревната лигавица. След около 2 денонощия те се превръщат във възрастни полови зрели индивиди. Скоро след копулацията мъжките умират, а оплодените женски се внедряват дълбоко в чревната лигавица. Там те раждат ларви в продължение на 3 до 6 седмици, като една женската трихинела може да роди над 1500 ларви. Ларвите по лимфен и кръвен път мигрират в цялата скелетна мускулатура, но предпочитат добре кръвоснабдени и активно действащи напречно набраздени мускули – междуребренни и дъвкательни мускули, диафрагма, език, мускули на очната ябълка, на врата, и др. В сърдечния мускул не се установява локализация на ларвата. Ларвата прониква през сарколемата на мускулното влакно, храни се и нараства до размери 0,8 – 1,2 мм, завива се спирално и след 3 – 4 седмици около нея се формира лимоновидна или кръгла капсула (циста) с размери 0.4 – 0.6 мм.

Към 6 – 9-ия месец капсулите се удебеляват и в тях започват да се отлагат калциеви соли особено в двата ѝ полюса. Този процес завършва към 15 – 16-ия месец. В някои случаи калцификацията на цистите започва рано и води до умъртвяване на трихините. Ларвата запазва до 2 – 3 години инвазиоспособността си.

Човек се заразява при консумиране на термически недобре обработено инвазирано месо, най-често от домашни или диви прасета и по-рядко от мечка. Свинете се заразяват като изяждат

отпадъци от заразено месо или умрели заразени гризачи. Трихинозната зараза при гризачите се поддържа поради съществуващия канибализъм сред тях.

При рязко намаляване на защитните сили на гостоприемника е възможна автоинвазия с трихинела. Родените в чревната лигавица трихинели се развиват бързо в нея и се връщат в червото като възрастни форми, без да се локализируют в мускулатурата. Този път на развитие обезпечава бързо и голямо увеличение на броя на възрастните паразити в червото, а след това и мощна инвазия от ларви в мускулатурата.

Трихинелозата е тежко заболяване, което може да завърши и летално. Освен по описаните вече начини, заразяването с трихинелоза може да стане и трансплацентарно по време на бременността.

Зоонозите са инфекциозни и паразитни болести, които могат да се предават по естествен път между гръбначни животни, гостоприемници на инфекциозен агент (микроорганизъм като вирус, бактерия, рикетсия и др.) и хора. Хората са най-често крайната точка на зоонозните патогени. Зоонозите имат съществено значение за общественото здраве, ветеринарната медицина и екологията.

Начини на заразяване

Заразяването на хората със зоонозни патогени (причинители на заболяване) може да се осъществи по няколко основни пътя, които зависят от вида на причинителя, резервоара и наличието на вектори. **Прекият контакт** е най-директният път, при който предаването става чрез контакт със заразено животно или негови секрети и екскрети. Това може да се осъществи чрез ухапване или одраскване например при бяса (от кучета, лисици, прилепи), или при болестта на котешкото одраскване; чрез контакт с рани или лигавици както при антракса (при обработка на кожа или месо) или чрез директен контакт с абортирани животни при бруцелоза. Други начини за контактното предаване на зоонози е контактът със заразени фекалии, урина или слюнка, например при лептоспирозата, която може да се предаде чрез контакт на наранена кожа или лигавици с вода, замърсена с урина на гризачи. Друг начин на предаване е **чрез храна и вода**. Това е изключително важен път, при който хората поглъщат патогена чрез консумация на замърсени животински продукти, недостатъчно термично обработено месо (салмонелоза, трихинелоза, тениази) или непастеризирано мляко и млечни продукти (бруцелоза, туберкулоза). Замърсената питейна вода също е източник на зараза, например криптоспоридиоза. Чрез **въздушно-капков** (аерозолен) път: предаването става при вдишване на патогена, който се разпространява във въздуха. Това може да се случи чрез прахови частици, при работа с животни или замърсени продукти (например Ку-треска, пситакоза, някои форми на антракс). Респираторни капчици се отделят и при директен контакт с болни животни, особено при вирусни инфекции като птичи грип или при работа в животновъдни комплекси. При **трансмисивния път** (чрез вектори) безгръбначен вектор (обикновено членестоного като кърлеж, комар или бълха) пренася патогена между животното-резервоар и човека. Патогенът може да се размножава във вектора. Например кърлежите пренасят Лаймска борелиоза, Марсилска треска, Кримска-Конго хеморагична треска, комарите – Западнонилска треска, малария (паразитоза, която има зоонозен произход). Разбирането на тези пътища е ключово за прилагането на ефективни мерки за превенция и контрол.

Вирулентни фактори

Нахлуването на патогени в даден гостоприемник се нарича инфекция, а заболяване се развива, ако навлезлите патогени променят нормалните функции на тялото. Степента на патогенност се нарича вирулентност и се определя от редица фактори. Процесът, чрез който микроорганизми се прикрепват към клетките е задължителен за успешното създаване на колонии в гостоприемника. За целта се използват **фактори на сцепление** чрез специализирани структури като **закачащи протеини**. Патогените отделят и **извънклетъчни ензими**, които разтварят структурни вещества в тялото на гостоприемника и помагат на патогена за поддържане на инфекцията, за навлизане и избягване на защитните сили на гостоприемника. Освен това патогените отделят и **токсини** в тялото на гостоприемника, което помага на патогена за поддържане на инфекцията, за навлизане и избягване на защитните сили на гостоприемника. За развитието на инфекцията от съществено значение са и **антифагоцитни фактори** на патогена като бактериалната капсула например, които предотвратяват фагоцитозата от фагоцитиращите клетки на гостоприемника. **Антифагоцитни вещества** предотвратяват сливането на лизозомите и фагоцитните мехурчета, а някои директно унищожават фагоцитиращите бели кръвни клетки.

Пътища на проникване на патогените

Патогенът преодолява външните бариери на организма, размножава се и колонизира (установява се) тялото. Места, чрез които патогените навлизат в тялото, са основно **кожа, лига-**

вици, плацента и парентерален път. Външният епидермален слой на кожата от мъртви клетки действа като бариера за патогени, но някои могат да проникнат през съществуващи рани или отвори. Други имат способността да пробият или разградят външния слой на кожата. Лигавиците покриват телесните кухини, някои от които са отворени към околната среда като носната и устната кухина. Затова дихателните пътища са най-често място за навлизане на патогените, по-рядко се среща навлизане през очите. От друга страна лигавиците осигуряват влажна, топла среда, благоприятна за развитие на патогените. Стомашно-чревният тракт също е място за навлизане, но патогените трябва да оцелеят в киселата среда на стомаха. Плацента обикновено представлява ефективна бариера за патогени, но те могат да преминат през плацентата и да заралят плода, което може да предизвикат спонтанен аборт, дефекти при раждане или преждевременно раждане.

Класификация на зоонозите

Зоонозите се класифицират по различни показатели:

А. Въз основа на вида на патогена (причинител на инфекциозното заболяване):

- **Вирусни** (напр. бяс, птичи грип, Западнонилска треска).
- **Бактерийни** (напр. бруцелоза, салмонелоза, туберкулоза по говедата, лептоспироза).
- **Рикетсийни** (напр. Ку-треска).
- **Гъбни** (напр. някои дерматомикози).
- **Прионни** (напр. болестта на Якобс-Крайсфелд или по-известна като луда крава).
- **Паразитни** (напр. трихинелоза, ехинококоза, токсоплазмоза).

Б. Според посоката на предаване:

- **Зооантропонози:** Болести, които **обикновено** се предават от **животни на хора** (напр. антракс, бруцелоза, трихинелоза).
- **Антропозоонози:** Болести, които се предават **от хора на животни** (напр. някои видове туберкулоза).
- **Амфиксенози:** Болести, които могат да циркулират **в двете посоки** – от животни към хора и обратно (напр. салмонелоза, стафилококови инфекции).

В. Според цикъл на предаване:

- **Ортозоонози (преки):** Предават се чрез директен контакт или чрез фекално-орален път от заразено животно на човек, без междинен гостоприемник или вектор (напр. бяс).
- **Циклозоонози:** Изискват **повече от един гръбначен гостоприемник**, но не включват безгръбначен вектор (напр. тениази, трихинелоза).
- **Метазоонози (векторно преносими):** Изискват **безгръбначен вектор** (напр. кърлежи, комари) за предаване, като патогенът се размножава в него (напр. лаймска болест, Западнонилска треска).
- **Сапрозоонози:** Предават се от **нежива среда** (почва, вода, храна), която е замърсена от животни (напр. лептоспироза).

Фактори за разпространение

Разпространението и възникването на нови зоонози е сложен процес, който се влияе от взаимодействието между хора, животни и околната среда. **Екологичните промени** като обезлесяване, урбанизация и навлизане в диви територии води до разрушаване на естествените местообитания и по-близък контакт между хората, домашните животни и резервоарите на патогени (най-вече диви животни и прилепи), увеличавайки шанса за „прескачане“ на патогена в нов гостоприемник. **Глобалното затопляне и промените в климата** променят географския ареал и сезоните на активност на безгръбначните вектори (комари, кърлежи, мухи). Това позволява на векторно-преносими зоонози като западнонилска треска, денга и лаймска болест да се разпространят в нови региони. Международната търговия с диви животни, домашни любимци и животински продукти може бързо да пренесе патогени от една част на света в друга. Интензивните международни пътувания на хора позволяват бързото разпространение на инфекции, които вече са преминали от животни в човека, както беше наблюдавано по време на пандемията от COVID-19.

Интензивното животновъдство с висока плътност на животинските популации в ограничени пространства (напр. промишлени ферми) създава идеални условия за бърза мутация и разпространение на вируси и бактерии (напр. птичи и свински грип). **Неадекватните мерки за биосигурност** и лошата хигиена във фермите увеличават риска от предаване на патогени както към работниците, така и към хранителната верига. **Използването на антибиотици** в животновъдството допринася за развитието на антибиотична резистентност, което прави зоонозите по-трудни за лечение при хората (напр. резистентна *Salmonella*). Нарастването на човешката популация и необходимостта от повече земя и храна засилва взаимодействието с животните, като **промените в хранителните навици** (напр. консумация на сурово или недостатъчно обработено месо, дивеч или млечни продукти) пряко увеличават риска от хранително-преносими зоонози (напр. трихинелоза, бруцелоза). Слабите програми за **ваксинация и наблюдение** на животните (особено бездомни кучета, котки и добитък) в някои региони позволяват на болести като **бяс и ехинококоза** да циркулират свободно, представлявайки постоянен риск за хората.

Вирусни зоонози в България

Бясът е остра, силно заразна и почти 100% смъртоносна вирусна зооноза (ортозооноза), която поражда централната нервна система на всички топлокръвни животни, включително човека. Причинява се от РНК вирус на бяс (*Lyssavirus*) от семейство *Rhabdoviridae*, който има характерен куршумообразен вид. Бясът е класическа зооантропоноза, тъй като основният му резервоар и източник на инфекция са гръбначните животни. Основният резервоар на вируса в природата варира географски, но включва главно месоядни бозайници и прилепи. При т.нар. див цикъл на трансмисия в Европа най-честият резервоар са лисиците и прилепите. Прилепите са особено важни, тъй като могат да пренасят вируса и да го отделят, без самите те да показват остри симптоми. При градския (синантропен) цикъл основният източник на човешки инфекции са домашни кучета, което прави контрола на популацията и ваксинацията на кучетата ключова превантивна мярка. Предаването на вируса към човека или други животни става почти изключително чрез вкарване на заразна слюнка в отворена рана или върху лигавици. Най-често това се случва чрез ухапване от болно животно. По-рядко заразяването може да стане чрез одраскване или облизване на съществуваща рана от болно животно. Болестта не е обичайно да се разпространява от човек на човек. След проникването, вирусът се възпроизвежда в мускулите и съединителната тъкан на мястото на ухапването. След това преминава през периферните нерви до гръбначния стълб и мозъка. След размножаване в ЦНС, вирусът се разпространява чрез периферните нерви до слюнчените жлези и попада в слюнката. Инкубационният период варира силно (от дни до години), но обикновено е между 1 и 3 месеца, в зависимост от мястото на ухапване и близостта му до централната нервна система. Веднъж достигнал мозъка, вирусът причинява прогресиращ енцефалит (възпаление на сивото вещество на главния мозък). Клиничните симптоми при човека включват треска, болка или изтръпване, парене, боцкане или „мравучкане“ на мястото на ухапването, последвани от неврологични прояви. С прогресирането на заболяването настъпва възбудният стадий – появяват се спазми на гълтателната и дихателната мускулатура. При болните се наблюдават внезапни признаци на страх и ужас и необяснима двигателна възбуда. След време настъпва прогресивна парализа. След появата на клинични симптоми, заболяването е нелечимо и води до смърт. Единственият ефективен начин за предотвратяване на фаталния изход е незабавната профилактика (ваксина и антибесен имуноглобулин), приложена възможно най-скоро след контакта със заразено или подозрително животно. Превенцията включва унищожаване на бездомните животни, задължителна ваксинация на домашни кучета, котки и други и животни. В дивата природа зоонозата много по-трудно се контролира в сравнение с кучешкия бяс. Все пак, има текущи проучвания в Европа, където стръв, съдържаща ваксина против бяс, е давана на лисици. Успех е бил отчетен в Швейцария.

Хантавирусите са род обвити, едновирежни РНК вируси от семейство *Hantaviridae*, които причиняват две основни, тежки зоонозни заболявания при хората: Хеморагична треска с бъбречен синдром (ХТБС) и Хантавирусен кардиопулмонален синдром, известен също като Хантавирусен белодробен синдром (ХБС). Хантавирусите са класически пример за **сапрозоонози**, тъй като предаването им се осъществява главно чрез околната среда. Основният резервоар и източник на инфекция са **гризачите** (мишки, плъхове, полевки), които служат като естествени гостоприемници за вируса, но сами по себе си не развиват болестта. Вирусът се отделя от заразените гризачи чрез урината, фекалиите и слюнката. Всеки вид хантавирус обикновено е свързан с един

специфичен вид гризач-резервоар (напр. *Sin Nombre* вирусът е свързан с американския еленов хомяк, а *Hantaan* и *Puumala* вирусите – с полски мишки и полевки в Европа и Азия). В България се срещат главно два вида хантавируси, причиняващи ХТБС: вирусът Dobrava-Belgrade (DOBV) и вирусът Puumala (PUUV). DOBV вирусът е основният и доминиращ хантавирус в България и на Балканите. Той Причинява по-тежка форма на ХТБС, която може да има по-висока степен на смъртност в сравнение с инфекцията с PUUV вируса. Негов естествен резервоар е **жълтогърлата горска мишка** (*Apodemus flavicollis*) и по-рядко **полската мишка** (*Apodemus agrarius*). Инфекциите с DOBV са потвърдени както при гризачи, така и при пациенти с ХТБС в страната, особено в планинските райони на Южна България (Рила, Пирин и Родопите). PUUV вируса обикновено е свързан с по-леката форма на ХТБС, известна като нефропатия епидемика, която е по-разпространена в Северна Европа. Негов естествен резервоар е червената горска полевка (*Myodes glareolus*). Първият официално потвърден случай на ХТБС, причинен от вирус *Puumala* в България, е докладван от Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ) през 2021 г., което показва неговото циркулиране и в страната. DOBV вирусът е исторически и епидемиологично най-значимият хантавирус в България, но е установено, че циркулира и PUUV вирусът. Хората се заразяват основно чрез **вдишване на аерозоли**, образувани от изсъхналите екскременти на гризачите. Това се случва най-често при работа или пребиваване в затворени, слабо проветриви пространства (напр. складове, бараки, мазета, палатки), където има натрупване на замърсяване от гризачи. По-рядко заразяването може да стане чрез директен контакт с гризачи или чрез ухапване. Вирусът не се предава от човек на човек. ХТБС е по-разпространено заболяване в Азия и Европа. Характеризира се с висока температура, коремни болки, главоболие, последвани от бъбречна недостатъчност и хеморагични прояви (**симптоми на кървене**). Смъртността варира между 0.1% и 15%, в зависимост от конкретния щам на вируса. ХТБС е по-често срещан в Северна и Южна Америка. Започва с грипозни симптоми, които бързо прогресират до тежък белодробен оток и дихателна недостатъчност, дължащи се на нарушена пропускливост на капилярите. Този синдром е по-смъртоносен, като смъртността може да достигне до 35 – 50%. Превенцията се основава на контрол на числеността на гризачите и вземане на предпазни мерки при почистване на замърсени помещения, включително носене на маски и проветряване преди започване на работа.

Бактериални зоонози в България

Най-разпространени бактериални зоонози в България, от гледна точка на регистрираните случаи при хора и значението им за хранителната безопасност и общественото здраве, са: салмонелозата и кампилобактериозата. Те са водещи сред бактериални зоонози, тъй като са предимно хранително-преносими, свързани с консумацията на замърсени животински продукти (месо, яйца, мляко) или вода.

Салмонелозата се причинява от бактерии от род *Salmonella* (най-често *Salmonella enterica*). Резервоари са голямо разнообразие от животни: птици (особено кокошки и патици), свине, говеда, гризачи и влечуги (костенурки). Начинът на заразяване е основно чрез консумация на замърсени или недобре обработени месни продукти, яйца и продукти от яйца, непастеризирано мляко, или чрез кръстосано замърсяване в кухнята. Най-разпространени симптоми са обилна диария, коремни спазми и болки, висока температура (треска), главоболие, гадене, често са придружени от повръщане. При повечето здрави хора болестта преминава сама, но при малки деца, възрастни хора или хора с отслабен имунитет може да доведе до тежка дехидратация и разпространение на инфекцията в кръвта (бактериемия), изискваща хоспитализация.

Кампилобактериозата се причинява от бактерии от род *Campylobacter* (най-често *C. jejuni* и *C. coli*), като най-важният резервоар са домашни птици (пилета), но също така говеда и свине. Заразяването най-често става чрез консумация на недостатъчно термично обработено пилешко месо или чрез сурово мляко. Може да се предаде и при контакт със заразени животни. През последните години кампилобактериозата често надминава салмонелозата по брой регистрирани случаи в много европейски страни (включително България) и се превърна в най-честата докладвана зооноза в Европейския съюз. Симптомите на болестта са сходни с тези на салмонелозата. Въпреки че кампилобактериозата обикновено е самоограничаваща се, в редки случаи може да доведе до сериозни усложнения като Синдрома на Гилен-Баре – рядко, но тежко аутоимунно заболяване, което поражда периферната нервна система.

Антракът е остра, силно инфекциозна бактериална зооноза, която най-често поражавя тревопасни животни, но може да бъде фатална и за човека. Причинява се от бактерията *Bacillus anthracis* – голям, Грам-положителен, аеробен бацил. Основната опасност на антракса произтича от способността на бактерията да образува спори, които са изключително устойчиви във външната среда и могат да останат жизнеспособни в почвата десетилетия наред (класическа **сапрозооноза**). Антракът се среща ендемично в много региони по света. Резервоарът на инфекцията не е животното, а **замърсената почва (антраксни гробища)**, където спорите оцеляват. Животните се заразяват, когато пасат на такава почва и поглъщат спорите. Най-чувствителни са говедата, овцете, козите и конете. Хората обикновено се заразяват инцидентно. Предаването на антракса от животното на човек обикновено става по три основни пътя, в зависимост от начина на проникване на спорите. При кожния (контактен) антракс (95% от случаите) заразата настъпва при пряк контакт с болно животно или негови продукти (кожи, вълна, месо) през наранена кожа. На мястото на проникване се образува характерна антраксна „пъпка“ (злокачествен пъпчив обрив), която може да прогресира до сепсис, ако не се лекува. Инхалационният (белодробен) антракс се счита за най-опасната форма. Настъпва при вдишване на спори (напр. при работа с животинска вълна, кожи или брашно от кости). Симптомите имитират тежка пневмония, бързо прогресират и смъртността е много висока, дори и при лечение. Гастроинтестиналният антракс настъпва при консумация на заразено и недостатъчно термично обработено месо. Тази форма е рядка, но протича тежко с повръщане, диария и стомашно-чревно кървене. Ключът към контрола на антракса е ветеринарната профилактика (ваксинация на животните в ендемични райони) и строгата забрана за клане и консумация на месо от животни, починали от антракс. Тъй като спорите са изключително устойчиви, телата на заразените животни трябва да бъдат унищожавани чрез изгаряне или заравяне в дълбоки ями с дезинфекция, а не да се подлагат на клане или аутопсия.

Най-разпространената векторно-преносима зооноза в България е **Лаймската борелиоза** (болест), която се предава на човека чрез ухапване от кърлежи (*Ixodes ricinus*). Среща се във всички райони с гори и паркове. Причинители са спирохети от вида *Borrelia burgdorferi*. Резервоари са малки и средни бозайници (главно гризачи и едри преживни животни), които служат като източници на кръв за кърлежите. Заразяването става чрез ухапване от заразен кърлеж; предаването обикновено става след като кърлежът се е задържал прикрепен за кожата за повече от 24 – 48 часа. В ранния стадий се появява характерното червено петно с просветляване в центъра, наречено мигриращ еритем. Това е най-честият симптом. Ако не се лекува, инфекцията се разпространява и може да засегне нервната система, ставите (артрит) или сърцето. Лаймската борелиоза е предотвратима (чрез защита от кърлежи) и лечима с антибиотици, ако бъде диагностицирана навреме.

Сърце (*Cor*, *Cardia*). Морфологичен строеж

Сърцето е кух мускулист орган с форма на неправилен конус и тегло средно от 250 до 300 грама. Разположено е косо в гръдната кухина, между двата бели дроба, като около две трети се намират вляво от срединната линия, а една трета – надясно. Чрез ритмичните си съкращения сърцето движи кръвта в кръвоносните съдове.

При изглед отвън, на сърцето се различават основа (*basis cordis*), която е обърната нагоре, назад и надясно, и връх (*apex cordis*), който е насочен надолу, напред и наляво. На сърцето се разграничават няколко повърхности. Предната повърхност е изпъкнала и опира гръдната кост, долната се разполага върху диафрагмата, а страничните повърхности са насочени към белите дробове. Отвън, две бразди бележат границите между сърдечните кухини. Циркулярна бразда очертава границата между предсърдията и камерите. Другата бразда е съставена от предна междукламерна бразда, която маркира предната позиция на междукламерния септум и задна междукламерна бразда, която разделя двете камери на задната повърхност на сърцето.

Устройство на сърдечната стена

Стената на сърцето не е с еднаква дебелина във всички негови кухини. В предсърдията тя е много по-тънка (2 – 3 mm) от тази на камерите, понеже предсърдията изтласкват кръвта при пониско налягане. Стената на лявата камера е значително по-дебела (1 – 2 cm) от тази на дясната камера (5 – 8 mm), което ѝ позволява да създава най-високо налягане.

Сърдечната стена е изградена от 3 богато кръвоснабдени слоя – външен (*епикард*), среден (*миокард*) и вътрешен (*ендокард*).

Епикардът (*epicardium*) представлява висцералният слой на околосърцевата торбичка. Това е тънка, гладка и прозрачна ципа. Покрита е от един слой плоски клетки, наречен мезотел, залягащи върху съединителнотъканна подложка, която съдържа значително количество еластични влакна. Епикардът се прикрепва към миокарда чрез слой от хлабава съединителна тъкан и често е инфилтриран с мазнини, особено при по-възрастни хора.

Ендокардът (*endocardium*) е най-вътрешният слой и покрива отвътре сърдечните кухини. Той е изграден от един слой плоски клетки, наречени ендотел, разположен върху тънък слой съединителна тъкан. От ендокарда се образуват платната на сърдечните клапи.

Миокардът (*myocardium*) е съставен от специализирани мускулни влакна, които по морфология са напречно-набраздени, а по функция са като гладката мускулатура. Характерно за тях е, че се свързват по между си и образуват мрежа, поради което се съкращават цели участъци от миокарда, а не отделни мускулни клетки. Миокардът е съставен от три морфологични и функционални форми: работна мускулатура, импулсопроводна система и ендокринни сърдечно-мускулни клетки. **Работна мускулатура** съставя най-голямата част от миокарда. Мускулатурата на предсърдията и камерите е напълно отделена една от друга, което не позволява едновременното им съкращение. Това разделяне се осъществява от *фиброзния скелет* на сърцето, който се разполага в равнината между предсърдията и камерите, около сърдечните клапи. Изграден от плътна съединителна тъкан и освен за изолация между предсърдията и камерите, служи като опора и място за залавяне на мускулните снопчета на миокарда на предсърдията и камерите, и на клапните платна. Отворите в основата на аортата и белодробния ствол също са обхванати от фиброзни пръстени.

Работната мускулатура на предсърдията е организирана в 2 слоя – повърхностен, с циркулярно ориентирани влакна и дълбок – самостоятелен за всяка камера и надлъжно разположени снопчета. В камерите работната мускулатура е организирана в 3 слоя – външен (общ за камерите, надлъжен), среден (циркулярно ориентиран) и вътрешен (надлъжен).

Импулсопроводна система на сърцето

Импулсопроводната система на сърцето е изградена от специализирани сърдечно-мускулни клетки, които генерират и провеждат електрични импулси, предизвикващи ритмичните съкращения на работната мускулатура. Тя се състои от: синусопредсърден възел, предсърднокамерен възел, предсърднокамерно снопче и влакна на Пуркине.

Синусопредсърдният възел (nodus sinuatrialis) е водещ във функционално отношение и определя основната честота на сърдечната дейност, поради което се нарича пейсмейкър на сърцето. Той е разположен в стената на дясното предсърдие, непосредствено под входа на горната куха вена и генерира приблизително 70 – 80 електрични импулса в минута. От него импулсите се разпространяват по мускулните влакна на двете предсърдия, което предизвиква тяхното съкращение. Импулсите достигат и обхващат втория възел – *предсърднокамерния (nodus atrioventricularis)*, който е разположен в основата на дясното предсърдие, до междупредсърдната преграда. След кратко забавяне тук, импулсите от него преминават към *предсърднокамерното снопче (Снопче на Хис)*, което навлиза в междукламерната преграда и се разделя на дясно и ляво краче. Снопчето на Хис е единственият проводник на импулсите от предсърдията към камерите поради факта, че фиброзният скелет на сърцето не притежава електропроводимост. Двете крачета на снопчето на Хис достигат върха на сърцето. В края си те се разнищват и образуват мрежа от нишки, наречени *нишки на Пуркине*, които тръгват нагоре по стената на камерите.

Във функционално отношение отделните части на импулсопроводната система не са равностойни. Водещ в определяне ритъма на сърдечната дейност е синусопредсърдния възел. При отпадането му, пейсмекърен става предсърднокамерния възел, който обуславя честота от 50 съкращения в минута.

Ендокринните мускулни клетки са разположени в стената на ушите на сърцето и секретират кардиодилатин, който предизвиква вазодилатация на кръвоносните съдове и участва в поддържане на водно-солевия баланс.

Сърдечни кухини

Във вътрешността си сърцето е разделено от вертикална преграда (septum) на две части: дясна – венозна и лява – артериална. Всяка част има два отдела: горен – предсърдие и долен – камера. Предсърдията и камерите са свързани чрез предсърдно-кламерни отвори, в които се разполагат предсърдно-кламерни клапи (Фигура 1). Отделните кухини на сърцето имат специфично вътрешно очертание и морфологични особености.

Дясното предсърдие (atrium dextrum) има кубовидна форма и заема дясната част на основата на сърцето. Напред се стеснява в кух придатък – ухо на предсърдието. Дясното предсърдие е отделено от лявото чрез междупредсърдна преграда, на която се намира вдлъбнатина, наречена овална ямка (*fossa ovalis*). Тя е остатък от отвор между двете предсърдия, съществуващ по време на ембрионалното развитие, и който се затваря след раждането. В кухината на дясното предсърдие се вливат горна куха вена (*vena cava superior*), долна куха вена (*vena cava inferior*) и венечния синус (*sinus coronaries*) – венозен съд, който събира кръвта от стената на сърцето.

Дясната камера (ventriculus dexter) има форма на тристенна пирамида, с връх насочен надолу и наляво. Заема по-голямата предна част на сърцето. Съобщава се с дясното предсърдие чрез десния предсърдно-кламерен отвор, който се затваря от клапа, съставена от три платна (*valva tricuspidalis*). За свободните ръбове на платната се залавят сухожилни нишки, свързани с три мускула, изхождащи от стената на дясната камера – *т.нар. папиларни мускули*. Функцията на тези нишки е да спират платната точно в центъра предсърдно-кламерния отвор и да не допуснат обръщането им към кухината на предсърдието. Това осигурява плътно затваряне на отвора при възникване на обратен кръвен поток от камерата към предсърдието.

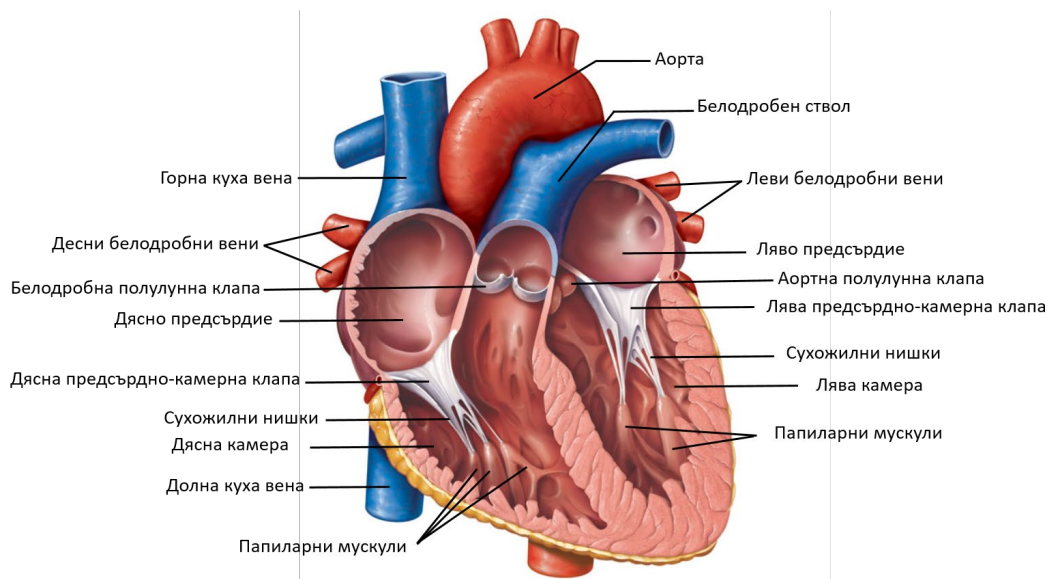
От дясната камера излиза голям магистрален съд – белодробен ствол (*truncus pulmonalis*), който отнася венозната кръв от камерата в белите дробове за окисление. В началото на белодробния ствол е разположена клапа, съставена от три платна (полулунна белодробна клапа). Всяко платно, чрез единия си ръб, се прикрепва за стената на белодробния ствол, образувайки джоб, подобно на лястовиче гнездо. Чрез другите си свободни ръбове, платната образуват плътен контакт помежду си. При диастола на камерата джобовете се изпълват с кръв, платната прилепват едно към друго и не позволяват на кръвта от белодробния ствол да се върне обратно в камерата.

Лявото предсърдие (atrium sinistrum) има кубовидна форма и съставлява по-голямата част от горната задна повърхност на сърцето. Напред се продължава в лявото ухо. В предсърдието се влива богатата на кислород кръв, която идва от белите дробове чрез 2 леви и 2 десни белодробни вени. Лявото предсърдие изтласква кръв към лявата камера през отвор, на който се разполага лявата предсърдно-кламерна клапа.

Лявата камера (ventriculus sinister) формира върха на сърцето и по-голямата част от задната му повърхност. Съобщава се с лявото предсърдие чрез левия предсърдно-кламерен отвор,

който се затваря от клапа, съставена от две платна (*valva bicuspidalis*). В клиничната практика клапата е известна като *митрална* клапа. Към свободните ръбове на платната се проточват сухожилни нишки от два папиларни мускула, изхождащи от стената на лявата камера. От лявата камера излиза аортата, в основата на която се намира аортна клапа. Тя е изградена от три еднакви платна с полулунна форма и работи в синхрон с белодробната клапа.

Сърдечните клапи осигуряват еднопосочното движение на кръвта в сърцето – от предсърдията към камерите и от камерите към големите артерии.



Фигура 1. Сърце – вътрешен вид

Околосърцева торбичка (*Pericardium*)

Сърцето е поместено в околосърцева торбичка – перикард (*pericardium*). Тя представлява серозна обвивка, състояща се от два листа. Вътрешният лист (висцералният) е разположен върху сърцето и образува външния слой от стената му. Външният лист на торбичката (париеталният) е по-плътен и подсилен с влакнеста съединителна тъкан. Той осъществява контакта на сърцето със заобикалящите го органи и сраства със сухожилния център на диафрагмата. Двата листа на перикарда преминават един в друг при основата на сърцето, като заграждат цепковидна кухина изпълнена със серозна течност. При съкращението на сърцето тази течност намалява триенето и облекчава неговата работа.

Инервация

Въпреки че честота на съкращенията на сърцето се определя от синусопредсърдния възел, при необходимост от промяна на тази честота, инервация на сърцето се осъществява и от вегетативната нервна система. Тя включва парасимпатикови влакна, които забавят сърдечния ритъм, симпатикови влакна, които го ускоряват, както и висцеросетивни влакна.

Кръвоснабдяване на сърцето

Макар че е изпълнено с кръв, сърдечната стена е твърде дебела за да получава хранителни вещества чрез дифузия. Тя се кръвоснабдява с 2 артерии: дясна и лява коронарни артерии, които са клонове, излизащи от основата на аортата. Венозната кръв, идваща от сърдечната стена, се излива в дясното предсърдие чрез венечния синус и предните сърдечни вени.

Кръвоносни съдове

Кръвоносните съдове не са ригидни тръби, през които кръвта просто преминава, а са динамични структури, които се съкращават, отпускат се и дори пролиферират, в зависимост от променящите се нужди на тялото. Трите основни групи кръвоносни съдове са артерии, капиляри и вени. Когато сърцето се съкрати, то изтласква кръв, която напуска камерите и попада в големите артерии, преминава последователно в по-малки разклонения на артериите, като накрая достига най-малките им разклонения, артериолите, които водят до капилярите в органите. Кръвта, напус-

каща капилярите, се събира от венулите, малки вени, които се сливат, образуват по-големи вени и накрая се вливат в сърцето.

Устройство на стената на кръвоносните съдове

Стената на всички кръвоносни съдове, с изключение на най-малките, е съставена от 3 слоя: вътрешен (*tunica intima*), среден (*tunica media*) и външен (*tunica externa* или *tunica adventitia*), които ограждат централно пространство, лумен. Най-вътрешният слой на съдовата стена е съставен от ендотел – еднослоен плосък епител, разположен върху базална мембрана. Той покрива лумена на всички съдове. Плоските ендотелни клетки образуват гладка повърхност, която намалява триенето на кръвта при движението ѝ по тях. В съдове с диаметър по-голям от 1 mm, непосредствено под ендотела се намира тънък слой рехав съединителна тъкан – субендотелен слой. Средният слой се състои предимно от циркулярно разположени слоеве гладкомускулни влакна, между които се намират циркулярни пластове еластин и колагенови фибрили. Съкращаването на гладкомускулните влакна намалява диаметъра на съда (вазоконстрикция), а отпускането им увеличава диаметъра му (вазодилатация). И двата процеса се регулират от вазомоторни нервни влакна на симпатиковия дял на вегетативната нервна система. Еластинът и колагенът осигуряват здравина и еластичност за противодействие на кръвното налягане, което всеки сърдечен удар упражнява върху съдовата стена. Средният слой е по-дебел в артериите в сравнение с вените. Най-външният слой на съдовата стена представлява слой от съединителна тъкан, съдържащ множество надлъжно разположени колагенови и еластични влакна. Той защитава съда, допълнително укрепва стената му и го закрепва към околните структури. Тук също се разполагат кръвоносни съдове и нерви, които кръвоснабдяват и инервират съдовата стена.

Основни групи кръвоносни съдове

• Артерии

Артериите са кръвоносни съдове, които изнасят кръв от сърцето. Най-големите артерии (голямокалибрени, с диаметър 2.5 cm до 1 cm) са разположени близо до сърцето (аорта и главните ѝ клонове; белодробен ствол). Те са от **еластичен тип**. Когато сърцето изтласква кръвта в тях, поради високото съдържание на еластични елементи в стените им, те се разширяват в отговор на повишеното кръвно налягане. При отпускане на сърдечните камери, еластичните елементи се свиват обратно и придвижват кръвта напред. Това дава основание артериите да се наричат артерии от *проводен тип*. **Мускулният тип артерии** са по-отдалечени от сърцето и кръвоснабдяват системи от органи, индивидуални органи или части от тях. Техният диаметър варира от 1 cm до 0.3 mm (среднокалибрени). В средния слой на стената им преобладават мускулните влакна. Чрез активна промяна в диаметъра на артериите, се регулира количеството кръв, което достига до снабдявания орган, в съответствие със специфичните му нужди. Затова тези артерии се наричат още артерии от *разпределителен тип*. **Артериолите** са най-малките артерии, с диаметър вариращ от 0.3 mm до 10 μ m. Техният среден слой съдържа един или два циркулярни слоя от гладкомускулни влакна. Диаметърът на всяка артериола се регулира чрез локални фактори в тъканите, които изпращат сигнали на гладката мускулатура да се съкращава или отпуска и по този начин регулират количеството кръв, което преминава към капилярите. Допълнително, симпатиковата нервна система регулира диаметъра на артериолите в тялото, като по този начин регулира системното кръвно налягане.

• Вени

Вените са кръвоносни съдове, които носят кръв към сърцето. Стената е изградена като тази на артериите, но е с по-малка дебелина. Причината е, че кръвното налягане намалява значително, докато кръвта преминава през артериолите и капилярите към вените. Ниското налягане във вените се компенсира от няколко механизма, които подпомагат връщането на кръвта към сърцето. Основен структурен механизъм за това са *венозните клапи*. Те представляват гънки на интимата, осигуряващи еднопосочно движение на кръвта. При движение към сърцето клапите се отварят, а при опит за обратно течение, се затварят. Функционален механизъм, който подпомага връщането на венозната кръв е движението на тялото и скелетната мускулатура. Съкращенията на скелетните мускули притискат вените и с участието на венозните клапи, изтласкват кръвта еднопосочно към сърцето.

Според разположението си вените са повърхностни и дълбоки. **Повърхностните** са разположени в подкожието, където образуват обширни мрежи. **Дълбоките** съпровождат артериите и носят в повечето случаи техните наименования. Обикновено две вени съпровождат една артерия,

затова броят на вените е по-голям от този на артериите. Средното количество кръв във вените е 3 литра, а в артериите – 1 литър. Кръвта във вените се движи с по-малка скорост (6 – 20 см/сек), отколкото в артериите (40 – 80 см/сек)

- **Капиляри**

Това са най-малките кръвоносни съдове (диаметър от 4 – 6 μm до 30 μm), които свързват артериалния с венозния отдел на кръвоносната система. Структурата им е много подходяща за изпълнение на тяхната функция – обмяна на газове, хранителни вещества и отпадни продукти между кръвта и тъканите. Стената им е изградена само от един слой ендотелни клетки, разположени върху базална мембрана. При някои капиляри, в стената се намират и специфични клетки (перицити), които са контрактилен елемент, изменящ просвета на капилярите. Капилярите са *артериални*, в които се извършва филтрация и *венозни*, в които се извършва резорбция. Според устройството на стената капилярите се разделят на три вида: непрекъснати, фенестрирани и прекъснати.

Непрекъснатите капиляри са най-разпространеният тип и изпълняват нутритивна функция. Стената им е изградена от ендотел, базална мембрана и перицити. За разлика от тях, **фенестрираните** капиляри се срещат там, където има изключително висока интензивност на обмен на малки молекули между кръвта и заобикалящата тъканна течност. В тяхната стена има фенестрации (малки пори) в ендотелните клетки, непрекъсната базална мембрана и оскъдно количество перицити. Такива са капилярите в тънкото черво, в бъбречните гломерули и в ендокринните жлези. Някои органи съдържат широки (30 – 40 μm) **прекъснати** и силно пропускливи капиляри, наречени *синусоиди*. Освен че притежават широки пролуки между ендотелните клетки, тяхната базална мембрана е прекъсната и в стената им липсват перицити. Такива са капилярите в черния дроб, слезката и костния мозък.

Кръгове на кръвообращение

Комплексната система от кръвоносни съдове в тялото се нарича съдова (васкуларна) система и има 2 кръга: *малък*, който носи кръв от сърцето към белите дробове и обратно, за отстраняване на въглеродния диоксид и обогатяването ѝ с кислород; *голям*, който носи кръв богата на кислород към цялото тяло и връща кръв наситена с въглероден диоксид от тъканите към сърцето.

Малък кръг на кръвообращение

Малкият кръг на кръвообращение започва от дясната камера с белодробния ствол, който носи кръв богата на въглероден диоксид. Белодробният ствол се разделя на лява и дясна белодробни артерии, навлизащи в двата бели дроба. Тук те се разпадат до капиляри около алвеолите, където се извършва обмяна на газовете и кръвта са обогатява с кислород. Капилярите преминават във венули, които се сливат и образуват по две белодробни вени, излизащи от всеки бял дроб. Левите и десните белодробни вени се обединяват и се отварят в лявото предсърдие, внасяйки кръв богата на кислород.

Голям кръг на кръвообращение

Големият кръг на кръвообращение осъществява транспортиране на кислород, хранителни вещества, хормони и други биологично активни молекули от сърцето към всички органи и тъкани на организма, както и връщане на кръвта, богата на въглероден диоксид и отпадни продукти, обратно към сърцето. То започва от лявата камера, която изтласква кръв към аортата и нейните клонове. От аортата кръвта се разпределя по мрежата от артерии, артериоли и капиляри, достигащи до всички органи и тъкани. В капилярната мрежа се осъществява обмен на газове, хранителни вещества и метаболити между кръвта и клетките. Кръвта, която вече е бедна на кислород, се събира от венули и вени, които постепенно се обединяват в горна и долна куха вена. Чрез тях венозната кръв се връща в дясното предсърдие.

Обща характеристика на сърдечно-съдовата система

Кръвоносната система транспортира и разпределя жизненоважни вещества до тъканите и отстранява продуктите на метаболизма. Тази система участва и в поддържането на хомеостазата в човешкото тяло, като например регулиране на телесната температура, поддържане на водния баланс и адаптиране на доставката на O_2 и хранителни вещества при различни физиологични състояния. Сърдечно-съдовата система се състои от сърце, което функционира като помпа, и от мрежа от кръвоносни съдове, чрез които се осъществява кръвообращението.

Функции на сърцето

Основните функции на сърцето са:

- осигуряване на непрекъснат кръвен поток;
- поддържане на адекватно артериално налягане;
- адаптиране на сърдечната дейност към моментните метаболитни нужди на организма;
- осигуряване на ритмична и координирана дейност на сърдечно-съдовата система;

Сърцето функционира като две последователно свързани помпи. Едната изпраща кръвта към белите дробове, където се осъществява обменът на O_2 и CO_2 (белодробно кръвообращение), а другата разпределя кръвта към всички останали тъкани в организма (системно кръвообращение), чрез циклично съкращаване и отпускане на сърдечната мускулатура, известно като сърдечен цикъл. Кръвта преминава през сърцето само в една посока, което се осигурява от клапния апарат, изграден от тънки клапни платна, насочващи потока.

Анатомо-функционални особености на клапите на сърцето

В сърцето има четири основни клапи: две предсърдно-камерни – двуплатна (митрална) и триплатна клапа, които се намират между предсърдията и камерите, и две полулунни клапи – аортна и белодробна, разположени на изхода на лявата и дясната камера. Митралната клапа контролира преминаването на кръв от лявото предсърдие към лявата камера, докато триплатната регулира кръвния поток от дясното предсърдие към дясната камера. Аортната клапа предотвратява връщането на кръвта от аортата в лявата камера, а белодробната клапа изпълнява същата функция спрямо белодробния ствол. Клапите са изградени от здрави съединителнотъканни платна, прикрепени към фиброзния скелет на сърцето, който осигурява тяхната стабилност. Предсърдно-камерните клапи са свързани с папиларни мускули чрез сухожилни нишки, които предотвратяват обратно издуване на платната при съкращаване на камерите. Отварянето и затварянето на клапите се определя от разликата в налягането между предсърдията, камерите и големите артерии. Когато камерите са отпуснати, предсърдията изтласкват кръвта в камерите чрез отворени предсърдно-камерни клапи, а по време на съкращаване на камерите полулунните клапи се отварят за изтласкване на кръвта в аортата и белодробния ствол.

Сърдечни тонове

В резултат от работата на сърцето, в областта на гърдите могат да се чуят сърдечни тонове, определяни често като звук „луб-дуб“. Те представляват звукови явления, в резултат от механични вибрации на клапите, миокарда и кръвния ток. Първият сърдечен тон се чува в началото на камерното съкращение и е свързан главно със затварянето на двете предсърдно-камерни клапи и нарастването на напрежението в камерния мускул. Вторият тон възниква в началото на отпускането на камерите и се дължи на затварянето на аортната и белодробната клапа при спад на камерното налягане. При определени физиологични условия могат да се регистрират и трети и четвърти тон, които отразяват особености в пълненето и еластичността на камерите. Анализът на сърдечните тонове има важно значение за оценка на нормалната или нарушената функция на сърцето.

Въпреки че сърцето изпомпва кръвта на тласъци – при всяко съкращение (систола) на камерите – тъканите получават сравнително постоянен кръвен поток. Това се дължи на разширя-

ването на аортата и нейните големи разклонения по време на систола и на способността им да се връщат към първоначалната си форма (еластично свиване) по време на отпускането на камерите (диастола), което допринася за придвижването на кръвта към системното кръвообращение. Ритмичните промени в диаметъра на големите артерии, обусловени от тези цикли на разширяване и еластично свиване, се проявяват клинично като артериален пулс, който може да бъде обективно установен чрез палпация в области, където артериите са разположени повърхностно.

Физиологични свойства на миокарда

Миокардът притежава специфични физиологични свойства, които осигуряват ритмичната и координирана работа на сърцето:

Възбудимостта е основно функционално свойство на сърдечния мускул, което се изразява в способността на кардиомиоцитите да реагират на адекватен дразнител чрез възникване на акционен потенциал. Тя зависи от състоянието на клетъчната мембрана и от йонните канали, участващи в деполяризацията и реполяризацията.

Проводимостта е друго характерно свойство на клетките на миокарда, което представлява способността на възникналото възбуждане да се разпространява от клетка на клетка и да обхваща последователно различните части на сърцето. Посредством специализирана възбудно-проводна система се осъществява организирано и координирано разпространение на възбуждането в миокарда, което води до последователно и синхронизирано съкращение на предсърдията и камерите, необходимо за адекватното кръвообращение.

Автоматията е уникално свойство на сърцето, което му позволява самостоятелно да генерира ритмични електрични импулси без външен нервен стимул. Това свойство е най-силно изразено в част от възбудно-проводната система на сърцето – в клетките на синусопредсърдния възел, които определят нормалния сърдечен ритъм.

Съкратимостта е свойство на миокарда отразяващо способността на сърцето да развива сила и да се съкращава в отговор на възбуждане. Тя зависи от концентрацията на калциеви йони в клетката, както и от функционалното състояние на съкратителния апарат.

Рефрактерността е свойството на сърдечния мускул временно да губи способността си да отговаря на нови дразнения след възникване на акционен потенциал. Тя включва абсолютна и относителна рефрактерна фаза и има ключово значение за ритмичната и координирана работа на сърцето. Благодарение на продължителния рефрактерен период се предотвратява тетанично съкращение на миокарда.

Взаимовръзката между тези свойства осигурява ефективната помпена функция на сърцето и адаптацията му към променящите се физиологични нужди на организма.

Възбудно-проводна система на сърцето

Възбудно-проводната система представлява специализирана мрежа от модифицирани мускулни клетки, чиято основна функция е генерирането и координираното разпространение на електричните импулси в миокарда. Освен синусопредсърдния възел, тя включва още предсърдно-камерния възел, снопче на Хис с неговите десен и ляв клон, както и нишките на Пуркиние.

Синусопредсърдният възел е основният пейсмейкър на сърцето и определя нормалния сърдечен ритъм чрез спонтанна автоматична деполяризация. Той е разположен в стената на дясното предсърдие, в областта на вливането на горната куха вена. Предсърдно-камерният възел се намира в долната част на междупредсърдната преграда, в близост до дясната предсърдно-камерна клапа. Неговата основна роля е да забавя провеждането на възбуждането към камерите, което осигурява пълноценното им пълнене преди началото на камерната систола.

Сърдечен цикъл

Сърдечният цикъл представлява последователността от механични и електрически събития, които настъпват по време на едно съкращение и отпускане на сърцето, осигурявайки ефективното пълнене и изтласкване на кръвта. Общата продължителност на един сърдечен цикъл е приблизително 0,8 секунди, при честота 75 удара в минута. Той включва координирани фази на систола и диастола на предсърдията и камерите. Цикълът започва с предсърдна систола (с продължителност $\approx 0,1$ s), при която допълнително количество кръв постъпва в камерите и се формира нейният краен диастолен обем. Следват едновременно предсърдна диастола (с продължителност $\approx 0,7$ s) и камерната систола (с продължителност $\approx 0,3$ s), която започва с фаза на изомет-

рично съкращение, характеризираща се с бързо нарастване на вътрекамерното налягане при затворени клапи. Когато налягането в камерите надвиши това в аортата и белодробната артерия, полулунните клапи се отварят и започва фазата на изтласкване. През този етап определено количество кръв от камерите се изпомпва в артериалната система и се формира ударният обем. Камерната систола завършва с отпускане на миокарда и спад на налягането. Началото на камерната диастола (обща продължителност $\approx 0,5$ s) се бележи от затварянето на аортната и белодробната клапа, което предотвратява обратния кръвоток, последвано от фазата на изометрично отпускане. При по-нататъшно понижаване на камерното налягане предсърдно-камерните клапи се отварят и започва бързото пълнене на камерите. То постепенно преминава в бавно пълнене, когато наляганята в предсърдията и камерите се изравняват. В края на камерната диастола нова предсърдна систола подготвя сърцето за следващия цикъл. Всички фази на сърдечния цикъл са тясно свързани с промени в налягането, обема и електричната активност на сърцето. Тази синхронизация осигурява ефективна помпена функция при различни физиологични условия.

Помпена функция на сърцето

Сърцето осигурява непрекъснат кръвен поток чрез регулиране на артериалното кръвно налягане, както и на честотата и силата на сърдечните съкращения. Силата на съкращението зависи от процесите на възбуждане-съкращение, количеството вътреклетъчен калций и степента на пълнене на камерите.

Процесите на възбуждане – съкращение се инициират от електрически импулси, които водят до навлизане на калциеви йони в кардиомиоцитите през калциевите канали и до последващо освобождаване на допълнително количество Ca^{2+} от саркоплазмения ретикулум чрез механизма на калций-индуцирано освобождаване на калций. Повишената концентрация на Ca^{2+} активира миофиламентите чрез свързване със съкратителните протеини и води до съкращение. Силата на съкращаването зависи от количеството освободен Ca^{2+} и се модулира от нервната и хуморалната регулация, включително действието на адреналин и норадреналин. Колкото повече калций е наличен за активиране на миофиламентите, толкова по-силно се съкращават кардиомиоцитите.

Диастола

Диастолата е фазата на отпускане на сърдечния мускул след съкращението и е необходима за пълненето на камерите с кръв. В края на систолата навлизането и освобождаването на Ca^{2+} спира, което позволява бързото му отстраняване от цитоплазмата. Намаляването на вътреклетъчния калций води до отделянето му от съкратителните протеини, деактивиране на миофиламентите и отпускане на мускулните влакна.

Основни показатели на работата на сърцето

Основните показатели на работата на сърцето включват ударен обем, минутен обем, честота на сърдечните съкращения и артериално кръвно налягане.

Ударният обем (УО) се дефинира като количеството кръв, изтласквано от всяка камера при едно камерно съкращение, като при здрави възрастни индивиди стойността му е приблизително 70 милилитра за удар. Този показател се определя основно от съкратителната сила на миокарда и от степента на камерно пълнене в края на диастолата, изразена чрез крайния диастоличен обем. Съкратителната сила на миокарда характеризира способността на сърдечния мускул да развива сила независимо от първоначалното разтягане на мускулните влакна. Неговата регулация се осъществява предимно от симпатиковата нервна система, която чрез увеличаване на вътреклетъчната концентрация на калциеви йони усилва силата на съкращение. В резултат на това се наблюдава повишаване на ударния и минутния обем дори при непроменен краен диастолен обем. Крайният диастоличен обем зависи основно от венозното връщане на кръв към сърцето и продължителността на диастолата. По-голямото венозно връщане и по-продължителната диастола водят до увеличаване на крайния диастоличен обем, което в резултат допринася за по-голям ударен обем.

Минутния обем (МО) се получава чрез умножаване на ударния обем по сърдечната честота (СЧ) и показва общия обем кръв, изпомпван от сърцето за една минута ($\text{МО} = \text{УО} \times \text{СЧ}$).

Сърдечната честота е показател за дейността на сърцето, която в условия на покой при възрастни индивиди обикновено варира в границите 60 – 80 удара в минута и оказва пряко влияние върху минутния обем. При умерено увеличаване на сърдечната честота минутният обем нараства, докато при значително ускоряване на сърдечния ритъм времето за диастолично пълнене

на камерите се съкращава, което може да предизвика намаляване на ударния обем. По време на физическо натоварване минутният обем на сърцето може да достигне стойности от порядъка на 20 – 25 l/min, особено при добре тренирани индивиди.

Хуморалните фактори, включително катехоламините адреналин и норадреналин, допринасят за увеличаване на ударния и минутния обем чрез повишаване на съкратителната сила на миокарда, подобно на ефекта на симпатиковата нервна система.

Венозният тонус регулира венозното връщане към сърцето, като по този начин влияе на крайния диастолен обем и, косвено, на ударния обем.

Чрез интегрираното действие на тези регулаторни механизми сърцето осигурява адекватен кръвоток при различни физиологични състояния.

Артериалното кръвно налягане представлява друг важен показател за функцията на сърцето и се определя от стойностите на систоличното (СН) и диастоличното артериално налягане (ДН). Систоличното артериално налягане отразява максималното налягане в артериите на системното кръвообращение по време на систолата, когато лявата камера изтласква кръвта в аортата, докато диастоличното налягане представлява минималната стойност на налягането в артериите по време на диастолата, когато сърцето се отпуска и камерите се пълнят с кръв. Тези показатели отразяват механичното натоварване върху стените на артериите и при здрави възрастни индивиди в покой средните им стойности са приблизително 120 mmHg за систоличното и 80 mmHg за диастоличното налягане. Разликата между тях се определя като пулсово налягане и обикновено варира между 30 и 50 mmHg.

Средното артериално налягане представлява средната хидростатична стойност на налягането в артериите през целия сърдечен цикъл и е основен фактор за поддържането на ефективната перфузия на органите. То се изчислява като диастоличното налягане плюс една трета от пулсовото налягане ($ДН + ПН/3$) и при здрави възрастни в покой е приблизително 90 – 95 mmHg.

Артериалното кръвно налягане зависи от минутния обем на сърцето и общото периферно съдово съпротивление. Както беше коментирано по-горе, минутният обем в покой е приблизително 5 l/min, като нараства значително при физическо натоварване. Периферното съпротивление зависи основно от тонуса на гладката мускулатура в артериолите и техния радиус и това са основните механизми за регулация на налягането. С напредване на възрастта намаляването на еластичността на артериалните съдове води до постепенно увеличение на периферното съпротивление, а с него и систоличното артериално налягане.

Физиология на кръвоносните съдове

В кръвообращението, кръвта се придвижва с висока скорост през аортата и нейните артериални разклонения. С отдалечаването от сърцето и приближаването към периферните части на тялото тези съдове постепенно намаляват своя диаметър, като едновременно с това стените им стават по-тънки. Стените на кръвоносните съдове се състоят от три основни слоя – еластични влакна, гладка мускулатура и съединителна тъкан. Тяхното съотношение се изменя в зависимост от типа съд и тези вариации обуславят съществени различия във физичните и функционалните характеристики на отделните кръвоносни съдове. Докато аортата и нейните по-големи разклонения са изградени предимно от еластична тъкан, артериите с по-малък диаметър съдържат сравнително повече гладка мускулатура, която достига най-голям дял в стената на артериолите.

В резултат на тези структурни различия, в артериите с голям диаметър, съпротивлението на кръвния ток е сравнително ниско, поради което налягането в тях остава близко до това в аортата. За разлика от тях, по-малките артерии създават по-осезаемо препятствие за движението на кръвта и съпротивлението в тях се увеличава заради намаляващия диаметър. Най-голямо съдово съпротивление има на нивото на артериолите, които често се определят като основните регулатори на кръвотока в съдовата мрежа. В резултат, именно в крайните участъци на малките артерии и в артериолите се наблюдава най-същественото понижаване на кръвното налягане по хода на съдовото русло. Промените в степента на съкращение на гладката мускулатура на тези съдове позволяват фино регулиране на кръвоснабдяването на тъканите и играят ключова роля в поддържането на артериалното налягане в организма.

Освен постепенното понижаване на налягането по хода на артериите, в съдовата система настъпва и съществена промяна в характера на кръвния поток – от пулсиращ към относително постоянен. Пулсациите в артериите, които възникват вследствие на периодичното изтласкване на кръв от сърцето, значително отслабват при достигане на капилярното ниво. Това се дължи

както на разтегливостта и еластичните свойства на големите артерии, така и на повишеното съпротивление на кръвния поток в малките артерии и артериолите.

В човешкия организъм се съдържат приблизително десет милиарда капиляра, като от всяка артериола произлизат множество такива съдове. Поради тази причина, въпреки че всеки отделен капиляр има много малък диаметър, сумарната напречна площ на капилярната мрежа е изключително голяма. Това води до значително забавяне на скоростта на кръвния поток в капилярите, подобно на начина, по който водата се движи по-бавно в по-широките участъци на речните корита. Ниската скорост на кръвния поток, съчетана със структурата на капилярите – къси тръбовидни съдове със стени, изградени само от един клетъчен слой – създава оптимални условия за обмен на газове, хранителни вещества и други компоненти които чрез дифузия се обменят между кръвта и околните тъкани.

След като напусне капилярната мрежа, кръвта поема обратния си път към сърцето, преминавайки последователно през венули и след това през вени с постепенно нарастващ диаметър. По хода на тези съдове кръвното налягане непрекъснато намалява, докато кръвта достигне дясното предсърдие. В областта близо до сърцето броят на венозните съдове се редуцира, стените им се променят по дебелина и състав, общата напречна площ на венозното русло се свива, а скоростта на кръвния ток се увеличава. По този начин разпределението на скоростта на кръвния поток и сумарната напречна площ на съдовете в различните части на съдовата система показват обратна зависимост – когато едната от тези характеристики нараства, друга намалява. Така например, понеже общата напречна площ на кухите вени превишава тази на аортата, скоростта на кръвния поток в тях е по-ниска в сравнение с аортния. Въпреки това, и в двата типа съдове скоростта на кръвния поток е най-голяма в сравнение с останалите кръвоносни съдове.

При човек, сумарната напречна площ на съдовете се увеличава приблизително петстотин пъти при преминаване от аортата към капилярите. Най-голямата част от кръвта в големия кръг на кръвообращението се съдържа във вените и венулите – около две трети от общия кръвен обем. Значително по-малка част се намира в аортата, артериите и артериолите, а в капилярите се съдържа едва 5% от общия обем кръв. За разлика от това, в белодробното кръвообращение кръвният обем е сравнително равномерно разпределен между артериалните, капилярните и венозните съдове.

Регулация на сърдечно-съдовата система

Регулацията на сърдечно-съдовата система осигурява поддържането на адекватно кръвоснабдяване на органите при различни физиологични условия. Основни интегрални параметри, които са подложени на контрол е минутният обем на сърцето, сърдечната честота и артериалното кръвно налягане. Техните стойности се поддържат основно чрез хормони и от вегетативната нервна система. Артериалното кръвно налягане, например, е подложено на непрекъснат мониторинг чрез барорецептори, разположени в каротидния синус и аортната дъга, които реагират на промени в налягането в рамките на секунди и модулират симпатиковия и парасимпатиковия тонус. Повишаването на налягането, например, води до засилване на парасимпатиковия тонус и намаляване на сърдечната честота. При понижаване на налягането се активира симпатиковата нервна система, което повишава честотата и силата на сърдечните съкращения. Симпатиковата активация предизвиква също така вазоконстрикция на артериолите, което увеличава периферното съдово съпротивление и води до увеличаване на артериалното кръвно налягане.

От друга страна, съществуват и локални механизми на авторегулация, които позволяват адаптация на кръвотока спрямо моментните метаболитни нужди на тъканите. Намаляването на парциалното налягане на кислорода, например и повишаването на CO_2 водят до локална вазодилатация.

Паралелно с тези два бързи регулаторни механизма, съществува и дългосрочен контрол на артериалното налягане, която е тясно свързана с бъбречната функция и контрола на кръвния обем. Така например, ренин-ангиотензин-алдостероновата системата от хормони, инициирана от бъбреците, в отговор на ниско артериално налягане води до неговото повишаване чрез задържане на натрий и вода и чрез вазоконстрикция. Антидиуретичният хормон, който действа върху събирателните съдове в бъбреците също допринася за поддържането на артериалното налягане чрез влияние върху водния баланс, модулирайки общият обем на циркулиращата кръв и по този начин оказва съществено влияние върху венозното връщане и минутния обем на сърцето.

Чрез координираното действие на нервни, хуморални и локални механизми се осигурява относителна стабилност на функционалните параметри на сърцето при различни натоварвания и промени в околната среда.

1. Физиология на възбудимите системи

1.1. Дразнимост и възбудимост

Всяка жива тъкан (растителна и животинска) притежава свойството дразнимост – способността да се реагира на външни въздействия, наречени дразнители. Тази реакция има адаптивен характер, при която тъканите, подложени на дразнене, преминават от физиологично състояние на покой в състояние на биологична активност. При растителните и част от животинските тъкани реакцията към действието на дразнителя е локална, т.е. тя се проявява на мястото на действието на дразнителя.

Възбудимостта представлява способността на нервната, мускулната и жлезната тъкани да отговарят на действието на дразнителя така, че в организма се получава генерализиран ефект (движение, промяна в химическия състав и др.).

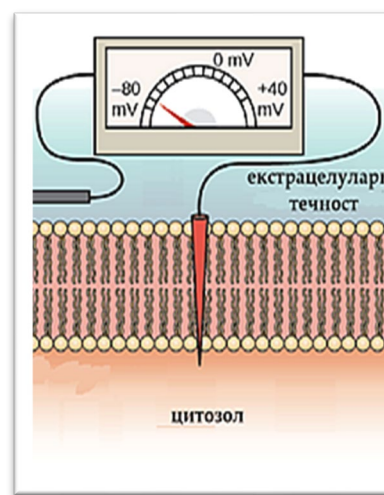
Механизмите на възбуждението са свързани с промени в проникваемостта на клетъчната мембрана (плазмолемата) за различни йони. Затова клетъчната мембрана на възбудимите клетки се нарича възбудима мембрана. Поради избирателната пропускливост на клетъчната мембрана за различните йони и функционирането на натриево-калиевите помпи в нея, се създават условия за получаване на разлика в електрическия потенциал от двете ѝ страни, която се нарича мембранен потенциал (биоелектрически потенциал). Той се обуславя се от наличието на разлика в потенциала между два йонни разтвора (екстрацелуларна и интрацелуларната течности), разделени чрез полупропусклива биомембрана.

1.2. Биоелектрически потенциали

Генерирането и разпространението на нервния импулс както и възникването на мускулното съкращение са обусловени от протичането на биоелектрически процеси във възбудимите системи. В зависимост от физиологичното състояние на нервната и мускулната тъкани съществуват следните биоелектрически потенциали – мембранен потенциал на покой, електротоничен потенциал, локален отговор, акционен потенциал (потенциал на действие) и постсинаптичен (рецепторен) потенциал.

Мембранен потенциал на покой. При физиологично състояние на покой, между външната повърхност на клетките и тяхната протоплазма съществува разлика в потенциала, наречена мембранен потенциал на покой. С помощта на чувствителен галванометър е установено, че вътрешната повърхност на мембраната има отрицателен заряд, а външната – положителен – Фиг. 1.

Мембранный потенциал се дължи на електроизолаторните свойства на липопротеиновата мембрана на живата клетка. В зависимост от проникваемостта си, тя оказва съпротивление на преминаващите през нея йони, а с това и на протичащите йонни токове. Мембранный потенциал при възбудимите тъкани се съхранява за дълги периоди от време постоянен, ако клетките им не бъдат активирани посредством действието на различни външни въздействия. При нервните и мускулните клетки той винаги е с отрицателна стойност, като неговата величина е константа за всеки тип клетки. При топлокръвните той е от порядъка на -50 до -100 mV, с изключение на гладкомускулните клетки, при които той е по-нисък (-30 mV).



Фиг. 1. Електрически заряд на клетъчна мембрана

1.3. Промени в мембранный потенциал

При определени условия мембранный потенциал може да се променя (Фиг. 2). Израз на тази промяна са явленията деполяризация, реполяризация и хиперполяризация на клетъчната

мембрана. Клетките на възбудимите тъкани, за разлика от всички останали клетки, могат да използват промяната на мембранный потенциал за предаване на междуклетъчна информация. Резултатът от предаването на такава информация може да бъде генериране и провеждане на нервни импулси, мускулно съкращение или секреция, извършвани от съответната възбудима тъкан (нервна, мускулна и секреторна).

Деполаризацията на мембраната представлява намаляването на мембранный потенциал по абсолютна стойност – например от -75 mV на -55 mV . Тя настъпва когато движението на катиони към цитозола превишава движението на катиони в обратната посока.

Реполаризация на мембраната се нарича връщането на стойностите на потенциала към първоначалната изходна стойност на мембранный потенциал на покой след деполаризация (например от -55 mV до -75 mV).

Хиперполяризация на мембраната е израз на нарастването на мембранный потенциал по абсолютна стойност – например от -75 mV на -90 mV (мембранный потенциал става по-негативен). Хиперполяризация настъпва при по-голям поток на катиони навън от клетката или навлизане на аниони в цитоплазмата.

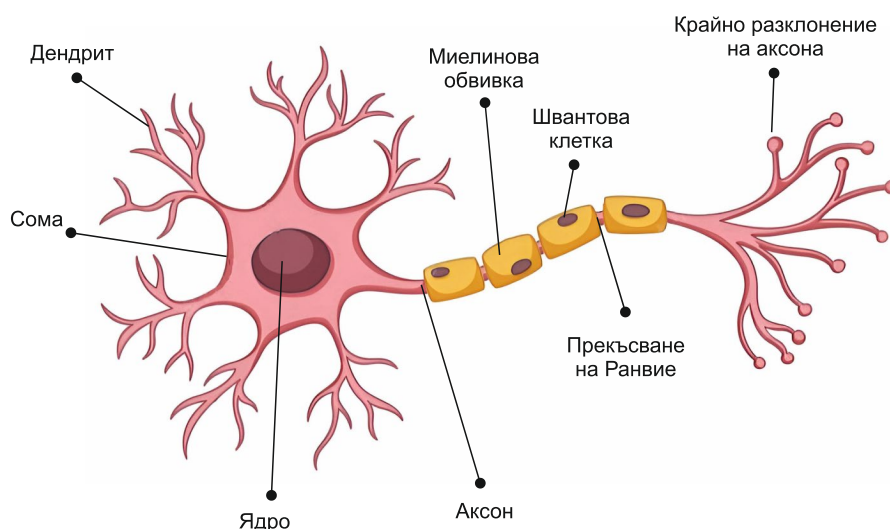
Физиологичен израз на деполаризацията е възникването на възбуден процес, а на хиперполяризацията – на задържан. При реполаризация на плазмолемата клетката преминава от възбудено състояние във физиологичен покой.

Причина за промяната на мембранный потенциал е изменение в пропускливостта на клетъчната мембрана. Тези изменения в пропускливостта са свързани с наличието на йонни каналчета в мембраните, които при определени условия (въздействия) се отварят или затварят – Фиг. 3.

2. Невронът като възбудима структура

2.1. Морфологична характеристика на нервната клетка

Основна структурна и функционална единица на нервната система е нервната клетка (неврон).



Фиг. 3. Устройство на нервна клетка с миелинова обвивка

В процеса на еволюцията броят на невроните в нервната система на организмите нараства. При безгръбначните броят им е от десет до няколкостотин, докато в мозъчната кора на човек



Фиг. 2. Изменение на мембранный потенциал

техният брой е около 18 милиарда. Невронът се състои от тяло (сома) с цитоплазма, множество къси протоплазмени израстъци (дендрити) и един дълъг цилиндричен израстък, наречен аксон (фиг. 3). В цитоплазмата на нервната клетка се съдържат голямо количество органели – митохондрии, апарат на Голджи, телца на Нисл и др. Телцата на Нисл са изградени от плътно разположен зърнест ендоплазматичен ретикулум заедно с множество от рибозоми и полирибозоми. В ендоплазмения ретикулум се извършва интензивен белтъчен синтез, обезпечаващ образуването на медиатори (невротрансмитери). За разлика от останалите соматични клетки ядрото на зрялата нервна клетка съдържа всички ядрени компоненти, в т.ч. и ядърце. Наличието им е свързано с непрекъснатия синтез на вещества, изграждащи клетъчните израстъци.

При някои нервни влакна мембраната на аксона е обвита от миелинова обвивка. Те се означават като миелинови. Миелинът представлява спирално навита мембрана, изградена от липиди (цереброзид, холестерол, лецитин и др.) и протеини (основен миелинов протеин, миелинов олигодендроцитен гликопротеин и протеолипиден протеин). По дължината на аксона в миелиновата обвивка се образуват канали с диаметър около 30 nm, наречени прекъсвания на Ранвие. Миелинът изпълнява ролята на диелектрик (електроизолатор), а прекъсванията на Ранвие имат „ретранслаторна“ функция – генерират, провеждат и усилват нервния импулс. В централната нервна система миелинът се синтезира от олигодендроцитите, а в периферната нервна система – от швановите клетки. При човека миелинизацията на нервните влакна е продължителен процес, който започва от около четиринадесетата седмица на бремеността и продължава до пубертета.

Аксоните на нервните клетки оформят нервните влакна, чрез което се осъществява предаването на възбудния процес на отдалечено разстояние от мястото на възникването му.

Мембраната на сомата и на дендритите е електроневъзбудима. В тях липсва критично равнище на деполяризация и затова в тях не настъпва разпространение на акционен потенциал. При дразнене в тях възниква локален потенциал, който се разпространява пасивно и е със затихващ характер в съседните участъци на мембраната.

Мембраната на аксона е електровъзбудима. Аксонното хълмче има висока възбудимост и това е причината под действието на локалния потенциал в него да се генерира акционен потенциал. Колкото по-голяма е амплитудата на локалната деполяризация, толкова по-голяма е честотата на генерираните акционни потенциали, които се разпространяват към крайните разклонения на аксона.

2.2. Физиологични свойства на нервната клетка

Основните физиологични свойства на нервните клетки са дразнимост, възбудимост и проводимост.

Дразнимостта е способността на неврона да възприема въздействия от външни за него фактори (дразнители) – химични, механични, термични, осмотични, електрически и др., и да ги преобразува в нервен импулс. Благодарение на това нервната система може да разпознава и да реагира на огромен брой дразнители от външната и от вътрешната среда. Действието на дразнителя се осъществява чрез въздействие върху клетъчната мембрана, която променя своята избирателна пропускливост за K^+ и Na^+ .

Възбудимостта свойство на нервното влакно при дразнене да отговаря с генериране на акционен потенциал. Невроните имат много висока лабилност, равняваща се на около 1000 импулса за секунда. Различната възбудимост на отделните нервни влакна се определя от морфологичните и функционалните им характеристики. Наличието на миелинова обвивка повишава възбудимостта на неврона. В хода на възбудния процес настъпват промени във възбудимостта, обусловени от йонната динамика от двете страни на цитоплазмената мембрана. Достигащите до дендритите импулси от съседните клетки предизвикват локални изменения на мембрания им потенциал, което от своя страна променя възбудимостта на мембраната на сомата. Затова дендритите се приемат от някои автори като модулатори на биоелектричните процеси в нервната клетка. Също така при възбуждането си дендритите повлияват и на биоелектричните процеси в съседните клетки чрез електрическото поле, което имат. По този начин те модулират възбудимостта не само на собствената си клетка, но и тази на околните.

Проводимостта на нервното влакно е обусловена от електрическите импулси, които се разпространяват по повърхността на мембраната. При провеждането на възбудния процес има известни различия при миелиновите и амиелиновите нервни влакна (Фиг. 4).

В амиелиновото влакно всеки участък от мембраната е равностоеен по отношение на йонната пропускливост. Поради това провеждането на възбудата се реализира чрез генериране на акционен потенциал във всеки възбуден участък от мембраната. Тъй като константата на дължината е от порядъка на 2 – 3 mm, в амиелиновото влакно не е възможно придвижването на възбудата на големи разстояния.

В миелиновите влакна мембраната в различните участъци има различна йонна пропускливост. Тази пропускливост е възможна само в областта на прекъсванията на Ранвие. Йонната динамика се осъществява не в непосредствено съседство (както е при амиелиновите влакна), а между съседните прекъсвания, където отсъства миелин (т.нар. салтаторно провеждане). В прекъсванията на Ранвие клетъчната мембрана има най-много йонни канали и е най-електровъзбудима. Затова деполяризация настъпва само в тях. При това „прескачане“ на възбудния процес се постигат няколко биологично обусловени предимства: а. Значително се повишава скоростта на провеждане на възбудния процес (около 100 – 120 m/s при миелиновите спрямо 1 – 2 m/s при амиелиновите влакна); б. Салтаторното провеждане е много по-икономично по отношение на мембранный йонен транспорт. В миелиновите влакна натриево-калиевата помпа консумира по-малко енергия, тъй като йонната динамика в тях се осъществява в ограничени мембранны участъци (в прекъсванията на Ранвие), а скоростта на затихване на локалния потенциал е по-малка в сравнение с тази на амиелиновите нервни влакна. в. Наличието на миелинова обвивка увеличава надеждността на провеждането на нервния импулс. В случаи на спонтанна или индуцирана локална загуба на проводимост акционният потенциал може да преминава не само върху съседните прекъсвания на Ранвие, но и на по-големи разстояния (през 4–5 прекъсвания).

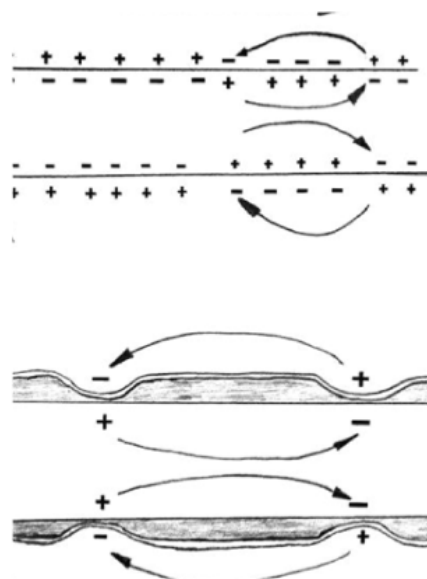
Възникналата в процеса на еволюцията миелинизация на нервните влакна при хомойотермните животни осигурява не само висока скорост на провеждане на възбудата (а следователно и бърза реакция под действието на дразнителите), но и наличие на огромен брой информационни канали за осъществяване на сензорна и моторна активност при малък просвет на проводящите пътища. По такъв начин с еволюционното развитие на организмите става усъвършенстване не само на централните нервни структури, но и на периферните нервни канали, чрез които се осъществява провеждане на информацията.

3. Синапси и видове медиатори

3.1. Характеристика на синапсите

Местата на свързване на нервните клетки помежду им или с ефекторен орган се означават като синапси. Те се намират по окончанията на дендритите и аксона. В зависимост от характера на предизвикания ефект (възбуждане или задържане) синапсите се означават като възбудни или задържни. Съществуват два механизма синаптично предаване – електрически и химичен, респ. съществуват химични и електрически синапси (фиг. 5).

Химичните синапси провеждат импулсите посредством химическо вещество, наречено медиатор (трансмисер). Този механизъм за синаптично предаване на възбудния процес е по-разпространен и е по-съвършено средство за приспособяване и усъвършенстване на нервната тъкан. Чрез химическите синапси се осигурява еднопосочност на предаването на възбудния процес – от пресинаптичната към постсинаптичната клетка, но не и в обратната посока (Фиг. 5 Б1). Освен това те позволяват при предаване на възбуждането от клетка на клетка да се извършва обработка на информацията. Предаването на възбудния процес чрез електрическите синапси се извършва посредством протичане на йонен ток. В някои синапси се наблюдават и двата принципа на предаване на информацията (химически и електрически), като те се наричат смесени.



Фиг. 4. Деполяризация на клетъчната мембрана на амиелиновите (А) и на миелиновите (Б) нервни влакна (по Куланд и Чеснокова, 1973)

3.2. Химически синапс (Фиг. 5 Б)

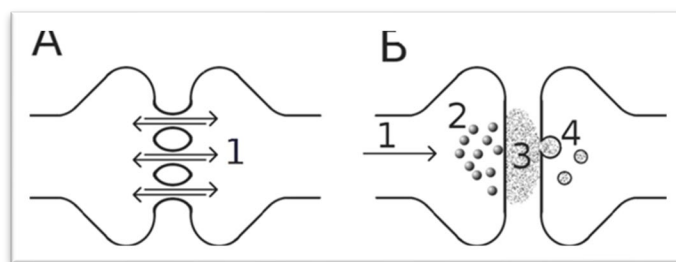
Крайните окончания на аксона завършват с разширение, наречено синаптична колба, с големина от 0,5 до 1 μm . В синаптичната колба се намират множество мехурчета (везикули) с диаметър от 30 до 100 nm, изпълнени с медиатор (Фиг. 22 Б2). Освен тях в синаптичната колба се намират също и митохондрии, обезпечаващи енергийно предаването на възбудния процес. Синаптичната колба е обвита от пресинаптична мембрана. Съседната клетка е обвита от постсинаптична мембрана, като разстоянието между двете мембрани оформя синаптично пространство с ширина около 20 nm (Фиг. 3 Б3). Разстоянието му е достатъчно, за да спре предаването на възбудния процес по електрически път. Частта от постсинаптичната мембрана, намираща се непосредствено срещу колбата, се нарича субсинаптична мембрана. В нея се намират медиаторни рецептори, които имат белтъчна природа. Тяхната пространствена структура спомага за свързването им с медиатора.

Отделянето на медиатора от везикулите се извършва чрез екзоцитоза. При достигането на деполяризацията в дисталния край на аксона в пресинаптичната мембрана се отварят потенциалзависими Ca^{2+} канали.

Тъй като градиентът на калциевите йони е по-голям в междуклетъчното пространство, отколкото в синаптичната колба, те навлизат в синапса и предизвикват освобождаване на складирания във везикулите медиатор. Той дифундира през синаптичната цепка, свързва се с рецептори върху постсинаптичната мембрана и предизвиква промени в нейния мембранен потенциал. Възникването на постсинаптичен потенциал се осъществява чрез различни механизми. В едни случаи рецепторът е част от йонен канал и при взаимодействието му с медиатора настъпват конформационни изменения в него, които предизвикват отваряне или затваряне на канала. В други случаи рецепторът има ензимна природа и при взаимодействие с медиатора се променя неговата активност. Това води до образуване на вторична субстанция (АМФ), която променя проницаемостта на клетъчната мембрана за дадени йони.

Промените в мембрания потенциал на постсинаптичната мембрана са възбуждащи (деполяризация) или задържащи (хиперполяризация) постсинаптични потенциали в зависимост от природата на медиатора. Когато под действието на медиатора се повишава проницаемостта на субсинаптичната мембрана за Na^+ , те навлизат във вътрешността на клетката и предизвикват бърза деполяризация (възбуждащ постсинаптичен потенциал). Тъй като субсинаптичната мембрана е електроневъзбудима, възбудният потенциал се разпространява на малко разстояние и е със затихващ характер. Когато до синапса достигнат дразнения с висока честота, изпреварваща скоростта на затихване, възникващите потенциали в постсинаптичната мембрана се сумират. Сумацията може да бъде времева (при бързо отделяне на порциите медиатор) или пространствена (ако върху сомата и дендритите се намират голям брой близко разположени синапси).

Ако под действието на медиатора се повиши пропускливостта на постсинаптичната мембрана за K^+ и Cl^- , калиевите йони излизат на повърхността, а хлорните навлизат в дълбочина на клетката. Настъпва хиперполяризация, респ. задържащ постсинаптичен потенциал. Той възниква бързо и бързо се преустановява. Подобно на възбуждащия, и за задържащия потенциал са характерни времева и пространствена сумация. При разпространението му в съседни участъци той може да взаимодейства с протичащи наблизо възбуждащи постсинаптични потенциали, като модулира тяхната активност. Ако върху дендритите или сомата попаднат едновременно два възбуждащи потенциала, те се комбинират и ще предизвикат по-голяма поляризация, отколкото всеки самостоятелно. Ако единият е възбуждащ, а другият – задържен, те ще се неутрализират. От пресинаптичните окончания на един неврон могат да се отделят един или повече медиатори. От друга страна, в субсинаптичната мембрана могат да се намират различни медиаторни рецептори. Това определя голямото разнообразие от биологични ефекти, предизвикани от химичното синаптично предаване, и огромните функционални възможности на нервната система и в частност на главния мозък.



Фиг. 5. Схема на електрически (А) и химичен (Б) синапс

3.3. Видове медиатори

Известни са повече от 50 химически вещества, които имат медиаторно действие. Една част от тях са нискомолекулни – ацетилхолин, аминокиселини и биогенни амини. Синтезират се в крайните окончания на аксона на пресинаптичните клетки и се складира във везикулите в синаптичната колба. При предаването на възбудния процес те се изливат в синаптичната цепка в голямо количество. Нискомолекулните медиатори имат бърз и краткотраен физиологичен ефект. Те действат само в границите на един синапс.

Другата основна група медиатори са неuropeптидите. Те са високомолекулни протеини – ендорфини, енкефалини, брадикинин, невротензин и др. Участват в синаптичното предаване между неврони в главния мозък (предимно в стволната част и в междинния мозък), но се образуват също и от някои ендокринни жлези (хипофиза и др.), както и в някои вътрешни органи (в стената на стомаха и тънките черва, в бъбреците, в сърцето). Синтезират се в сомата на неврона от телцата на Нисл. Освен в границите на един синапс, неuropeптидите могат да се транспортират чрез кръвта и да имат ефект на място, отдалечено от образуването си (ендокринно действие).

За осъществяване на последователните етапи на невротрансмисията е необходимо време. Това предизвиква закъснение от порядъка на няколко ms в провеждането на импулсите през химическите синапси, означавано като синаптична задръжка. При продължително функциониране на синапса настъпва умора. Тя се изразява в намаляване на количеството на отделяния медиатор и на амплитудата на постсинаптичния потенциал, както и в увеличаване на синаптичната задръжка.

След осъществяване на ефекта на медиатора върху постсинаптичната мембрана той се инактивира. Инактивацията се осъществява по няколко начина – чрез ензимното му разграждане в субсинаптичната мембрана, чрез ретрограден активен транспорт към синаптичната колба или инактивация от глиалните клетки.

3.4. Електрически синапси (Фиг. 3 А)

В нервната система електрическото синаптично предаване се среща рядко и се наблюдава в достатъчна степен на сигурност само в гигантския синапс на морския рак. През този синапс електрическите импулси се предават еднопосочно. Амиелиновите нервни влакна могат да си предават акционен потенциал посредством електрично поле.

На мястото на синаптичния контакт се намират тънки нишки, които съединяват двете структури на синапса. Най-вероятно това са йонни каналчета, през които протича електрически ток. За разлика от химическите синапси предаването на възбудния процес се извършва двупосочно (Фиг. 3 А1) и с по-голяма скорост. Електрическите синапси могат да предават както възбудни, така и задръжни процеси.

Нервната система осъществява връзката на организма със средата и го адаптира към непрекъснато изменящите се условия в нея. Тя пуска в ход и регулира дейността на органите и системите, и осигурява функционалното единство на организма. Подялбата на нервната система (НС) се извършва по два принципа: топографски и функционален. Според топографския принцип НС е **централна**, чиито структури са разположени в черепната кухина и гръбначния канал (главен и гръбначен мозък) и **периферна**, чиито структури са извън тези кухини (периферни нерви, възли и рецептори). Според функционалния принцип НС е **соматична**, която осъществява връзката на организма с околната среда и осигурява инервацията на скелетните мускули и **вегетативна**, която регулира и координира дейността на вътрешните органи, кръвоносните съдове и жлезите.

Основната тъкан, която изгражда структурите на нервната система е нервната тъкан. Тя се

състои от два основни клетъчни типа: високоспециализирани функционални клетки (неврони) и клетки с поддържаща функция (глиални клетки). Невроните са способни да възприемат дразненията от външната или вътрешната среда на тялото, да се възбудят и да провеждат нервни импулси, а глиалните клетки (невроглия) имат опорна, трофична, защитна и секреторни функции. **Невронът** е основна морфологична и функционална структура на нервната тъкан (Фигура 1). Притежава клетъчно *тяло* (сома, перикарион);

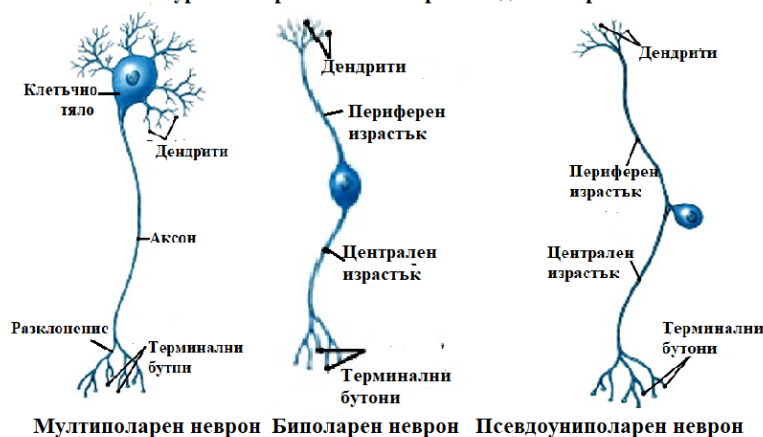
къси, разклонени в близост до тялото израстъци – *дендрити* и дълъг израстък, наречен *аксон* или *неврит*. Тялото съдържа основната част от цитоплазмата, ядрото и клетъчните органели. Нервният импулс се пренася от дендритите към перикариона и от него към аксона.

По-голямата част от аксоните са покрити с миелинова обвивка, която се образува от клетъчната мембрана на един вид невроглиялни клетки – Шванови клетки (в ПНС) и олигодендроти (в ЦНС). На места миелиновата покривка се прекъсва – т.нар. *прищъпвания на Ранвие*. Миелинът е мастно-белтъчно вещество, което придава белезникав цвят на аксона. Действа като електрически изолатор, предотвратявайки разсейването на импулсите и позволявайки им да „скачат“ между прекъсванията на Ранвие. Миелиновата обвивка е свързана с провеждане на възбуждането. Колкото е по-дебела, толкова по-голяма е скоростта на провеждане. Аксоните в края се разклоняват и завършват с окончания, наречени *терминални бутони*. Невронът има свойства на секреторна клетка. В перикариона се синтезират химични вещества (медиатори или невротрансмитери), които се пренасят до терминалните бутони и имат голямо значение при предаване на нервния импулс от един неврон на друг.

Видове неврони. Класификацията на невроните може да се направи по различни критерии:

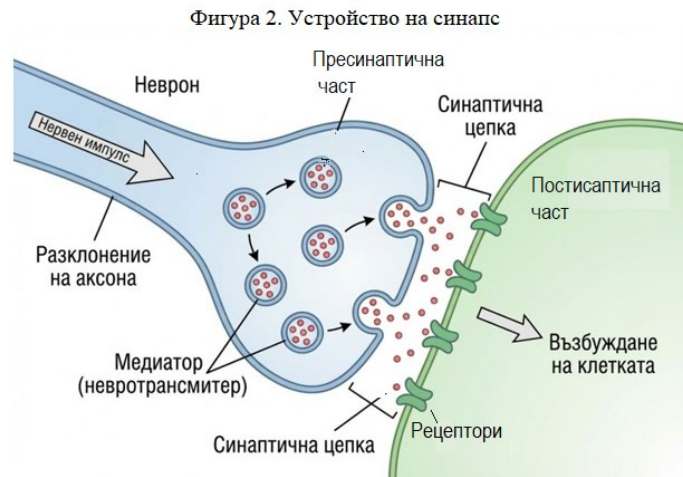
1. Според скоростта на провеждане: **А** неврони – богато миелинизирани, провеждат с най-голяма скорост. **В** неврони – слабо миелинизирани, провеждат с по-малка скорост. **С** неврони – немиелинизирани, провеждат с най-малка скорост.
2. Според големината на перикариона: клетъчното тяло варира в широки граници – от 3 – 4 μm до 120 μm и в зависимост от това невроните се делят на – гигантски, големи, средни, малки и много малки.
3. Според формата на клетъчното тяло: звездовидни, пирамидни, крушовидни, вретеновидни, овални и пр.

Фигура 1. Устройство на неврон. Видове неврони.



4. Според броя на израстъците: *многополюсни* (мултиполарни) – имат много дендрити и един аксон и са най-много в нервната система; *двуполюсни* (биполарни) – имат два израстъка, изхождащи от двата полюса на тялото. Единият (по-къс) израстък, е централен и е насочен към структурите на ЦНС, а другият (по-дълъг), е периферен, достигащ до рецептори, разположени в различни части на тялото; *псевдоеднополюсни* (псевдоуниполарни) – имат един къс израстък, който Т-образно се разделя на два противоположни клона (периферен и централен).
5. Според функциите невроните биват: сетивни, двигателни и междинни (интерневрони).
6. Според посоката на провеждане на нервните импулси – аферентни (пренасят импулси от периферията към мозъка), еферентни (пренасят импулси от мозъка към периферията) и асоциативни (свързват аферентните с еферентните неврони).

Невроните се свързват помежду си чрез **синапси** (Фигура 2). Те представляват специализирани контакти между две нервни клетки или между нервна и ефекторна клетка (мускулна или жлезиста), чрез които става предаване на нервния импулс. Синапсът има три части: 1. *пресинаптична част* – това най-често е крайното окончание на аксона (мембраната на терминалния бутон). Тази част е разширена и съдържа множество митохондрии и малки мехурчета (везикули) с определено химическо вещество (медиатор). 2. *постсинаптична част* – това е мембраната на следващия неврон. На нея се разполагат рецептори (протеини), които могат специфично да се свържат с медиатора. 3. *синаптична цепка* – пространството между двете части, което е широко около 20 nm. Когато нервният импулс достигне пресинаптичната част, медиаторът се отделя от везикулите, дифундира в синаптичната цепка и се свързва с рецепторите на постсинаптичната част. В резултат на това настъпва деполяризация (възбуждане) или хиперполяризация (задържане) на постсинаптичната мембрана в зависимост от характера на медиатора. Според контактуващите части на невроните синапсите биват: *аксо-соматични*, *аксо-дендритни*, *аксо-аксонални* и *дендро-дендритни*.



В ЦНС нервната тъкан е организирана в сиво и бяло мозъчно вещество. **Сивото вещество** (substantia grisea) е изградено от телата на невроните, дендритите, невроглия и кръвоносни съдове. **Бялото вещество** (substantia alba) е изградено от аксоните на невроните, невроглия и кръвоносни съдове. Аксоните в бялото вещество се групират и образуват добре оформени снопчета.

Произход. НС произлиза от ектодермата. По гръбната страна на зародиша се появява нервна пластинка (плочка), която към края на първия месец се превръща в нервна тръба. Предният край на тръбата задебелява и от него се обособяват три мозъчни мехурчета (предно, средно и задно), от които по-късно се развиват частите на главния мозък. От задния край на тръбата се оформя гръбначния мозък.

Краен мозък – външно описание на хемисферите и вътрешен строеж.

Крайният мозък (telencephalon) се развива от предното мозъчно мехурче във връзка с обонянieto, инстинктивното и съзнателно поведение на човека. Той е най-голямата част на главния мозък и представлява 80% от масата му. Нарича се още голям мозък (cerebrum). Изграден е от две **полукулба** (хемисфери), разделени едно от друго с надлъжна цепка, в дъното на която се намира бяло образувание, наречено **мазлесто тяло** (corpus callosum). То е съставено от миелинови нервни влакна, преминаващи от едната в другата хемисфера. Полукулбите имат овална издължена форма с *три повърхности*: горновъншна (изпъкнала), медиална (плоска) и долна. По повърхността на полукулбите преминават множество бразди (sulci cerebri), които ограничават мозъчни гънки или извивки (gyri cerebri). От три основни бразди (*централна, латерална и темменно-тилна*), полукулбите се разделя на **четири дяла**: *челен* (lobus frontalis), *теменен* (lobus

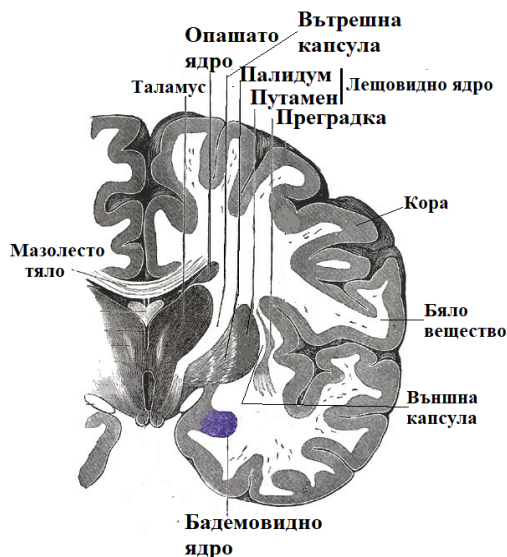
parietalis), *тилен* (lobus occipitalis) и *слепоочен* (lobus temporalis). Във всеки дял се намират бразди от втори порядък, които ограничават съответни мозъчни извивки (фигура 3). По-важни извивки на полукълбото са: По горно – външната повърхност в **челния дял** – предцентрална гънка (*гирус прецентрaлис*) и три челни гънки (*гирус фронтaлис супериор*, *гирус фронтaлис медиус*, *гирус фронтaлис инфериор*); в **теменния дял** – задцентрална гънка (*гирус постцентрaлис*) и две теменни делчета – горно и долно (*лобулус париетaлис супериор* и *лобулус париетaлис инфериор*); в **слепоочния дял** – три хоризонтални слепоочни гънки (*гирус темпорaлис супериор*, *гирус темпорaлис медиус*, *гирус темпорaлис инфериор*); в **тилния дял** – няколко тилни гънки (*гири оксипитaлис*). По медиалната повърхност – поясна гънка (*гирус цингули*), клин (*кунеус*), предклиние (*прекунеус*), парацентрално делче (*лобулус парацентрaлис*). По долната повърхност – права гънка (*гирус ректус*), орбитални гънки (*гири орбитaлис*), парахипокампова гънка (*гирус парахипокампа-лис*).

Фигура 3. Бразди и гънки на хемисферите



Всяко полукълбо се състои от части, с различна филогенетична възраст: *мозъчна кора*, *бяло мозъчно вещество*, *базални ядра*, *странично мозъчно стомахче*, *обонятелен мозък*, *лимбична система*. **Мозъчната кора** (*cortex cerebri*) е най-силно развита и покрива останалите части като плащ. Във филогенетично отношение тя е най-младото образуване на нервната система (неенцефална част). **Бялото вещество** (*substantia alba*) също е неенцефална част. Изградено е от нервни влакна, невроглия и кръвоносни съдове. Според посоката си нервните влакна са три вида: 1) *асоциативни* – свързват части на едно и също полукълбо. Те биват *къси*, свързващи съседни извивки и *дълги*, свързващи различните дялове на полукълбото; 2) *комисурални влакна* – свързват симетрични части от двете полукълба, влизайки в състава предимно на мазолестото тяло; 3) *проекционни влакна* – свързват кората на хемисферите с други части на главовия мозък и с гръбначния мозък. Съобразно посоката, в която провеждат влакната биват *низходящи* – двигателни, достигащи до по-ниско стоящи части на ЦНС и *възходящи* – сетивни, идващи от други части на мозъка до кората. **Базалните ядра** на хемисферите представляват струпвания от сиво вещество (видими при срез) в основата на полукълбата, сред бялото вещество (фигура 3). Към базалните ядра спадат: *опашато ядро* (*nucleus caudatus*) – има форма на запетая и дължина около 7 см. Притежава широка предна част – глава и дълга опашка, която се извива върху таламуса от междинния мозък; *лещовидно ядро* (*nucleus lentiformis*) – разполага се латерално от опашатото

Фигура 4. Базални ядра на хемисферите



ядро, като се отделя от него чрез слой бяло вещество (*вътрешна капсула*). Има форма на двойно-изпъкнала леща. Състои се от външна, по-тъмна част – *черупка* (путамен) и вътрешна, по-светла част – *бледо тяло* (палидум). Опашатото и лещовидното ядро, заедно с разположеното по между им бяло вещество формират т.нар. *ивичесто тяло* (*corpus striatum*). Двете ядра функционират в тясно взаимодействие с коровите двигателни зони и до голяма степен са отговорни за двигателния контрол на тялото. Имат ключово участие в екстрапирамидната система, осигурявайки плавност, прецизност и координация на произволните движения, както и в регулиране на мускулния тонус. Увреждането на различни части от ядрата предизвиква сложни нарушения в регулацията на движенията – т.нар. паркинсонов синдром (тремор, мас-

ковидно лице, скованост на мускулите и др.); *преградката* (claustrum) представлява вертикална нагъната сива пластинка, с дебелина 1-2 мм, разположена в страни от лещовидното ядро. От него се отделя чрез тънък слой бяло вещество (външна капсула); *бадемовидното ядро* (corpus amigdaloidium) е сива маса, намираща се в дълбочина на бялото вещество в слепоочния дял. То е основна част на лимбичната система. **Страничното мозъчно стомахче** (ventriculus lateralis) е чифтна кухина, разположена във вътрешността на съответната хемисфера (лява и дясна) и е остатък от ембрионалното предно мозъчно мехурче. Състои се от четири части, разположени в различните дялове на хемисферата: *централна част* – в теменния дял; *преден рог* – в челния дял; *заднен рог* – в тилния дял; *долен рог* – в слепоочния дял. Във вътрешността на стомахчето има съдов сплит, отделящ цереброспинална течност (ликвор). Чрез отвора на Монро предният рог се свързва с кухината на третото мозъчно стомахче в междинния мозък. **Обонятелният мозък** е свързан с приемане и анализиране на обонятелната информация. Това е филогенетично най-старата част на полукълбото, която у човека е сравнително слабо развита.

Има два дяла – периферен и централен. **Периферният дял** включва няколко, свързани едно с друго, образувания: *обонятелна луковица*, *обонятелен път*, *обонятелен триъгълник*, *обонятелно поле*. Структурите залягат по долната повърхност на челния дял. Те приемат и обработва първичната информация за миризмите, разграничавайки различните аромати. След това предават данните към централния дял на мозъка за по-нататъшна интерпретация. Към **Централният дял** се отнасят главно: *извивка на морския кон* (gyrus hippocampus) – особена гънка на кората, вдадена (втлачена) в долния рог на страничното стомахче и изолирана с бяло вещество; *бадемовидно ядро* (амигдала). Хипокампусът участва в запаметяването на миризмите, а амигдалата добавя емоционален заряд, правейки спомените за различните аромати емоционално наситени. Обонятелният мозък има много връзки с лимбичната система, като някои от неговите структури са част от тази система. **Лимбичната система** включва мозъчни структури, разположени около мазолестото тяло. Тя отговаря за емоционалното състояние, настроението, паметта, инстинктите и обонянето. Морфологично към нея се отнасят едни от най-старите образувания на кората: *извивка на морския кон* (хипокампус) – има основна роля при обучение и памет – формиране на краткосрочна памет и нейното преминаване в дългосрочна; *поясна гънка*, *парахипокампусова гънка*, *зъбчатата гънка* – ключови корови структури, свързани с внимание, пространствено възприемане и формиране на спомени. Освен корови гънки към лимбичната система се отнасят и редица ядра: *бадемовидното ядро* – обработва емоции като страх и гняв, участва в емоционалната памет и формиране на реакции „борба или бягство“; някои *ядра на междинния мозък* (сисовидни телца, ядра на таламус и на епиталамус). Всички части на лимбичната система са свързани помежду си чрез нервни влакна. Невроните на тази система притежават и многобройни връзки с кората, с мрежестата формация и с хипоталамуса. По този начин в лимбичната система се осъществява интеграция на соматична, вегетативна и обонятелна информация.

Кора на крайния мозък. Цито- и миелоархитектоника на кората

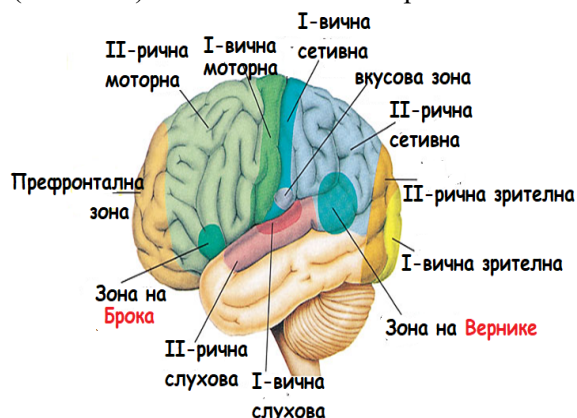
Кората (cortex cerebri) представлява слой сиво вещество, покриващо повърхността на хемисферите. Дебелината ѝ варира от 1.5 до 5 mm. Тя е силно набраздена и нагъната. Съдържа около 14 – 20 милиарда неврони, които влизат в множество контакти. В строежа ѝ участват разнообразни по форма, големина и функции нервни клетки, които се групират в два основни типа: пирамидни и зърнести (звездовидни). *Пирамидните* неврони са най-многобройните клетки (66%). Тяхната големина варира между 15 – 120 μm . *Зърнестите* неврони са с по-малък размер (8-14 μm), с редуцирана цитоплазма и силно разклонени дендрити. Те са около 33% и съществуват в няколко разновидности (вретеновидни клетки, хоризонтални клетки на Кахал, клетки на Мартиноти, кошничкови клетки и др.). В кората клетките се подреждат по определен начин, като образуват слоеве, които се различават по количество и вид на изграждащите ги неврони. Това подреждане на клетките в слоеве се нарича **цитоархитектоника**. В по-голямата част от кората (9/10) клетките образуват шест слоя. Такава кора се обозначава като *еднаква кора* (*изокорткс*). От повърхността към дълбочината слоевете са: I. молекулярен слой – предимно неvroглиялни клетки и преплетени нервни влакна; II. външен зърнест слой – малки зърнести и пирамидни клетки; III. външен пирамиден слой – малки до средно големи пирамидни клетки; IV. вътрешен зърнест слой – малки зърнести клетки; V. вътрешен пирамиден слой – големи пирамидни клетки (гигантски клетки на Беца); VI. полиморфен слой – разнообразни по форма клетки. Останалата 1/10 от мозъчната кора има по-малко слоеве (3 – 4 слоя) и се обозначава като *друга кора* (*алокорткс*).

Израстъците на невроните в кората също са подредени в определен ред и това се нарича **миело-архитектоника**. Нервните влакна се разполагат в кората в две посоки: вертикално или хоризонтално. *Вертикалните влакна* според посоката на провеждане са аферентни или еферентни. *Хоризонталните влакна* формират бели ивици, разграничаващи отделните слоеве на кората.

Локализация на функциите в кората

Кората е най-новата формация в строежа на нервната система и в нея са локализирани най-висшите нервни функции като мислене, памет, говор, въображение, планиране, сензорна обработка и пр. На функциите на кората са подчинени пряко или косвено всички останали части на нервната система. Във функционално отношение кората се разделя на различни зони – първични зони (сетивни и двигателни), вторични зони (асоциативни) и третични зони (психични). По-важни зони на кората са:

Първична моторна зона – разположена предимно в предцентралната гънка. От тук започват пирамидните пътища, свързани с волевите движения в противоположната половина на тялото. Увреждането на зоната води до *парализа* на противоположната мускулатура. **Вторична моторна зона** (асоциативна зона) – обхваща задните части на трите челни гънки. От тук се подреждат и съгласуват в последователен ред отделните движения. При увреждане настъпва *несръчност (апраксия)* – невъзможност за координация на отделните движения при изпълнение на сложно действие. **Префронтална зона**



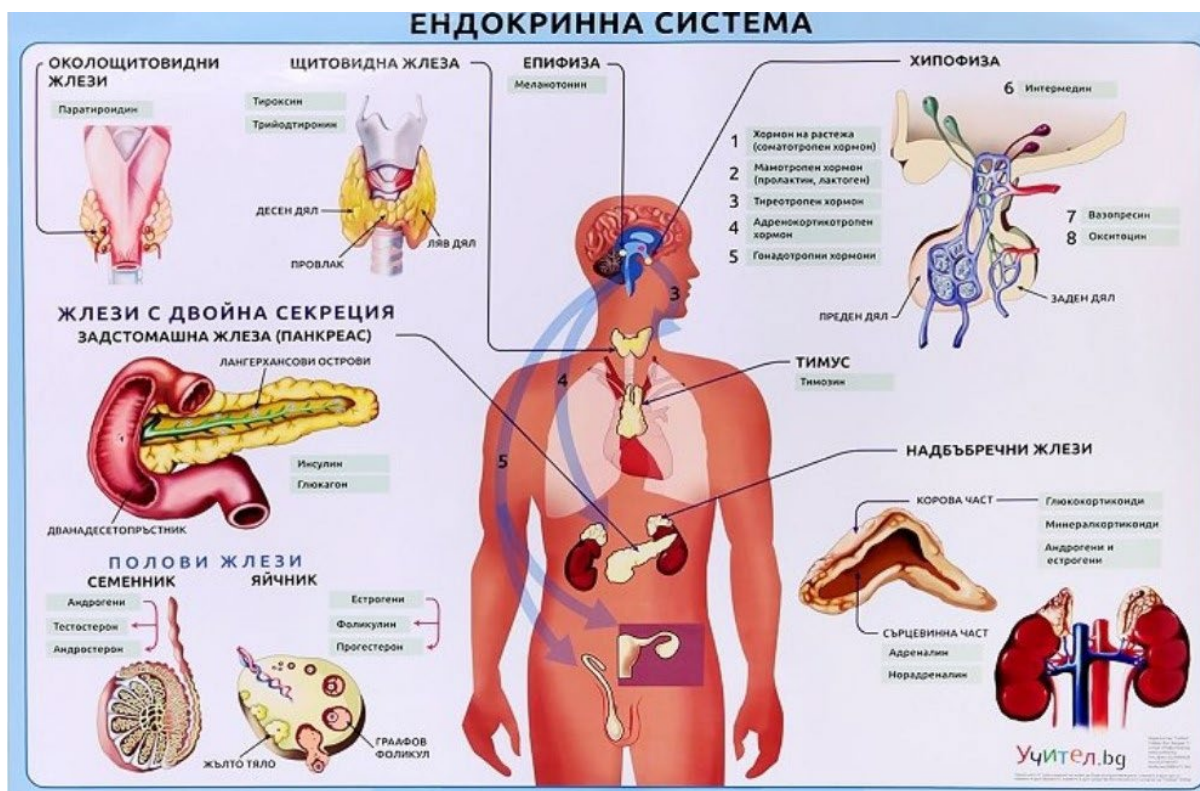
(третична зона) – заема предната част на челния дял (челния полюс). Това е ключова област в мозъка, брабтоваша когнитивна информация. Регулира социалното поведение, емоциите и вземането на решения. Увреждането на зоната води до разстройство на личността – антисоциално поведение, нарушения в планирането, преценката и контрола на импулсите, постепенна деградация. **Първична соматосетивна зона** – обхваща предимно задцентралната гънка. До нея достига информация за повърхностна и дълбока (проприоцептивна) сетивност. При увреждане настъпва пълна безчувственост. **Вторична соматосетивна зона** (асоциативна зона). Обхваща областта на горното теменно делче. Тук се анализират и синтезират тактилни усещания. При увреждане настъпва **тактилна агнозия** – невъзможност за разпознаване на предметите чрез опипване. **Първична зрителна зона** – обхваща гънки в тилния дял, около браздата на птичата шпора. До тази част достигат първични зрителни усещания (светлинни сигнали). При увреждане настъпва слепота. **Вторична зрителна зона** (асоциативна зона) – в тилния дял, около първичната зона. Тук се анализират и асоциират първичните зрителни сигнали и се различават предметите, разположението им в пространството и т.н. При увреждане на тази част настъпва **зрителна агнозия** – предметите се виждат, но не се разпознават. **Първична слухова зона** – обхваща средата на горната слепоочна гънка. Възприема първични звукови сигнали – честота, интензитет, посоката от която идват и пр. При увреждане на тази част настъпва глухота. **Вторична слухова зона** (асоциативна зона) – в горна слепоочна гънка, в близост до първичната слухова зона. В нея се извършва по-сложен анализ на звуковете – разпознаване на мелодии, език, емоционални нюанси и пр. При увреждането ѝ болният чува звуците, но не ги разпознава. **Обонятелна зона** – заема малка площ по медиалната страна на слепоочния дял (парахипокампова гънка). Тази зона обработва мирисни стимули и ги свързва с емоции чрез лимбичната система (амигдала, хипокамп). **Вкусова зона** – намира се в долната част на задцентралната гънка. Обработва вкусовите дразнения и ги интегрира с обоняние, допир и температура от устната кухина за цялостно усещане за вкус. **Центрове на речта** – разположени са в доминиращата хемисфера и отговарят за различни аспекти на речта: **двигателен център на устната реч** – в задната част на долната челна гънка (зона на Брока). При увреждане – загуба на говор (**двигателна афазия**); **слухов център на устната реч** – в задната част на горната слепоочна гънка (зона на Вернике). При увреждане болният чува думите, но не разбира техния смисъл (**слухова афазия**); **двигателен център на писмената реч** – отговаря за писането. Намира се в задната част на средната челна гънка. При увреждане – загуба на способност за писане (**аграфия**); **зрителен център на писмената реч** – отговаря за четенето. Намира се около края на страничната бразда. При увреждане – невъзможност за разчитане на написаното (**алексия**).

ЕНДОКРИННИ ЖЛЕЗИ – НАТОМИЧНИ И ФУНКЦИОНАЛНИ ОСОБЕНОСТИ. ХИПОФИЗА-ТОПОГРАФИЯ, МАКРО- И МИКРОСКОПСКО УСТРОЙСТВО, ХОРМОНИ НА АДЕНО- И НЕВРОХИПОФИЗАТА. ХИПОТАЛАМО-ХИПОФИЗНА СИСТЕМА. УСТРОЙСТВО И ХОРМОНИ НА ЩИТОВИДНАТА, НАДБЪБРЕЧНИТЕ И ЗАДСТОМАШНАТА ЖЛЕЗИ

Ендокринната система е изградена от жлезисти органи, разположени в различни части на тялото, които могат да бъдат отделни ендокринни клетки, тъканни и клетъчни комплекси в състава на даден орган, или цели жлезисти органи. Те секретират биологично активни вещества, наречени **хормони**, които отделят директно в кръвта.

Ендокринните жлези имат **следните анатомични и функционални особености**: 1. Няма отведен канал, а изливат секретите си директно в кръвта; 2. Имат малки размери и са богато кръвоснабдени от гъста капилярна мрежа. Стените на капилярите са фенестрирани (надупчени), което улеснява преминаването на секретираните хормони в кръвта; 3. Хормоните действат върху отделни прицелни (таргетни) клетки или органи, като проявяват своя ефект в малки количества. Регулаторното им влияние върху тях се осъществява с помощта на мембранни и вътреклетъчни рецептори. Повишената или понижената секреция на ендокринните жлези води до нарушения в дейността на редица органи и системи. Повишената секреция на хормони от жлезите се нарича **хиперфункция**, а понижената – **хипофункция**.

Според своя **ембрионален произход** ендокринните жлези са **три вида**: 1. **с ектодермален произход** (хипофиза, епифиза, сърцевина на надбъбречните жлези, параганглии и APUD-система); 2. **с мезодермален произход** (кора на надбъбречните жлези, вътрешносекреторната част на половите жлези); 3. **с ендодермален произход** (щитовидна и околощитовидни жлези, тимус и ендокринна част на панкреаса).



Изображение: Учител.bg [<https://uchitel.bg/>]

ХИПОФИЗА (*hypophysis*, *glandula pituitaria*) е нечифтна ендокринна жлеза, разположена в ямката на турското седло на клиновидната кост. Има сиво-червеникав цвят и големина на царевично зърно, със средно тегло около 0,5 – 0,7 g. Жлезата е тясно свързана структурно и функционално с хипоталамуса на междинния мозък чрез тънка дръжка – инфундибулум (*infundibulum*). Хи-

пофизата произвежда широк спектър от хормони, регулиращи дейността на останалите ендокринни жлези или други прицелни органи. В структурно отношение се състои от два основни дяла: **преден – аденохипофиза** (*adenohypophysis*) и **заден – неврохипофиза** (*neurohypophysis*).

Аденохипофизата има **три части**: *предна (pars distalis)*, разположена най-отред, най-голяма (около 75% от обема на жлезата) и богато кръвоснабдена; *средна (pars intermedia)*, която е тъсна пластинка, разположена на границата с неврохипофизата, и *задна част (pars tubularis)*, най-високо разположена и обхващаща отпред и отстрани дръжката на хипофизата. *Предната част на аденохипофизата* е изграден от два основни типа клетки – **хромofilни** (*ацидофилни и базофилни*), активно секретирани хормони, и **хромифобни** (*неутрофилни*), които не секретират хормони, а са резервни клетки.

Ацидофилните клетки секретират следните хормони:

– **Соматотропен хормон (СТХ, соматотропин)**, известен още като **растежен хормон**. Той има пряко действие, като стимулира растежа на отделни органи и тъкани, и на организма като цяло. Хормонът регулира увеличаването на ръста, развитието на мускулатурата, стимулира белтъчния и въглехидратния метаболизъм.

При *повишена секреция* (хиперфункция) на соматотропин в *детска възраст* се развива заболяването *гигантизъм*, което е съпроводено с много висок ръст – над 2.20 м, но с намалена физическа сила. При възрастни хиперфункцията води до *акромегалия*, при която нарастват късите кости на крайниците (пръстите на ръцете и ходилата), костите на носа, на долната челюст и други кости на лицето.

При *понижена секреция* (хипофункция) на растежния хормон в *детска възраст* се наблюдава изоставане в растежа, известно като *хипофизарен нанизъм* или *хипофизно джудже*. За това състояние е характерен нисък ръст (под 1 m), запазени пропорции на тялото и запазен интелект.

– **Пролактин (ПЛ; лактотропен хормон)** – повлиява директно дейността на млечната жлеза, като стимулира отделянето на кърма след раждане и съвместно с гонадотропните хормони влияе върху функцията на половите жлези.

Базофилните клетки секретират:

– **Тиреотропен хормон (ТТХ)** – стимулира образуването и секрецията на тиреоидни хормони в щитовидната жлеза и усвояването на йод от нейните фоликулни клетки.

– **Адренокортикотропен хормон (АКТХ, кортикотропин)** – активира синтеза и отделянето на хормони от кората на надбъбречните жлези, като влияе най-силно върху продукцията на глюкокортикоиди.

– **Гонадотропни хормони (ГТХ)**, които са два: **фоликулостимулиращ хормон (ФСХ)**, който стимулира овогенезата при жената и сперматогенезата при мъжа, и **лутеинизиращ хормон (ЛХ)**, стимулиращ развитието и узряването на Граафовия фоликул, овулацията и образуване на жълтото тяло при жената, и синтеза на полови хормони от Лайдиговите клетки на тестисите при мъжа.

При *комбинирана хипофункция* (недостатъчна секреция на хормони) от предния дял на аденохипофизата се развива тежко състояние на общо нарушение в обмяната на веществата, известно като *хипофизна кахексия* (*болест на Simmonds*). Симптомите ѝ са рязко намаляване на тегло, мускулна атрофия, загуба на подкожни мазнини, хормонални нарушения, и др.

Средната част на аденохипофизата е слабо развита при човека (рудиментарно образуване), но въпреки това притежава хормонална активност. Основният хормон, който се синтезира от нейните клетки е **меланоцитстимулиращ хормон (МСХ)**, известен още като **интермеди**. Той оказва влияние върху синтеза и натрупването на пигмента меланин в пигментните клетки (меланоцити) на епидермиса на кожата, чието разпределение в цитоплазмата влияе върху тена на кожата. Меланинът има защитно значение, като предпазва кожата от вредното действие на късите ултравиолетовите лъчи.

Задната част на аденохипофизата е силно васкулизирана, като клетките ѝ образуват повлекла по дължината на кръвоносните съдове. Те синтезират **гонадотропни хормони – фоликулстимулиращ и лутеинизиращ**.

Неврохипофизата (*lobus posterior*) произлиза от ектодермата на междинния мозък и е изградена от специален вид невроглиевни клетки, наречени **питуицити**, които имат разклонени израстъци и **не секретират хормони**. Неврохипофизата отделя два хормона – **антидиуретичен хормон и окситоцин**, които се секретират в супраоптичното и паравентрикуларното ядра на хи-

поталамуса. От там по инфундибулума тези хормони се спускат в неврохипофизата, която ги отделя в кръвния ток при необходимост.

– **Антидиуретичният хормон (АДХ)**, известен още като **вазопресин**, регулира водния баланс на организма, като стимулира обратното всмукване на вода в проксималните каналчета на бъбречните нефрони, в резултат на което намалява количеството на отделяната крайна урина. Освен това хормонът предизвиква свиване на гладката мускулатура на кръвоносните съдове, което води до повишаване на артериалното налягане.

При *понижена секреция* на този хормон настъпва заболяването *безвкусен (беззахарен) диабет*, което се характеризира с непрекъсната жажда и голямо количество отделена урина (над 20 литра за 24 ч.), без наличие на глюкоза в нея, откъдето идва и името на болестта.

– **Окситоцинът**, известен още като **родов хормон** стимулира съкращенията на гладката мускулатура на матката по време на раждане (маточни контракции) и играе важна роля в родовия процес. Освен това активира съкращаването на миоепителните клетки на млечната жлеза, като подпомага отделянето на кърма. При мъжете окситоцинът стимулира съкращенията на гладката мускулатура около семенните каналчета в тестисите, подпомагайки придвижването а сперматозоидите. Хормонът се отделя също при прегръдка и оргазъм, заради което е наричан още „хормон на любовта“.

Хипофизата е тясно свързана структурно и функционално с хипоталамуса на междинния мозък в т.нар. **хипоталамо-хипофизна система**. Хипоталамусът чрез своите невросекреторни клетки синтезира специални регулаторни фактори, наречени **релизинг фактори** (releasing factors). Те по кръвен път достигат до аденохипофизата и въздействат на ендокринните ѝ клетки, които отделят хормони, повлияващи дейността на всички останали жлези с вътрешна секреция. Релизинг – факторите са два основни вида – **либерини и статини**. *Либерините* стимулират секрецията на хипофизни хормони (кортиколиберин, тиреолиберин, гонадолиберини и др), а *статините* я подтискат (соматостатин, пролактостатин, меланостатин и др).

Чрез хипоталамо-хипофизната система се осъществява връзката между нервната и ендокринната система, респективно между нервната и хуморалната регулация на организма. По този начин се осигурява поддържането на хомеостазата и координацията на редица жизненоважни физиологични и поведенчески реакции. Нервната система може да повлияе върху дейността на ендокринните жлези, и обратно. Но само при нормална функция на жлезите се осигурява нервно-хуморалното единство на организма.

ЩИТОВИДНАТА ЖЛЕЗА (*glandula thyroidea*) е най-голямата нечифтна ендокринна жлеза. Разполага се в предно-долната част на шията, върху гръкляна и трахеята, като е покрита отпред от долните подезични мускули. Встрани от нея минава съдово-нервният сноп на шията, а отзад – гълтача и хранопровода. Има червеникаво-кафяв цвят и мека консистенция. При нормални условия тежи средно около 20 – 40 g, като при жените е малко по-тежка и се увеличава при бременност и менструация.

Анатомично жлезата е изградена от **два дяла – ляв и десен (*lobus dexter et sinister*)**, свързани помежду си чрез **провлак (*isthmus*)**. Всеки от дяловете има конусовидна форма, като върхът му сочи нагоре. Провлакът е разположен напречно, а от него нагоре често се издава израстък, наречен **пирамиден дял (*lobus pyramidalis*)**, с различна дължина, който е непостоянен и често може да липсва.

Субстанцията на жлезата е изградена от *строма и паренхим*. **Стромата** е представена от двулистна съединителнотъканна капсула (*capsula fibrosa*). Външният ѝ лист е свързан с шийната фасция и прилежащите анатомични структури, а вътрешният е тънък и прилепва плътно към жлезистата тъкан, като изпраща съединително-тъканни преградки (*septi*) навътре в нея, разделящи паренхима на жлезата на **делчета (*lobuli*)**. Делчетата са изградени от **фоликули**, които са основната структурна и функционална единица на жлезата. Те представляват мехурчести образувания, чиято стена е изградена от един ред фоликулни клетки – **тироцити**, с кубична форма, разположени върху базална мембрана. Кухината на фоликула е изпълнена с колоидна течност, а отвън той е богато кръвоснабден. Тироцитите имат различна височина, в зависимост от секреторната им активност. Те секретират хормоните **трийодтиронин (*T3*)** и **тироксин (*T4*)**, които се отделят в колоидната течност и от там попадат в капилярната мрежа, обвиваща фоликулите. За синтеза на тези хормони е необходимо наличие на йод, който нормално постъпва в организма чрез храната и питейната вода, а когато недостига в тях – чрез йодиране на готварската сол. **Тироксинът** представлява прохормон, който в периферните тъкани се превръща в биологично активен **трийодтиронин**. Хормоните на

щитовидната жлеза стимулират обмяната на веществата, повлияват дейността на нервната система и участват в процесите на енхондрална остеогенеза. Освен това имат изразен катаболичен ефект, като ускоряват разграждането на въглехидратите, липидите и белтъците, а също така играят важна роля за нормалното развитие на нервната система, костно-мускулния апарат и формирането на вторичните полови белези. Тироксинът допълнително повишава възбудимостта на централната нервна система. Функционалната активност на фоликулните клетки се контролира директно от тиреотропния хормон (TSH) на аденохипофизата.

Хипофункцията на щитовидната жлеза в *детска възраст* води до развитие на *кретенизъм*, който се характеризира с тежко изоставане във физическото и умственото развитие, нисък ръст, недоразвита костна система и нарушена реч. Заболяването се среща най-често в райони с йоден дефицит. Освен това *хипофункцията на жлезата в ендемичните на йод райони* води до развитие на заболяването *ендемична гуша*, при което жлезата се разраства (хипертрофира), но количеството на хормоните е недостатъчно. В *зряла възраст* хипофункцията на жлезата води до заболяването *микседем*, проявяващо се в понижена основна обмяна, ниска телесна температура, суха и подпухнала кожа със слuzест характер, забавен пулс, сънливост и забавена психомоторна дейност.

Хиперфункцията на щитовидната жлеза води до развитие на *Базедова болест (тиреотоксикоза)*, при която се наблюдава повишена обмяна на веществата, учестен пулс, високо кръвно налягане, повишена нервна възбудимост, тремор на ръцете, загуба на телесна маса и характерно изпъкване на очните ябълки (екзофталм).

Освен фоликулните клетки, в щитовидната жлеза се срещат и друг вид ендокринни клетки – по-светли, разположени на групи между фоликулите (от външната страна на базалната мембрана) и не достигащи до колоида. Наричат се **околофоликулни, или С-клетки**. Те секретират нейодсъдържащия хормон **калцитонин**, чието действие е свързано с понижаване нивото на калция в кръвта, в резултат на потискане на костната резорбция. Този хормон е антагонист на паратхормона на околощитовидните жлези и помага за поддържане на костната плътност.

НАДБЪБРЕЧНИТЕ ЖЛЕЗИ (*glandulae suprarenales*) са чифтни ендокринни жлези, разположени върху горния полюс на всеки бъбрек. Дясната надбъбречна жлеза тежи около 4 – 5 g, и гледана отпред има триъгълна форма. Лявата жлеза има тегло около 5 – 7 g. и полулунна форма. Двете жлези се намират в ретроперитонеалното пространство на коремната кухина и заедно с бъбреците са разположени между двата листа на бъбречната фасция.

При напречен пререз се вижда, че всяка надбъбречната жлеза се състои от две **ясно разграничени части** – **кора (cortex)** и **сърцевина (medulla)**, обвити от фибозна капсула. Двете части се различават по устройство, ембрионален произход и функция.

Кората има мезодермален произход и заема по-голямата част от жлезата. В нея се разграничават **три зони** – **външна, средна и вътрешна**, като съотношението между тях се променя с възрастта. Всички хормони, синтезирани от кората на надбъбречната жлеза, са **стероиди** по химична природа.

Външната зона (zona glomerulosa) е разположена периферно, непосредствено под фиброзната капсула и заема около 15% от обема на кората. Ендокринните клетки в тази зона синтезират хормони, наречени **минералкортикоиди**, основно **алдостерон**. Тези хормони стимулират резорбцията на вода и натрий в бъбречни каналчета, като регулират нивата им в кръвта; усилват възпалителните процеси; стимулират колагенообразуването, като по този начин подпомагат зарастването на раните.

Средната зона (zona fasciculata) е най-широка, като заема около 60% от кората. Клетките ѝ синтезират **глюкокортикоидни хормони**, основно **кортизол и хидрокортизон**, които регулират въглехидратната, белтъчната и мастната обмяна. Отделят в големи количества при стресови ситуации, като помагат организма да се мобилизира при физическо и емоционално напрежение. Имат силно изразено противовъзпалително и противоалергично действие, като намаляват количеството на антителата. При по-продължителна хиперсекреция потискат колагенообразуването, което води до забавено зарастване на рани. При продължителни високи нива кортизолът потиска производството на имунни клетки като Т-клетки, В-лимфоцити и макрофаги, което води до отслабена имунна защита и по-голяма податливост към инфекции.

Вътрешната зона (zona reticularis) е разположена непосредствено до сърцевината и заема около 25% от обема на жлезата. Клетките ѝ секретират **надбъбречни полови хормони** – предшественици на мъжките и женските полови хормони (тестостерон и естрогени), които допълват тяхното действие. Имат значение за развитието на вторичните полови белези и либидото.

Хиперфункцията на коровата част на надбъбречната жлеза се означава като *хиперкортицизъм*. Клиничната картина зависи от това кои хормони са в свръхпродукция. При *повишена секреция на глюкокортикоиди* се развива *болестта на Иценко–Кушинг*, характеризираща се със централно затлъстяване (мазнини по корема и гърдите), тънки крайници „луноподобно“ лице, червено-виолетови стрии по корема и бедрата, високо кръвно налягане, захарен диабет и мускулна слабост.

Хиперфункцията на надбъбречни полови хормони в *детска възраст* води до *преждевременен пубертет*. В *зряла възраст*, при *жените* се наблюдава *вирилизъм* – развитие на мъжки вторични полови белези: окосмяване (брада, мустаци), мутация на гласа и нарушения в менструалния цикъл, често съпроводени от високи нива на кръвната захар. При *мъжете* може да се наблюдава *феминизация на телосложението*.

Хипофункцията на клетките на кората води до *болестта на Адисон (Бронзова болест)*, която се проявява с намалена основна обмяна, ниска телесна температура, понижено кръвно налягане, умора, слабост, загуба на тегло и характерна бронзова пигментация на кожата.

Сърцевината на надбъбречната жлеза е изградена от големи овални хромафинни клетки, които синтезират хормони, производни на аминокиселините, наречени **катехоламини**. Такива са хормоните **адреналин и норадреналин**. Те са производни на допамина и тяхното действие е симпатикоподобно т.е. аналогично на ефекта на симпатиковия дял на вегетативната нервна система. Отделят се в големи количества при стресови ситуации („хормони на стреса“), като мобилизират организма. **Адреналинът** подготвя тялото за реакция от тип „борба или бягство“, ускорява сърдечния ритъм, повишава силата на мускулните съкращения, разширява бронхите и повишава нивата на глюкозата в кръвта за бърза енергия. **Норадреналинът** предизвиква свиване на кръвоносните съдове и повишаване на кръвното налягане.

Между кората и сърцевината на надбъбречните жлези съществува тясно функционално взаимодействие. Едновременно им активиране води до мобилизация на целия организъм при **стрес**, чрез *усилено отделяне* предимно на хормоните *адреналин и кортизол*. За разлика от хормоните на кората, които реагират по-бавно, хормоните на сърцевината се освобождават мигновено при стрес, страх, болка или физическо натоварване, под въздействието на нервни импулси. Те осигуряват мобилизация на всички ресурси на организма за справяне с извънредни стресови ситуации. Надбъбречната жлеза е жизнено важен орган, като при едновременно отстраняване на двете жлези настъпва смърт.

ЗАДСТОМАШНАТА ЖЛЕЗА (ПАНКРЕАС) има едновременно външна и вътрешна т.е. смесена секреция. С външната си секреторна част произвежда панкреатичен сок, богат на храносмилателни ензими, а с вътрешносекреторната си част отделя хормони.

Разполага се в коремната кухина, ретроперитонеално, напречно върху задната коремна стена и зад стомаха, пред гръбначния стълб (L1 – L2). Има средна дължина около 20 cm, ширина – 4 – 5 cm, и тегло около 70 – 100 gr. На жлезата се различават **три части – глава, тяло и опашка**. **Главата**, *caput pancreatis* е дясната разширена част, изцяло обхваната от дванадесетопръстника. **Тялото**, *corpus pancreatis* е хоризонтално разположената част пред гръбначния стълб на нивото на 1 поясен прешлен, като има три повърхности и три ръба. **Опашката**, *cauda pancreatis* достига в ляво до хилуса на слезката. Фиксирането на жлезата се осъществява основно от съединителната тъкан, разположена зад нея.

Ендокринната част на панкреаса е представена от около **1,5 милиона „острови на Лангерханс“**, разпръснати сред външносекреторните клетки на жлезата. Те представляват кръгли струпвания, включващи четири вида ендокринни клетки, **инсулоцити** – А, В, D и PP-клетки, които синтезират различни **пептидни хормони**, най-важните от които са:

– **Инсулин** – секретиран от В-клетките. Те са около 75% от ендокринните клетки, разпръснати из острова. Инсулинът стимулира усвояването на глюкозата от клетките, като повишава проницаемостта на клетъчната мембрана за глюкозата, и по този начин подпомага навлизането ѝ в цитоплазмата на клетката. Освен това той е единственият хормон, който понижава нивото на кръвната захар (глюкозата) в кръвната плазма (хипогликемичен ефект). Но когато глюкозата в кръвта се натрупа в излишни количества инсулинът регулира складирането ѝ под формата на гликоген (резервен въглехидрат) в черния дроб и мускулите (гликогеногенеза).

Глюкагон – секретиран от А – клетките, които са около 20% от ендокринните клетки. Хормонът има противоположно действие на инсулина – стимулира разграждането на резервния гликоген до глюкоза (гликогенолиза), като повишава нивото ѝ в кръвта (хипергликемичен ефект).

Другите хормони, секретирани от ендокринните клетки на панкреаса са **соматостатин и панкреатичен полипептид (PP)**. Соматостатинът се секретира от D – клетките на Лангерхансовите острови, както и от някои невросекреторни клетки на хипоталамуса. Той има инхибиторен ефект върху освобождаването на инсулин, глюкагон и други хормони, включително растежен хормон, с цел поддържане на телесния баланс. **Панкреатичният полипептид (PP)**, синтезиран от PP-клетките играе регулираща роля в храносмилането и метаболизма.

Хипофункцията на В-клетките води до намалено отделяне на инсулин и развитие на **захарен диабет**.

I. Структура на антителата (имуноглобулини)

Антителата (имуноглобулини, **Ig**) са глобуларни гликопротеини, съставени от четири ковалентно свързани полипептидни вериги – две тежки (**H**) и две леки (**L**). Молекулата има ос на симетрия в резултат на еднаквата последователност и пространствена организация на двете двойки вериги. Молекулната маса е приблизително 150 kDa: H вериги – ~50 kDa; L вериги – ~25 kDa. Участващи от приблизително 100 – 110 аминокиселини по протежение на L- и H-веригите формират компактни и изключително стабилни структурни единици, стабилизиращи от вътрешверижни дисулфидни връзки и характерно подреждане на β -нагънати листове (β -sheets). Тези структурни единици се означават като имуноглобулинови **домени**. Четирите вериги заедно образуват характерната Y-образна структура, стабилизирана чрез дисулфидни връзки и нековалентни взаимодействия между Ig-домените.

Сходна Ig-подобна доменна организация откриват и при други рецепторни молекули като T – клетъчен рецептор (TCR), CD4, CD8, молекулите на главния комплекс за тъканна съвместимост MHC I и MHC II, както и адхезионни и костимулаторни молекули като ICAM-1, ICAM-2, CD28, B7 и др. Всички белтъци, съдържащи един или повече имуноглобулинови или имуноглобулин-подобни домени, се обединяват в т.нар. имуноглобулиново суперсемејство.

Класове (изотипове) имуноглобулини. При човека имуноглобулините се разделят на пет основни изотипа (класа): IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Класът IgG включва четири подкласа (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4), номерирани според относителното им разпространение в плазмата, като IgG1 е най-изобилен. Изотипът IgA има два подкласа (IgA1 и IgA2).

Тежките вериги се различават между отделните класове имуноглобулини, докато леките вериги могат да бъдат от тип κ или λ , като при човека съотношението им е приблизително 2/3 κ :1/3 λ . Тежките вериги на подкласовете на IgG се обозначават като $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ и $\gamma 4$, а на подкласовете на IgA – като $\alpha 1$ и $\alpha 2$. Класовете IgM, IgE и IgD съдържат съответно μ , ϵ и δ тежки вериги.

Вариабилни и константни домени. Сравнителният анализ на аминокиселинните последователности на тежките и леките вериги показва обща доменна организация. Тежките вериги на различни антитела от един и същи изотип се различават значително по последователност в аминокрайния домен, който се означава като вариабилен домен на тежката верига (**V_H**). Аналогично, при леките вериги вариабилността е концентрирана в първия аминокраен домен – вариабилен домен на леката верига (**V_L**). В рамките на всеки вариабилен домен вариабилността е концентрирана в три хипервариабилни области, наречени райони, определящи комплементарността (complementarity-determining regions CDR1, CDR2 и CDR3). Тези участващи съответстват на бримкови структури, разположени в единия край на домена. В молекулата на антитялото CDR-ите на V_H и V_L заедно формират **антиген-свързващото място**, разположено в областта между двата вариабилни домена.

Вариацията в аминокиселинната последователност на двоевите V_H и V_L домени е в основата на огромното разнообразие от антиген-свързващи специфичности. Y-образната молекула на IgG притежава два идентични антиген-свързващи участъка, разположени по един в края на всяко рамо. Видът на антигена, който се свързва, зависи от пространствената организация на CDR-ите: малки молекули (хаптени) се свързват в дълбоки джобове; линейни епитопи на белтъци или въглехидрати – в цепнатини или жлебове; конформационни епитопи на нагънати протеини – чрез взаимодействие с обширна контактна повърхност.

Останалата част от тежките и леките вериги съдържа сравнително консервативни аминокиселинни последователности в рамките на един изотип и формира константните домени – C_H домени на тежката и C_L домени на леката верига. Тежките вериги γ , α и δ съдържат по три C_H домена, докато тежките вериги μ и ϵ съдържат по четири C_H домена.

Fab, Fc и шарнирна област. При използването като модел антитяло IgG, относително несгънат сегмент в средата на тежката верига може да бъде разцепен *in vitro* с протеазата

папаин, което води до образуването на два типа функционално допълващи се фрагменти. Двата идентични фрагмента, съответстващи на рамената на Y-образната молекула, се означават като **Fab** (fragment antigen binding) и съдържат **антиген-свързващите участъци**. Фрагментът, съответстващ на стъблото, се означава като **Fc** (fragment crystallizable) и осигурява ефекторните функции на антитялото чрез взаимодействие със серумни протеини и Fc-рецептори на клетъчната повърхност. Неструктурираните участъци на тежките вериги, които свързват Fab с Fc, образуват **шарнирната област** на молекулата IgG. Тя придава гъвкавост на молекулата и позволява на двата Fab фрагмента да заемат различни пространствени ориентации, което улеснява едновременно свързване на антигенни детерминанти, разположени на различно разстояние по повърхността на патогените.

Различия в константните (C) региони на тежката верига определят петте основни изотипа (класове) имуноглобулини, които изпълняват различни функции в имунния отговор. Това са имуноглобулин G (**IgG**), имуноглобулин M (**IgM**), имуноглобулин A (**IgA**), имуноглобулин E (**IgE**) и имуноглобулин D (**IgD**). Тежката верига на всеки изотип се обозначава със съответна малка гръцка буква: γ (гама), μ (мю), δ (делта), α (алфа) и ϵ (епсилон). Леките вериги имат само два изотипа – κ (капа) и λ (ламбда). Не е установена функционална разлика между антителата, съдържащи κ или λ леки вериги. Леките вериги от двата изотипа могат да се вдвояват с всички изотипове на тежките вериги. Всяка молекула антитяло съдържа или κ , или λ леки вериги, но никога и двата типа едновременно.

Имуноглобулин G (IgG). IgG е главният серумен имуноглобулин (70 – 75%) и най-разпространеният имуноглобулинов изотип, като съставлява до 20% от всички плазмени белтъци при здрави индивиди. Той е основният имуноглобулин и в екстраваскуларното пространство. Отличителна характеристика на IgG е способността му да преминава през плацентата – свойство, изразено при подкласовете IgG1, IgG3 и IgG4, но IgG2 преминава значително по-слабо. Плацентарният транспорт IgG не изисква предварително свързване на антиген.

Четири подкласа – IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 – притежават над 90% идентичност в аминокиселинните си последователности, но се различават по биологични свойства, включително ефективност на антигенното свързване, активиране на комплемента, взаимодействие с Fc-рецептори, плацентарен транспорт и време на полуразпад. Тези различия се дължат основно на вариации в константните региони, особено в шарнирната област и C_H2 домена, който участва във взаимодействието с Fc γ рецепторите и с първия компонент на комплемента – C1q.

IgG3 се характеризира с удължена шарнирна област (62 аминокиселини), докато IgG2 има скъсена шарнирна област. Иmunният отговор към разтворими белтъчни антигени обикновено води до продукция на IgG1 – най-изобилния подклас. Отговорите към бактериални капсулни полизахариди често са ограничени до IgG2. Антителата IgG3 са силно провъзпалителни и най-ефективни в активирането на комплемента по класическия път, следвани от IgG1; IgG2 активира комплемента слабо, а IgG4 практически не проявява такава активност.

IgG участва в неутрализацията на микроорганизми и токсини, в опсонизацията при фагоцитоза и в антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност (ADCC), осъществявана главно от NK-клетки чрез Fc γ RIIIa (CD16) рецептор.

Имуноглобулин M (IgM). IgM са пентамерни имуноглобулини с молекулна маса около 900 kDa, изградени от пет мономерни субединици, свързани чрез допълнителна J-верига – ($\mu_2\kappa_2$)₅J или ($\mu_2\lambda_2$)₅J. Тежката μ -верига съдържа допълнителен константен домен (C_H4). J-веригата е малък полипептид (~15 kDa), който свързва C-края на μ -тежките вериги чрез дисулфидни връзки, за да формира стабилен пентамер. В серума IgM се откриват предимно като пентамери, докато върху повърхността на В-лимфоцитите се експресират като мономерни – $\mu_2\kappa_2$ или $\mu_2\lambda_2$, където участват в структурата на В-клетъчния рецептор (BCR) заедно със сигналните молекули Ig α и Ig β (CD79a/CD79b).

IgM е третият по количество имуноглобулинов изотип в серума (5–10%; **0,2–2,8 mg/ml**). Това е първият клас антитела, който се синтезира по време на ембрионалното развитие, както и първият, който се продуцира от наивните В-клетки при имунен отговор. IgM са първите антитела, образувани в **първичния имунен отговор**, особено срещу **T-зависими антигени**, преди да настъпи изотипното превключване. Те играят ключова роля и в отговора към **T-независими антигени**, особено бактериални полизахариди.

Значителна част от серумните IgM функционират като естествени изохемаглутиници, насочени срещу въглехидратните антигени на системата ABO, и се образуват без предходна иму-

низация. Поради пентамерната си структура IgM проявяват силно изразени аглутиниращи свойства. Те са най-ефективните активатори на комплемента по класическия път, като една единствена пентамерна молекула е достатъчна за свързване на C1q, участват в неутрализацията на патогени и в опсонизацията чрез комплемент-медирирани механизми. IgM могат да се свързват с Fcμ рецептори (FcμR), експресирани върху различни имунни клетки, и играят важна роля в ранните фази на хуморалния имунен отговор.

Имуноглобулин А (IgA). IgA се представя в серума предимно като мономер ($\alpha_2\kappa_2$ или $\alpha_2\lambda_2$), рядко като димер. В секретите (секреторен IgA, **sIgA**) той е основно в димерна форма – $[(\alpha_2\kappa_2)_2J+SC]$ или $[(\alpha_2\lambda_2)_2J+SC]$, като съдържа допълнителна J-верига и полипептид с пет Ig-подобни домена, наречен **секреторен компонент (SC)**. J – веригата на sIgA стабилизира димера и участва в секреторния транспорт чрез SC. SC представлява част от поли Ig рецептора, който медира транспорта на IgA през епителните клетки към луминалната повърхност и предпазва антитялото от протеазно разграждане, особено в гастроинтестиналния тракт. IgA е вторият по количество серумен имуноглобулин и основният секреторен Ig в слъзи, слюнка, гастроинтестинални, назални и белодробни секрети, коластра, кърма, пот, както и в секретите на уринарния и гениталния тракт. В майчината кърма секреторният IgA осигурява пасивна защита на новороденото, като предпазва лигавиците от инфекции в ранния постнатален период, без да предизвиква възпаление или увреждане на незрелия епител.

Хората, шимпанзетата, горилите и гибоните притежават два гена за константните домени на тежката α -верига, което позволява синтеза на два подкласа IgA – IgA1 и IgA2. IgA1 съставлява около 80% от общия серумен IgA. Той има удължена шарнирна област, резултат от вмъкване на дублирана пептидна последователност, която съдържа множество O-свързани гликани и две основни N-свързани места за гликозилиране. IgA1 съдържа значително повече сialова киселина в сравнение с IgA2. Поради удължената си шарнирна област, IgA1 е по-податлив на протеолитично разграждане от ензими, продуцирани от *Streptococcus*, *Neisseria* и *Haemophilus*. Този подклас е насочен предимно срещу белтъчни антигени, като повечето лимфоидни тъкани съдържат преобладаващо плазмени клетки, секретирани IgA1.

В IgA2 липсва класическата дисулфидна връзка в C_H1 домена, който обикновено свързва тежката и леката верига, но асоциацията остава стабилна. Този подклас има скъсена шарнирна област и повече N-свързани места за гликозилиране от IgA1, като леките вериги са нековалентно асоциирани с тежките вериги. IgA2 представлява около 20% от серумния IgA и значителен дял от секреторния IgA, особено в дисталните чревни отдели. IgA2 може да индуцира активиране на миелоидни клетки чрез FcαRI (CD89). Полизахаридните антигени индуцират по-силен синтез на IgA2 в сравнение с белтъчните антигени. IgA2 по-често индуцира проинфламаторна активация на неутрофили и макрофаги, докато тази активност е по-слабо изявена при IgA1. Подобни функционални различия вероятно се дължат на различия в гликозилирането на двата подкласа.

IgA-секретиращите плазматични клетки са концентрирани по лигавичните повърхности. В тънките черва (в началните две пети) се намират над $2,5 \times 10^{10}$ плазматични клетки, секретирани IgA, което надвишава общия брой плазматични клетки в костния мозък, лимфните възли и далака. Здрав човек отделя ежедневно **5 – 15 g** секреторен IgA в лигавичните секрети.

Имуноглобулин Е (IgE). IgE е мономерен имуноглобулин, съставен от две ϵ -тежки вериги и две κ или λ леки вериги. В серума е представен с най-ниска концентрация сред имуноглобулините – около 0,3 μg/ml при здрави индивиди. IgE има много кратък полуживот в серума (~2 дни), но прикрепен към FcεRI остава стабилен седмици. Открива се предимно свързан с високоафинитетния FcεRI рецептор на мастоцити и базофили; активираните еозинофили също експресират FcεRI, но в по-малка степен. Кръстосаното свързване на клетъчно фиксиран IgE от мултивалентен антиген индуцира бърза дегранулация на мастоцити и базофили и освобождаване на медиатори (хистамин, протеази, левкотриени, простагландини), които предизвикват реакции на свръхчувствителност тип I. Афинитетът на FcεRI към Fc-фрагмента на IgE е изключително висок, поради което при липса на специфичен антиген IgE не дисоциира след свързването си с рецептора. Ниските серумни концентрации на IgE са достатъчни да поддържат FcεRI рецепторите на клетъчната повърхност напълно заети. Така мастоцитите в съединителната тъкан, активираните еозинофили по лигавичните повърхности и циркулиращите базофили се поддържат в състояние на готовност за бърза реакция към патогени и техни антигени.

IgE играе ключова роля в алергичните реакции и участва в защитата срещу големи паразити, особено хелминти, чрез активиране на еозинофили и мастоцити. IgE не активира комплемента.

Имуноглобулин D (IgD). IgD представлява малка част от серумните имуноглобулини (~0,2%; ~30 µg/ml) и се среща предимно като мономер – $\delta_2\lambda_2$ или $\delta_2\kappa_2$. Той се експресира главно върху повърхността на „наивни“ В-клетки като мембранен рецептор, където участва заедно с сигналните молекули Igα и Igβ (CD79a/CD79b) в структурата на В-клетъчния рецептор (BCR).

В серума IgD присъства в ниски концентрации, а точните му функционални роли все още не са напълно изяснени. Съществуват данни, че IgD може да участва в активиране на базофили и мастоцити и да модулира ранните фази на В-клетъчната активация, както и да играе роля в имунната хомеостаза на дихателните пътища.

II. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие. Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими

Имунната система на човека притежава способността да разпознава практически неограничен брой антигени. Това изключително разнообразие на антигеновата специфичност се постига чрез прецизно координирани генетични механизми, които протичат по време на развитието и последващата активация на В-лимфоцитите. В основата на този процес стои генерирането на имуноглобулиново разнообразие чрез **V(D)J** пренареждане, допълнено от допълнителни механизми на генетична модификация, контролирани от специфични сигнални последователности и специализиран ензимен апарат.

Имуноглобулинови генни локуси. В човешкия геном гените за имуноглобулиновите вериги са организирани в три основни локуса:

IGH (immunoglobulin heavy chain) – локус за тежките вериги, разположен в хромозома 14;

IGK (κ light chain) – локус за κ-леките вериги, разположен в хромозома 2;

IGL (λ light chain) – локус за λ-леките вериги, разположен в хромозома 22.

Всеки от тези локуси съдържа множество вариабилни (**V** – variable), диверсификационни (**D** – diversity; само за тежките вериги) и съединителни (**J** – joining) генни сегменти, всеки със собствена уникална нуклеотидна последователност. В ранните етапи на В-клетъчното развитие сегментите са потенциално достъпни за рекомбинация от двата алела, докато не се установи алелно изключване.

Организация на имуноглобулиновите локуси. Гените, кодиращи вариабилните региони на имуноглобулиновите вериги, са организирани в дискретни модулни сегменти: **V** (variable) – включва множество генни касети, съдържащи лидерна (**L**) последователност и **V** сегмент; **D** (diversity) – диверсификационни сегменти (само при тежките вериги); **J** (joining) – съединителни сегменти.

При формирането на гени за тежките вериги на имуноглобулините се комбинират един **V**, един **D** и един **J** сегмент, докато при леките вериги (κ и λ) участват само **V** и **J** сегменти. Тази модулна организация позволява генерирането на огромно структурно и функционално разнообразие на вариабилните региони чрез комбиниране на ограничен набор налични генни сегменти във функционални гени.

Надолу по веригата от **JH** сегментите в локуса за тежката имуноглобулинова верига са разположени гените за константните региони (**C_μ**, **C_δ**, **C_γ**, **C_ε**, **C_α**), като пред всеки от тях (с изключение на **C_δ**) се намира специфичен **S** (switch) регион. **S_μ** регионът, локализиран между **JH** сегментите и **C_μ**, служи като изходна точка за класовото превключване, което се осъществява чрез рекомбинация между **S_μ** и друг разположен downstream **S** регион.

V(D)J пренареждане. V(D)J пренареждането представлява специализиран тип соматична генетична рекомбинация, протичаща на ниво ДНК в развиващите се В-лимфоцити в костния мозък. Процесът включва случайно и необратимо комбиниране, в строго определена последователност, на един **V**, един **D** и един **J** сегмент за тежките вериги и на един **V** и един **J** сегмент за леките вериги. В резултат на тези рекомбинации за всяка имуноглобулинова верига се формира уникален функционален ген, което води до клонална експресия – всеки В-лимфоцит експресира един-единствен тип В-клетъчен рецептор (BCR), идентичен по антигенна специфичност с бъдещото секретирано анти тяло.

Наивните зрели В-лимфоцити едновременно експресират имуноглобулини от клас IgM и IgD с идентична антигенна специфичност. Това се дължи на факта, че и двата изотипа използват един и същ пренареден V(D)J регион, който определя антиген-свързващата специфичност на В-клетъчния рецептор (BCR). Разликата между IgM и IgD се отнася единствено до константната област на тежката верига (**C_μ** или **C_δ**).

След успешно V(D)J пренареждане и транскрипция на тежковерижния локус се образува първичен транскрипт, съдържащ екзоните за C μ и C δ . Чрез алтернативен сплайсинг на иРНК В-клетката може да включи екзоните за C μ или C δ , без да променя вариабилния регион. По този начин се синтезират IgM и IgD с еднаква антигенна специфичност (идентични вариабилни домени), но с различни ефекторни константни домени. Имуноглобулините IgM и IgD се експресират като мембранно-свързани форми и функционират като В-клетъчни рецептори, участващи в разпознаването на антигена и в регулацията на В-клетъчната активация. Този механизъм позволява функционално разнообразие на BCR без необходимост от допълнителна ДНК рекомбинация.

Алелно изключване и клонална идентичност. След като дадена В-клетка успешно генерира функционален имуноглобулинов ген чрез V(D)J пренареждане, рекомбинацията на останалите алели на съответния локус се потиска – процес, известен като **алелно изключване**. Това гарантира, че всяка В-клетка експресира един-единствен функционален имуноглобулинов рецептор с уникална антигенна специфичност. Така строго регулираният процес на V(D)J пренареждане представлява молекулната основа на клоналната селекция и предотвратява едновременната експресия на рецептори с различна антигенна специфичност в една и съща В-клетка.

Рекомбинационни сигнални последователности и правило 12/23. Всеки V, D и J генен сегмент е фланкиран (ограден) от рекомбинационни сигнални последователности (RSS, recombination signal sequences), които насочват рекомбинационния апарат и определят допустимите рекомбинационни събития. RSS се състоят от три основни елемента: консервативен хептамер (7 нуклеотида), спейсър с дължина 12 или 23 нуклеотида и консервативен нонамер (9 нуклеотида).

Рекомбинацията протича съгласно правилото **12/23**, което изисква рекомбинация само между два сегмента, фланкирани от RSS със спейсъри с различна дължина (12 и 23 нуклеотида). Така се осигурява правилната последователност на V(D)J пренареждането и се предотвратяват некоректни рекомбинации, като например директно V–J свързване при тежковерижните гени, което би заобиколило задължителното включване на D сегмент.

Ензими, участващи във V(D)J пренареждането. V(D)J пренареждането се осъществява от строго регулиран молекулен апарат, който включва както лимфоидно-специфични ензими, определящи уникалността на процеса в развиващите се лимфоцити, така и универсални механизми за репарация на ДНК, функционално използвани за завършване на рекомбинацията (таблица 1).

Лимфоидно-специфичните компоненти инициират и модулират рекомбинационния процес. **RAG1** и **RAG2** образуват активен рекомбиназен комплекс, който разпознава рекомбинационните сигнални последователности (RSS) и индуцира сайт-специфични двойно-верижни разкъсвания на ДНК. **TdT** (терминална дезокси nucleotидил трансфераза) допринася за съединителното разнообразие чрез добавяне на несъответстващи (N) нуклеотиди в зоните на свързване на V, D и J сегментите. Активността ѝ е най-силно изразена при пренареждането на гените за тежките вериги и е минимална или липсва при леките вериги. **AID** (activation-induced cytidine deaminase) се експресира след антигенна стимулация в герминативните центрове и не участва във V(D)J пренареждането, а в по-късните процеси на антигенова диверсификация.

Завършването на рекомбинацията изисква ангажирането на компоненти на нехомоложното свързване на ДНК краищата (non-homologous end joining, **NHEJ**). Тези универсални репарационни фактори осигуряват разпознаването, стабилизацията, обработката и окончателното лигиране на разкъсаните ДНК краища. Нарушения в който и да е от ключовите елементи на NHEJ водят до дефектно V(D)J пренареждане и клинично се асоциират с тежък комбиниран имунодефицит (SCID).

Лимфоидната специфичност на процесите се определя от **RAG1/2** и **TdT**, докато **NHEJ** апаратът представлява универсален репарационен механизъм, използван контекстуално от лимфоцитите. V(D)J рекомбинацията протича в незрели лимфоцити, докато соматичните хипермутации (**SHM**) и изотипното превключване (**CSR**) са ограничени до активирани В-клетки в периферните лимфоидни органи.

Допълнителни механизми за генериране на разнообразие.

- Комбинаторно разнообразие – резултат от различните комбинации на V, D и J генни сегменти и от случайното сдвояване на тежки и леки имуноглобулинови вериги;
- Съединително (junctional) разнообразие – възниква вследствие на изрязване или добавяне на нуклеотиди в зоните на съединяване на V(D)J сегментите, особено в областта на CDR3;
- Соматични хипермутации (**SHM**) – AID-медиранни точкови мутации във V-регионите на имуноглобулиновите гени след антигенна стимулация, водещи до афинитетно узряване на антителата;

- Изотипно превключване (class switch recombination, **CSR**) – AID-зависим процес, при който се променя константният регион на тежката верига (IgM → IgG, IgA или IgE) без промяна в антигенната специфичност.

Комбинацията от всички тези механизми позволява на адаптивната имунна система да генерира приблизително 10^{11} различни антители специфичности, осигурявайки ефективно разпознаване и неутрализиране на изключително широк спектър от патогени.

Таблица 1. Ензими и молекулярни компоненти, участващи в V(D)J рекомбинацията, съединителното разнообразие и изотипното превключване

ензим / компонент		функция	молекулен механизъм	етап / клетъчен контекст
лимфоидни	RAG1 (Recombination Activating Gene 1)	Инициира V(D)J рекомбинацията	Каталитична субединица на RAG комплекса; разпознава RSS и осъществява сайт-специфично двойно-верижно разкъсване на ДНК между кодиращия сегмент и RSS	Незрели В– и Т–лимфоцити (про- и пре-В; CD4-CD8 ⁺ Т–кл.), G1 фаза
	RAG2 (Recombination Activating Gene 2)	Регулира и стабилизира RAG1	Некаталитичен кофактор; формира активен RAG1/2 комплекс и ограничава рекомбинацията до подходящия етап от клетъчния цикъл	Незрели В– и Т–лимфоцити, G1 фаза
	TdT (терминална дезоксинуклеотидилтрансфераза)	Генерира съединително (junctional) разнообразие	ДНК-полимераза без матрица; добавя N-нуклеотиди към кодиращите краища, увеличавайки вариабилността, особено в CDR3	Про-В и пре-В клетки; ранни Т-клетъчни прекурсори
	AID (activation-induced cytidine deaminase)	Индуцира соматична хипермутация и изотипно превключване	Дезаминира цитозин до урацил в транскрибирани Ig региони; репарацията води до SHM или двойно-верижни разкъсвания в S(switch) регионите (CSR*)	Активирани периферни В–клетки (герминативни центрове)
универсални репаративни	Ku70 / Ku80	Разпознава и свързва свободните ДНК краища	Хетеродимер, който първи се асоциира с двойно-верижните разкъсвания; защитава краищата и рекрутира DNA-PKcs	V(D)J рекомбинация и CSR
	DNA-PKcs	Координира обработката на ДНК краищата	С Ku70/Ku80 формира DNA-PK; фосфорилира Artemis и други фактори, контролирайки ендонуклеазната обработка	V(D)J рекомбинация и CSR
	Artemis	Обработка кодиращите ДНК краища	Ендонуклеаза, активирана от DNA-PKcs; отваря hairpin-структурите и допринася за формиране на Р-нуклеотиди	особено важна при V(D)J рекомбинация
	XRCC4	Организира лигирането на ДНК краищата	Структурен адаптер; стабилизира ДНК лигаза IV и участва в подравняването на краищата	V(D)J рекомбинация и CSR
	XLF (Cernunnos)	Стабилизира синапсиса на ДНК краищата	Образува филаментни структури с XRCC4; усилва ефективността на лигирането, особено при нестабилни краища	V(D)J рекомбинация и CSR
	ДНК лигаза IV	Завършва рекомбинацията	Катализира образуването на фосфодиестерни връзки между обработените ДНК краища; функционира в комплекс с XRCC4 и XLF	V(D)J рекомбинация и CSR

* CSR – class switch recombination, изотипно превключване

Инфекциозният процес е резултат от навлизането, размножаването и взаимодействието на патогенни микроорганизми в организма на гостоприемника, като клиничната му изява може да варира от латентна (субклинична) инфекция до ясно изразена инфекциозна болест. Развитието, протичането и тежестта на заболяването се определят в значителна степен от биологичните свойства на инфекциозните агенти, както и от наличието и изразеността на техните фактори на патогенност и вирулентност. Към настоящия момент са описани голям брой микроорганизми, способни да причиняват заболявания при човека, включително бактерии, гъбички, хелминти, вируси, приони и протозои, като този спектър остава динамичен и непрекъснато се разширява с идентифицирането на нови патогени.

Взаимоотношенията между макроорганизма и живеещите по и в тялото му микроорганизми се обозначават като **симбиоза** (от гр. συμβίωσις (symbíōsis): σύν (syn) – заедно; βίος (bíos) – живот). Сред симбиотичните взаимоотношения се различават три значими в медицински и инфекциозен аспект форми на съжителство: **коменсализъм**, **мутуализъм** и **паразитизъм** според ползата или вредата за всеки от участниците.

Коменсализъм – представлява форма на съжителство, при която единият от организмите извлича полза, а на другия не се причинява вреда. Повечето представители на нормалната микробиота при човека са коменсални микроорганизми. За тях различни участъци от човешкото тяло (напр. лигавици, кожа и др.) са естествена среда за обитание, в която използват достъпни хранителни вещества при добри условия за развитие, без да причиняват вреда на макроорганизма в норма.

Мутуализъм – партньорите в такива симбиотични взаимоотношения извличат взаимна полза. Пример са представители на нормалната микробиота при човека като *Lactobacillus* sp., които поддържат хомеостазата в червата и влагалището; *Escherichia coli* (непатогенни щамове), които синтезират витамин К и някои витамини от група В, подпомагат храносмилането и потискат развитието на болестотворни микроорганизми.

Паразитизъм – Потенциалните причинители на инфекции и инфекциозни заболявания използват паразитизма като форма на съжителство с макроорганизма. Това е вид симбиоза, при която един организъм (паразит) – бактерия, вирус, гъбичка или паразитно животно – живее върху или вътре в друг организъм (гостоприемник) и използва неговите ресурси за собственото си развитие и размножаване, като причинява вреда, заболяване или отслабване на гостоприемника. Паразитизмът може да се проявява в различни степени. **Облигатните (задължителни) паразити** могат да се размножават и да съществуват само в макроорганизма или в негови живи клетки. **Факултативните паразити** са микроорганизми, които могат да причиняват инфекции и да се държат като паразити, но същевременно запазват способността да живеят свободно в околната среда.

Човекът и висшите животни притежават сложна система от защитни механизми срещу паразитиращи микроорганизми, включваща вроден (естествен) имунитет и клетъчен и хуморален придобит (адаптивен) имунитет. Когато тези механизми са сериозно нарушени, заболявания могат да причинят и микроорганизми, които в нормални условия не са вредни за здрави индивиди. Такива микроорганизми се наричат **опортюнисти**. Обикновено те живеят в околната среда, лесно се приспособяват и не са вискателни към хранителните вещества. Често опортюнистичните микроорганизми проявяват повишена устойчивост към антибактериални средства, особено в болнична среда.

I. Инфекция, инфекциозен процес, инфекциозна болест

Инфекция е комплексът от всички биологични процеси, които започват от момента на проникването и/или размножаването на микроорганизми в тъканите и органите на макроорганизма, независимо от това дали се развива или не инфекциозна болест. Инфекцията представлява състояние на заразеност на даден макроорганизъм с конкретен микроорганизъм, което се проявява чрез взаимодействието между микроорганизма и макроорганизма в условията на околната среда.

Инфекциозен процес е динамичното взаимодействие между макроорганизма и инфекциозния агент (бактерия, вирус, гъба, паразит или прион), което възниква след проникването, колонизацията и/или размножаването на микроорганизма в организма на гостоприемника и се раз-

вива под влиянието на специфични и неспецифични защитни механизми. В хода на този процес се реализират различни по степен и характер структурни, функционални и имунологични промени, които могат да доведат до елиминиране на причинителя, персистиране на инфекцията или развитие на клинично изявено инфекциозно заболяване.

Инфекциозният процес протича обичайно в следните етапи: **проникване → адхезия/колонизация → инвазия/разпространение → имунен отговор → изход.**

1. **Контакт и проникване на инфекциозния агент.** Инфекциозният причинител навлиза в организма през т.нар. входни врати, като кожата и лигавиците на дихателната, храносмилателната или урогениталната система. На този етап от съществено значение са вирулентността на микроорганизма и състоянието на локалните защитни бариери на гостоприемника. Различните микроорганизми имат предпочитани входни врати, напр. *Staphylococcus aureus* – през кожата, *Influenza virus* – през лигавиците на дихателните пътища, а *Salmonella* spp. – през лигавиците на храносмилателния тракт.
2. **Адхезия и колонизация.** Микроорганизмите се прикрепват към клетките на гостоприемника чрез специфични структури – адхезини – и започват локално размножаване. В зависимост от специфичното взаимодействие с определени клетъчни рецептори те колонизират различни тъкани и органи, напр. *Escherichia coli* – лигавиците на уринарния тракт, а HPV (Human papillomavirus) – епителните клетки. Успешната колонизация е ключова предпоставка за развитието на инфекцията. Така *Pseudomonas aeruginosa* ефективно колонизира рани и белодробна тъкан, а HSV (Herpes simplex virus) – кожа и лигавици.
3. **Инвазия и разпространение.** Инфекциозният агент преодолява тъканните бариери и може да се разпространи локално или системно – по кръвен или лимфен път. *Mycobacterium tuberculosis* проявява силен тропизъм към белодробната тъкан, където високото съдържание на кислород създава благоприятни условия за размножаването му. Бактериите най-често атакуват алвеолите, предизвиквайки възпаление, некроза и образуване на грануломи. Те могат да навлизат и да се размножават в белодробните макрофаги, като инхибират нормалния процес на фагоцитоза. Паралелно се активират неспецифичните защитни механизми на гостоприемника.
4. **Имунен отговор на гостоприемника.** Активират се както вроденият, така и придобитият имунитет. Развиват се възпалителни реакции и специфичен имунен отговор, насочени към ограничаване и елиминиране на инфекциозния агент.
5. **Изход от инфекциозния процес.** Инфекциозният процес може да завърши с пълно оздравяване, персистиране на причинителя (латентна или хронична инфекция), безсимптомно носителство или развитие на клинично изявено инфекциозно заболяване. Например при инфекция с HCV (хепатит С вирус) в около 80% от случаите се развива хронична инфекция, докато при морбили (Measles virus) след острата фаза и оздравяване не се наблюдава заразноносителство и се изгражда траен пожизнен имунитет.

Възникването и протичането на инфекциозния процес са тясно свързани със свойствата на етиологичния агент, състоянието на макроорганизма и условията на околната среда, при които се осъществява взаимодействието между микро – и макроорганизма.

Фактори, определящи възникването и развитието на инфекциозния процес, свързани с инфекциозните агенти

Факторите, свързани с инфекциозните агенти, които определят възникването и развитието на инфекциозния процес, се обуславят от биологичните свойства на микроорганизмите и тяхната способност да взаимодействат с организма на гостоприемника. Те определят дали проникването на даден микроорганизъм ще доведе до безсимптомна инфекция, локализиран инфекциозен процес или развитие на клинично изявена инфекциозна болест. При оценка на способността на микроорганизмите да предизвикват инфекциозен процес се анализират следните основни показатели: инфекциозна доза, входна врата на инфекцията, локализация на микроорганизмите в макроорганизма и пътища на разпространение.

Инфекциозна доза

Инфекциозната доза представлява най-малкото количество микроорганизми, което е необходимо за предизвикване на инфекциозен процес. Тя е количествен показател за инфекциоз-

ността на даден патоген и се използва за сравнителна оценка между различни микроорганизми или различни щамове на един и същ микроорганизъм. За експериментално определяне на инфекциозната доза се използват следните показатели: ID₅₀ (Dosis infectiosa 50%) – доза от инфекциозния агент, която причинява инфекция при 50% от експериментално заразените животни; LD₅₀ (Dosis letalis media 50%) – доза от микроорганизма, която води до смърт на 50% от заразените експериментални животни.

Инфекциозната доза зависи от два основни фактора: степента на вирулентност на патогена и нивото на чувствителност на гостоприемника, което се определя от наличието на специфични рецептори за патогена и от имунния статус на организма. Високовирулентните микроорганизми са способни да предизвикат инфекция при значително по-ниска инфекциозна доза, докато при по-нисковирулентните патогени е необходим по-голям инокулум. Аналогично, при висока чувствителност на гостоприемника инфекцията може да възникне при по-малка доза от инфекциозния агент.

Входна врата на инфекцията

Входната врата на инфекцията представлява мястото, тъканта или органа, през които патогенът прониква в организма на гостоприемника. Инфекциозната доза на един и същ микроорганизъм може да варира значително в зависимост от входната врата на инфекцията, тъй като различните анатомични и физиологични бариери притежават различна степен на защитна ефективност. Класически пример за значението на входната врата е *Bacillus anthracis*, който може да предизвиква инфекция при проникване през кожата, дихателните пътища или гастроинтестиналния тракт. Най-ниска инфекциозна доза е необходима при кожната форма на антракс, при която спорите проникват през нарушена кожна бариера. За развитие на инхалационен антракс е необходима по-висока инфекциозна доза, а за гастроинтестиналната форма – най-висока, поради действието на защитните механизми в храносмилателната система. В този смисъл инфекциозната доза нараства в реда: кожа < дихателни пътища < храносмилателен тракт.

Локализация на микроорганизмите в макроорганизма и пътища на разпространение

След проникването си в организма микроорганизмите могат да останат локализиран в мястото на входната врата или да се разпространят към други тъкани и органи. Локализацията на патогена определя характера на инфекциозния процес – локална инфекция (напр. повърхностни кожни или лигавични инфекции), фокална (огнищна) или генерализирана инфекция. Разпространението на микроорганизмите в макроорганизма може да се осъществява по различни пътища, включително лимфогенен, хематогенен, невrogenен или чрез директно разпространение по съседство. Хематогенното разпространение може да доведе до бактериемия, вирусемия или фунгемия, както и до метастатични инфекциозни огнища в отдалечени органи. Способността на микроорганизма да преодолява локалните защитни механизми и да се разпространява системно е важен показател за неговата вирулентност и за тежестта на инфекциозния процес.

Резултати от взаимодействието между микроорганизма и макроорганизма

Взаимодействието между инфекциозния агент и организма на гостоприемника може да доведе до различни изходи – от липса на инфекция до възникване на инфекциозен процес. При ефективно действие на бариерните механизми и на вродения имунитет патогенът може да бъде елиминиран, без да се развие инфекциозен процес. В тези случаи защитна роля играят нормалната микробиота, механичните механизми за пречистване на организма (перисталтика, отделяне на урина, кашлица, издишване), както и секреторната активност на лигавиците.

При преодоляване на естествената резистентност на макроорганизма микроорганизмът прониква в тъканите и органите, размножава се и нарушава хомеостазата на организма. В този случай възниква инфекциозен процес, който включва сложни взаимодействия между патогена и специфичните имунни механизми на гостоприемника и може да доведе до развитие на клинично изявена инфекциозна болест.

Фактори, определящи възникването и развитието на инфекциозния процес, свързани с макроорганизма

Чувствителността (възприемчивостта) на макроорганизма към инфекции се определя от редица физиологични и биологични характеристики:

- Възраст – ранната детска и напредналата възраст са свързани с по-висока честота и тежест на инфекциите поради незрялост на имунната система и възрастово обусловена имуносупресия (имунно стареене).
- Пол и хормонален статус – половите хормони модулират имунния отговор; естрогените обикновено стимулират хуморалния и клетъчния имунитет, докато тестостеронът проявява предимно имуносупресивен ефект.
- Ендокринни нарушения – хипо- или хиперфункция на жлезите с вътрешна секреция може да наруши имунната хомеостаза и да повиши податливостта към инфекции.
- Физическо и хранително състояние – преумората, белтъчно-енергийният дефицит и недостигът на витамини и микроелементи отслабват вродения и придобития имунен отговор.

Фактори, определящи възникването и развитието на инфекциозния процес, свързани с външната среда и социалните условия на живот

Външната среда и социалният контекст оказват съществено влияние върху възникването и разпространението на инфекциозните заболявания:

- Климатични и сезонни фактори – температурните колебания и влажността влияят върху преживяемостта на патогените, активността на векторите и резистентността на макро-организма.
- Екологични фактори – замърсяването и експозицията на токсични вещества увреждат защитните бариери и имунната система.
- Йонизиращо лъчение – високите дози радиация потискат хемопоезата и имунния отговор чрез увреждане на костния мозък и лимфоидните органи.
- Социални и икономически условия – гъстотата на населението, условия на живот и труд, хранене, санитарно-хигиенни мерки и здравна инфраструктура са ключови за разпространението на инфекциите и възникването на епидемии.

II. Свойства на инфекциозните агенти – патогенност, вирулентност, инвазивност, токсигенност

Патогенност е присъща, качествена характеристика на микроорганизмите, определяща способността на даден микробен вид да причинява инфекциозно заболяване с клинично изразени симптоми във възприемчив гостоприемник при подходящи условия. Патогенността е генетично детерминирана и се реализира чрез комплекс от фактори, включително наличие на вирулентни фактори, инфекциозна доза, път на проникване, както и видът, възприемчивостта и общото състояние на гостоприемника. Следва да се отчита разликата между инфекциозност и патогенност. Не всяка инфекция води до развитие на заболяване, тъй като инфекцията може да протича суб-клинично или асимптоматично. Различните микроорганизми, както и отделни щамове, се характеризират с различна степен на инфекциозност и патогенност.

Вирулентност е количествена мярка за патогенността и отразява степента, с която даден микроорганизъм или щам причинява заболяване. Докато патогенността е качествено свойство (патогенен или непатогенен), вирулентността е относителна и варира между различни видове и щамове. Тя често се определя експериментално чрез показатели като инфекциозна доза (ID_{50}) и летална доза (LD_{50}). Вирулентността е променливо свойство и може да се понижи при процеси на **атенюация**, настъпващи под влияние на химични (феноли, жлъчка, водороден пероксид), физични (УВ лъчи, йонизиращо лъчение, топлина, рН и др.) и биологични (пасиране през животни) фактори.

Инвазивност е способността на патогенните микроорганизми да проникват през епителните и тъканните бариери на гостоприемника, да се разпространяват в тъканите и органите и да се размножават в тях. Тя се осъществява чрез специфични инвазивни фактори, включително ензими и повърхностни структури, които улесняват преодоляването на локалните защитни механизми и тъканните бариери.

Токсигенност е способността на микроорганизмите да синтезират и освобождават токсини, които увреждат клетките и тъканите на гостоприемника или нарушават нормалните му физиологични функции. Тя се реализира чрез продукция на екзотоксини и/или ендотоксини и има съществено значение за клиничната тежест и симптоматиката на инфекциозните заболявания. Токсините могат да предизвикат локални или системни патологични ефекти, включително възпаление, интоксикация и органна дисфункция.

Контагиозност (заразност) е свойство на някои патогенни микроорганизми да се предават лесно от един гостоприемник на друг и да се разпространяват в чувствителни популации. Количествено степента на заразност може да се характеризира чрез контагиозен индекс, изразяващ дела на заразените индивиди сред изложените на контакт с източника на инфекция. Контагиозността варира от висока (напр. морбили, варицела) до ниска (напр. туберкулоза).

Инфекциозност и инфекциозен спектър

Инфекциозност е способността на микроорганизма да предизвиква инфекция в макроорганизма, независимо от наличието или отсъствието на клинични симптоми. **Инфекциозен спектър** е съвкупността от видове макроорганизми (хора, животни, растения), в които даден микроорганизъм може да предизвика инфекция. Той може да бъде широк – при патогени, инфектиращи различни видове гостоприемници (напр. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), или тесен – при микроорганизми, инфектиращи само един вид, напр. *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella Typhi*, *Neisseria gonorrhoeae*.

III. Фактори на патогенност и вирулентност

Патогенността и вирулентността на микроорганизмите се реализират чрез структурни приспособления и метаболитна активност, които осигуряват успех в инфекциозния процес. Инфекцията настъпва, когато патогенът достигне до гостоприемника, успее да се прикрепят към „входната врата“ на инфекцията, навлезе и завладее тъканите. Това включва процеси на инвазия, колонизиране и размножаване. Патогените използват различни механизми за избягване на естествените защитни реакции на гостоприемника, включително образуване на капсули, токсини и ензими, както и механично, химично и молекулно увреждане на тъканите.

Фактори за адхезия и колонизация

Адхезините са повърхностни молекули, които определят способността на микроорганизмите да се прикрепят специфично към клетките и тъканите на гостоприемника, да колонизират входната врата на инфекцията и да инициират инфекциозния процес. Те могат да бъдат белтъци, гликопротеини, липопротеини или полизахаридни структури, локализирани по бактериалната повърхност или върху вирусния капсид. Адхезините взаимодействат със специфични рецептори на клетките на гостоприемника по принципа „ключ-ключалка“, което определя тъканния и видовия тропизъм на патогените.

Бактериални адхезини:

- Фимбриални (пилусни) – свързани с пили; пример: фимбриални адхезини на *Escherichia coli*, участващи в инфекции на пикочните пътища.
- Афимбриални – интегрални мембранни или повърхностни белтъци, които осигуряват директен контакт с клетъчните рецептори; пример: протеин А (SpA) на *Staphylococcus aureus*, който се свързва с Fc-фрагмента на IgG, инхибира опсонизацията и фагоцитозата.
- Полизахаридни адхезини – важни за колонизацията, биофилмообразуването и персистирането на инфекции; примери: капсулни глюкоани на *Streptococcus mutans* (декстриани и мутани), които осигуряват прикрепване към зъбния емайл и формиране на биофилм; алгинат на *Pseudomonas aeruginosa*, подпомага адхезията към епителни повърхности и формирането на биофилм.

М протеин на *Streptococcus pyogenes* е афимбриален белтък с множество функции:

- адхезия – прикрепване към епителните клетки чрез взаимодействие с фибронектин.
- избягване на имунния отговор – инхибира опсонизацията и фагоцитозата чрез фактор Н на комплемента.
- имунопатогенност – антигенна вариабилност и молекулна мимикрия, които могат да предизвикат постстрептококови усложнения (напр. остра ревматична треска).

Вирусни адхезини:

Структурни вирусни белтъци, отговорни за първия етап на инфекцията – прикрепване към клетките на гостоприемника. Те могат да бъдат капсидни белтъци или гликопротеинови „шипове“ и взаимодействат със специфични клетъчни рецептори. Примери: хемаглютинин (НА) на вируса на грипа – свързва сialogлициди на епителните клетки на дихателните пътища; gp120

на HIV – свързва CD4 и корецепторите CCR5/CXCR4, определящи тропизма към Т-хелперите; Spike (S) протеин на SARS-CoV-2 – разпознава ACE2 рецептор; G гликопротеин на вируса на бяса – свързва никотинови ацетилхолинови рецептори.

Биофилмообразуване

Биофилмите представляват структурирани микробни съобщества, които се прикрепят към органични или неорганични повърхности, обградени от екзополимерен матрикс. В това състояние микроорганизмите съществуват като организирана общност, която се различава съществено от планктонната (свободноживееща) форма. Процесът на биофилмообразуване протича на етапи и включва първична адхезия на микроорганизмите към повърхността, последвана от микроколонизация, продукция на екзополимерен матрикс и формиране на зрял биофилм. Матриксът е съставен основно от екзополisahариди, белтъци и екстрацелуларна ДНК и осигурява механична стабилност на структурата, както и защита на микроорганизмите от неблагоприятни фактори на средата.

Биофилмът се разглежда като комплексен вирулентен фактор, тъй като обединява няколко ключови механизма, които улесняват преживяемостта и задържането на патогените в организма на гостоприемника, включително адхезия и колонизация на повърхности, избягване на имунния отговор и повишена толерантност към антимикробни средства. Биофилмите значително ограничават достъпа на антитела, компоненти на комплемента и фагоцити, затрудняват проникването и ефективността на антибиотиките и създават условия за дълготрайно оцеляване на микроорганизмите. В резултат на това биофилмообразуването е тясно свързано с развитието на хронични, персистиращи и рецидивиращи инфекции.

Фактори за инвазия и разпространение

Инвазивността определя способността на патогените да проникват през епителни и тъканни бариери, да се разпространяват и да се размножават. Важни са специфични ензими и повърхностни структури, които разрушават междуклетъчните връзки и модифицират извънклетъчния матрикс. Примери: *Streptococcus pyogenes* – хиалуронидаза и стрептокиназа, които улесняват разпространението в съединителната тъкан (напр. некротизиращ фасциит); стрептокиназата активира плазминоген → плазмин → разграждане на фибрин. *Clostridium perfringens* синтезира α -токсин (фосфолипаза C), колагеназа, хиалуронидаза и ДНК-аза, осигуряващи тъканно увреждане при газова гангрена и хранителни токсикоинфекции.

Фактори за избягване на имунния отговор (имуноевазия)

Патогените използват различни механизми на имуноевазия, чрез които избягват или заобикалят имунния отговор на гостоприемника. Механизми:

- Антифагоцитни – капсули, протеин А (*Staphylococcus aureus*) потискат опсонизацията и фагоцитозата (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*).
- Антигенна вариация – промяна на повърхностни антигени (*Neisseria gonorrhoeae*, *Trypanosoma brucei*, HIV).
- Вътреклетъчно оцеляване – блокиране на фаголизозомното сливане (*Mycobacterium tuberculosis*), избягване на лизозомни ензими (*Listeria monocytogenes*), персистиране в макрофагите (*Salmonella*).
- Молекулна мимикрия и ензими – IgA-протеази (*Neisseria*, *Haemophilus influenzae*), протеин А (*S. aureus*).
- Биофилмообразуване – механична защита, препятстване на имунното разпознаване (*Pseudomonas aeruginosa*, *S. epidermidis*).
- Секреторни системи – бактериални транспортери за доставяне на токсини, ефектори и инвазини (напр. тип III T3SS при *Salmonella*, тип IV T4SS при *Legionella*).

Фактори за персистиране и хронифициране

Персистирането и хронифицирането се дължи на комбинация от механизми:

- Избягване на имунния отговор – патогените могат да потискат или модулират имунния отговор чрез антифагоцитни фактори, ензими или имуносупресивни ефектори.
- Антигенна вариация – промяна на повърхностните антигени, която затруднява разпознаването от адаптивния имунитет.

- Вътречлетъчно оцеляване – някои микроорганизми живеят вътре в клетките на гостоприемника, като по този начин избягват антителата и фагоцитите.
- Биофилмообразуване – образуването на структурирани микробни общности с екзополимерен матрикс, които осигуряват механична и имуноевазивна защита.
- Антибиотична устойчивост и ниска метаболитна активност на персистерните клетки – позволява преживяване при лечение и неблагоприятни условия.
- Латентни форми на инфекция – вируси и някои бактерии могат да преминат в неактивна фаза с последваща реактивация.

Примери:

- *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* – инфекции, свързани с катетри и протези.
- *Pseudomonas aeruginosa* – хронични белодробни инфекции при муковисцидоза.
- Herpes simplex virus (HSV) – латентно оцеляване в нервните ганглии; реактивация → херпес.
- Varicella-zoster virus (VZV) – латентност и реактивация като херпес зостер.
- Human immunodeficiency virus (HIV) – вътречлетъчно персистирание в CD4+ Т-клетки.
- Hepatitis B и C вируси (HBV и HCV) – хронична инфекция на черния дроб → фиброза и цироза.

Генетична обусловеност на вирулентността

Вирулентността се определя основно от генетичния състав на микроорганизма. Специфични гени, кодиращи токсини, адхезини, капсули, ензими и секреторни системи, могат да се намират в хромозомите, плазмиди, бактериофаги или патогенни острови (pathogenicity islands). Много вирулентни гени се придобиват чрез фагова конверсия (интеграция на ДНК от лизогенни бактериофаги) или чрез преносими плазмиди, които често съдържат гени за токсини, адхезини и антибиотична резистентност. Генетични промени чрез мутации, хоризонтален трансфер и рекомбинация позволяват адаптация към гостоприемника и околната среда. Примери:

- *E. coli* – Shiga токсин (Stx) от бактериофаги; плазмиди, носещи гени за резистентност към β-лактами.
- *Corynebacterium diphtheriae* – дифтерийният токсин (tox) от бактериофаги.
- *Vibrio cholerae* – холера токсин (ctxAB) от CTXφ фаг; плазмиди с тетрациклинова резистентност.
- *Staphylococcus aureus* – вирулентни гени (токсини и адхезини) в състава на бактериофаги и плазмиди
- *Salmonella enterica* – патогенни острови и T3SS; плазмиди с антибиотична резистентност

Полово свързано унаследяване

Признаци и заболявания, както и наследствени заложи, чиито гени са локализирани върху нехомоложните участъци на Х и Y половите хромозоми се наричат полово свързани. Те имат характерни особености на унаследяване и фенотипно проявление в зависимост от това дали са доминантни или рецесивни. Различаваме Х-свързани и Y-свързани гени, но клинично значение имат преди всичко Х-свързаните. Освен гените необходими за детерминиране на мъжкия пол, Y хромозомата съдържа сравнително малко други гени, които определят фенотипни белези. Тези белези се унаследяват холандрично – изключително от бащата към синовете. Пример за Y-свързано унаследяване е ушната хипертрихоза. Досега са описани повече от сто Х-свързани признаци и заболявания при човека, като по-голяма част от тях се предават Х-рецесивно, а по-малка Х-доминантно. Важно е да се има предвид, че термините „доминантен“ и „рецесивен“ при Х-свързаните признаци и болести изискват по-прецизно тълкуване, тъй като при хетерозиготните носители се наблюдава значително по-голяма вариационност на клиничната изјава в сравнение с автосомните заболявания. Тази вариационност се дължи основно на инактивацията на едната Х хромозома при жената. Функционалната инактивация настъпва в много ранен етап от ембрионалното развитие и е дефинитивна – веднъж осъществена се поддържа във всички следващи клетъчни деления. Това явление се нарича физиологичен мозаицизъм, тъй като при част от клетките на женските организми е инактивирана чрез хетерохроматизация бащината Х хромозома, а в друга част майчината.

Х-свързан рецесивен тип унаследяване

Унаследяваният ген е локализиран в Х хромозомата и в хетерозиготно състояние при жените не се експресира. Мъжете са хемизиготни носители на този ген и имат пълна експресия.

При този тип унаследяване обикновено са засегнати мъжките индивиди. Всички фенотипно здрави дъщери на болни мъже се оказват хетерозиготни носители. Сред синовете на хетерозиготните майки вероятното съотношение на болни и здрави индивиди е 1:1. Този тип предаване се нарича диагенично (през жена).

Ако с x означим Х хромозомата, носеща мутантния алел, основните типове брачни комбинации при Х-свързаните рецесивни заболявания са:

- $Xx \times XY$ – хетерозиготна жена (носител) със здрав мъж
- $XX \times xY$ – здрава жена с болен (хемизиготен) мъж
- $Xx \times xY$ – хетерозиготна жена (носител) с болен (хемизиготен) мъж

Всяка комбинация на родителските генотипове определя различна вероятност потомството да прояви заболяването или да бъде носител на мутантния алел.

Първи случай (най-често срещан):

Половината от синовете са болни, а половината от дъщерите са фенотипно здрави, но носители на патологичния алел.

Втори случай („унаследяване на кръст“):

Всички дъщери са фенотипно здрави хетерозиготни носители, а всички снове са фенотипно и генотипно здрави.

Трети случай (най-рядък):

Характерен е за бракове между родствени лица, за изолирани популации или за популации с висока честота на мутантния алел. Рискът за раждане на болно дете е 50%, като са засегнати половината от синовете и половината от дъщерите (хомозиготни по Х рецесивния ген).

Едни от най-известните примери за Х-свързан рецесивен тип унаследяване при човека е хемофилията. Характерните особености на това заболяване са известни от древността. Класическата Х-свързана хемофилия (хемофилия А) се дължи на недостатъчност (от 0 до 20%) на антихемофилия глобулин А (фактор VIII) в плазмата и се проявява с различно изразени нарушения в кръвосъсирването и повишена склонност към кръвоизливи. Този тип хемофилия се среща приблизително пет пъти по-често от хемофилия В, която е резултат от дефицит на друг глобулинов фактор – IX.

И при двата типа повечето болни са мъже. Възможни са изключения – например когато болен от хемофилия мъж има потомство с хетерозиготна носителка. В такъв случай хомозиготните момичета в потомството могат да страдат от хемофилия с различна степен на тежест.

Исторически пример за това заболяване е английската кралица Виктория, която била носителка на алела за хемофилия. Тя го предала на един от четирите си сина и на две от петте си дъщери. Синът ѝ Леополд бил болен от хемофилия и починал на 30 годишна възраст, като предал мутантния алел на дъщерите си. В резултат на династичните бракове между европейските кралски фамилии, принцесите Алис и Беатрис разпространили хемофилията в Русия, Германия и Испания. В началото на XX век в потомството на кралица Виктория броят на мъжете, болни от хемофилия, достигнал десет.

По същия механизъм се унаследява и далтонизмът при човека. Цветната слепота представлява нарушение във възприемането най-често на червения и зеления цвят. Нейната честота сред мъжете в Европа достига около 8%, докато при жените е приблизително 0.4%.

Друг пример за X-свързано рецесивно заболяване е синдромът на Леш-Найхан – рядък дефект в метаболизма на пурините, причинен от недостатъчност на ензима хипоксантин-гуанин-фосфорибозил-трансфераза. Заболяването води до тежки неврологични нарушения и характерна склонност към самонараняване. Синдромът е използван като ценен модел в биохимията и генетиката, тъй като въз основа на него е разработена селективна система за идентификация и изолиране *in vitro* на мутантни клетки с този ензимен дефект.

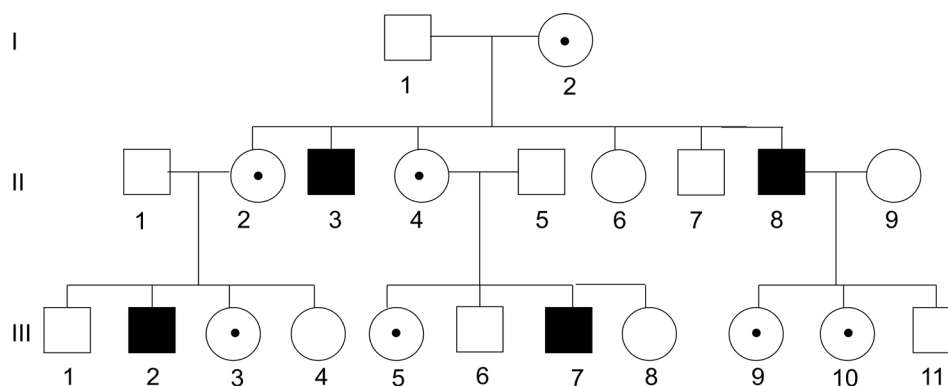
Някои X-свързани рецесивни заболявания се отличават с широка разпространеност. Сред най-често срещаните са цветната слепота, полиморфните варианти на ензима глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа, както и X-свързаната умствена изостаналост.

Дефицитът на глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа (G6PD) се счита за най-разпространения половосвързан дефект при човека. До момента са описани над 160 варианта на ензима, като при значителна част от тях фенотипният ефект е минимален или липсва. Най-чести са африканският, средиземноморският и кантонският тип, всеки от които се характеризира със специфична клинична изява. Около 12% от чернокожите мъже в САЩ имат G6PD-дефицит, а приблизително 21% от чернокожите жени са носителки на този алел.

В обобщен вид основните характеристики на X-свързаните рецесивни болести са:

- Заболяването се среща с по-голяма честота при мъжете. Родителите на болния пробанд са фенотипно здрави, като майката е хетерозиготна носителка на патологичния ген.
- Болният мъж обикновено има здраво потомство: всички негови синове са фенотипно и генотипно здрави, а всички дъщери са фенотипно здрави, но хетерозиготни носителки на мутантния алел.
- При хетерозиготна жена общият риск за потомството е 25%. Боледуват половината от синовете. Дъщерите са здрави, но половината от тях са хетерозиготни носителки на мутантния ген.
- Заболяването никога не се предава директно от баща на син, тъй като синът получава Y хромозомата от бащата. Болните мъже предават патологичния алел на половината от своите внуци от мъжки пол и носителство на алела на половината от своите внуци чрез фенотипно здравите си дъщери-носителки.
- Хетерозиготните жени са клинично здрави, но понякога могат да проявят минимални симптоми, свързани със случайната инактивация на нормалната X-хромозома. Хомозиготното състояние е рядко поради възможен летален ефект на мутантния ген. При някои патологични състояния, които са широко разпространени в популацията и съвместими с живота, е възможно преживяване на хомозиготни жени с мутантен X-рецесивен ген.

На Фиг. 1 е представено родословие, демонстриращо X-свързан рецесивен тип унаследяване.



Фигура 1. Родословие с X-свързан рецесивен тип унаследяване.

X-свързан доминантен тип унаследяване

Унаследяваният ген е локализиран в X хромозомата и се експресира в хетерозиготно или хемизиготно състояние.

При X-доминантното унаследяване се засягат еднакво както мъжете, така и жените. Генеалогично белегът може да се проследи по вертикала и по това е сходен с автономно-доминантните заболявания. Засегнатият баща винаги предава заболяването на всички свои дъщери, но никога на синовете си, докато болната майка предава алела на половината от синовете и дъщерите си.

Характерно за тези заболявания е, че при хетерозиготните жени проявата е по-лека в сравнение с хемизиготните мъже. Това се обяснява със съотношението между функциониращите нормални и патологични алели у женския индивид.

Болни жени, хомозиготни по X-доминантен мутантен ген, се срещат рядко. Майката на такава жена е хетерозиготна, а бащата – хемизиготен; и двамата родители са болни. Клиничната картина при хомозиготните жени е тежка. В потомството се раждат само болни хетерозиготни дъщери и болни хемизиготни снове, като рискът от засягане е 100% и за двата пола.

При човека X-доминантно се унаследяват някои заболявания, като резистентен към витамин D рахит, безвкусен незахарен диабет, фоликулярна кератоза (задебеляване на кожата на дланите и ходилата, съпроводено с опадане на космите от миглите, веждите и главата) и др.

От литературата е известно, че няколко доминантни X-свързани гена проявяват летален ефект при хемизиготните ембриони от мъжки пол. Поради това заболявания, предизвикани от тези гени се проявяват само при хетерозиготни жени, при които в потомство се наблюдават чести спонтанни аборти, тъй като те предават леталния ген на приблизително половината от мъжките зародиши.

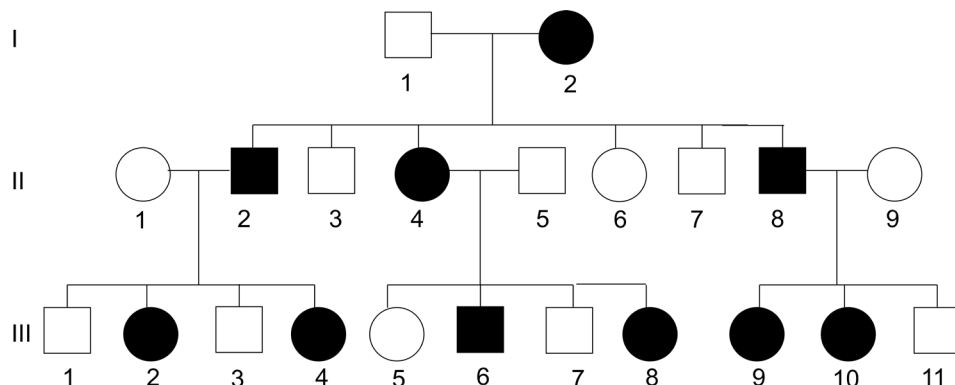
Основните характеристики на X-свързаните доминантни болести са:

- При X-доминантните заболявания се засягат еднакво мъжете и жените, като и двата пола предават патологичния ген на следващите поколения.
- Всеки болен има поне един болен родител, ако заболяването не е резултат от *de novo* възникнала мутация.
- Рискът за децата в семейството зависи от това дали е болна майката или бащата. При болен баща и здрава майка в потомството се раждат здрави снове и болни дъщери. При хетерозиготна болна майка и здрав баща рискът за потомството е 50%, с равна вероятност за двата пола.

X-свързаните доминантни болести притежават следните особености:

- Непълна пенетрантност: вероятността за клинична изява на мутантния ген; случайната инактивация на едната X-хромозома при жените може да бъде причина за липсата на фенотипна изява.
- Варираща експресивност: различна по сила клинична изява на заболяването при различни индивиди.
- Плейотропен ефект: един и същ мутантен ген може да предизвика разнообразни клинични прояви, обуславяйки хетерогенност на заболяването.
- Чести *de novo* мутации: нововъзникналите мутации са сравнително чести при X-доминантните заболявания.

На Фиг. 2 е представено родословие, демонстриращо X-свързан доминантен тип унаследяване.



Фигура 2. Родословие с X-свързан доминантен тип унаследяване.

Y-свързано унаследяване

Y-хромозомата при човека съдържа гени, които рядко мутират, което определя **холандрично** (Y-свързано) унаследяване. При този тип унаследяване заболяванията се предават само от баща на синове, като засегнати са единствено мъжете.

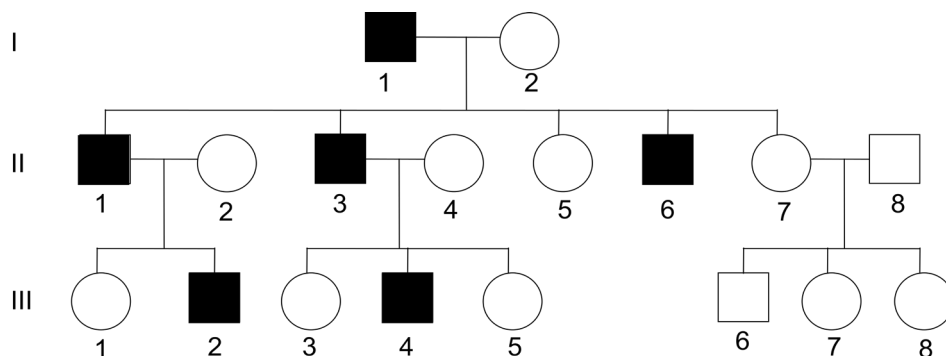
По-рано се е предполагало, че заболяването ихтиоза е свързано с Y-хромозомата, но съвременните данни оспорват тази хипотеза.

Признак, за който се обсъжда Y-свързано унаследяване, е окосмяването на ушната раковина. Този белег се среща с висока честота и има променлива експресивност.

През 1955 г. е описан трансплантационен антиген, детерминиран от Y-хромозомата, наречен H-Y, при мишките. Авторите предполагат, че този антиген е един от факторите определящи половата диференциация, по-специално при развитието на мъжките гонади. Според някои хипотези антигенът се експресира във всички клетки на мъжкия организъм, но само гонадите притежават H-Y рецептор, който се свързва с антигена и активира развитието на тестикуларните тъкани. Днес е известно, че H-Y антигенът (male-specific transplantation antigen) се кодира от гена Smcy и се експресира рано в ембриогенезата в различни тъкани, включително тестисите.

Има данни, че в Y-хромозомата на човека са локализирани и един или няколко гена, които влияят върху ръста, както и ген, който регулира размера на зъбите.

На Фиг. 3 е представено родословие, демонстриращо Y-свързан тип унаследяване.



Фигура 3. Родословие с Y-свързан (холандричен) тип унаследяване.

В генетиката на човека терминът „менделиращ признак“ обозначава наследствен признак, който се предава в потомството, съгласно законите на Мендел, по моногенен тип. Такъв признак трябва задължително да бъде дискретен, а не постоянен (което предполага полигененна обусловеност). Дискретността може да се оценява на базата на различни подходи – морфологичен, клиничен, биохимичен, имунологичен, физиологичен, електронно-микроскопски и др. Общо казано, представата за дискретността на признака зависи и от нивото на научни познания. Например, при автозомно-рецесивното заболяване пигментна ксеродерма дълго време за менделиращ признак се е считал клиничният фенотип – повишена чувствителност към слънчевите лъчи и склонност към образуване на кожни тумори. Подробните биохимични изследвания обаче показват, че тази чувствителност произтича от нарушена способност за репарация на ДНК в участъците, увредени от ултравиолетови лъчи, където се формират тиминови димери. Както е известно, в процесите на ДНК-репарация участват различни ензими – ендонуклеази, екзонуклеази, ДНК-полимерази и лигази. Мутациите, водещи до пигментна ксеродерма, засягат именно гените, кодиращи тези ензими. Следователно реалният менделиращ признак е наличието или отсъствието на активност на ензимите, участващи в ДНК-репарацията.

Основен метод за изследване на менделиращите признаци при човека е генеалогичният анализ, който проследява разпределението на белезите в родословието. В тези случаи признакът трябва да бъде представен поне в две алтернативни състояния. През последните години са разработени и методи на генетиката на соматичните клетки, които позволяват оценяване на менделиращи признаци дори при липса на явни алтернативни форми.

При определяне характера на унаследяване на даден признак трябва да се вземат предвид редица ситуации, които могат да симулират монохбридно кръстосване. Това са случаи, при които статистическият анализ на потомството създава привидност за моногенно разпадане, въпреки че действителният механизъм на унаследяване е различен. Могат да бъдат разграничени най-малко пет основни групи подобни ситуации:

- Болести с мултифакториален произход – в определени части от родословието тези заболявания могат да проявяват разпадане, наподобяващо доминантен или рецесивен тип унаследяване. При натрупване на по-обширен материал обаче моделът се променя, като единият тип разпадане се заменя с друг, докато не бъде разкрит действителният мултифакторен характер на заболяването.
- Хромозомни аномалии (структурни и бройни) – те могат да се проследяват в няколко поколения с приблизително 50% или 25% засегнати индивиди, което създава погрешна представа за монофакториално унаследяване. Такъв е бил случаят и със синдрома на Даун, който първоначално е бил разглеждан като моногенен, докато не е установена неговата хромозомна природа.
- Състояния, определяни от генотипа на майката – в някои случаи фенотипът на детето се влияе от метаболитни или физиологични особености на майката, която е фенотипно здрава хетерозиготна носителка на мутантния алел, въпреки че самото дете не го унаследява. Например при жени, хетерозиготни по алела за фенилкетонурия, високите концентрации на фенилаланин по време на бременността могат да доведат до умствена изостаналост у потомството, което всъщност не е носител на мутантния алел.
- Вродени инфекции – вътреутробни инфекции като токсоплазмоза и сифилис могат да предизвикат фенотипни промени, наподобяващи ефектите на патологични мутации. По този начин няколко засегнати индивида в едно поколение могат да създадат впечатление за наследственост на заболяването.
- Фенокопия, индуцирани от външни фактори – физични или химични агенти могат да предизвикат фенотип, идентичен с този, обусловен от патологична мутация. Ако въздействието на факторите продължава и след раждането на първия засегнат индивид, подобни прояви могат да се наблюдават и при неговите сибси, което може да имитира модел на моногенно унаследяване.

Многобройните методи за описване на дискретността на признаците, познанията за механизмите, които имитират монохбридно унаследяване, както и значителният напредък в цитогенетиката и другите клонове на човешката генетика, допринасят за бързото увеличаване на броя на установените менделиращи признаци при човека.

Автозомно-доминантно предаване на наследствени признаци (болести)

В класическата генетика терминът „доминантен“ се употребява за алел, чието действие в хетерозиготно състояние е равностойно или почти еднакво на проявяването му в хомозиготно състояние. Отчитането на доминантните признаци в потомството е по-лесно от това на рецесивните. Доминантните признаци могат бързо да се отчетат в неголямо родословие, съставено от две-три поколения. За анализ на рецесивните признаци е необходимо наличието на голям брой сибси и на разгънато в голяма степен родословие. Някои доминантни признаци се характеризират с умерена или лека проява в хетерозиготно състояние и с летален ефект – в хомозиготно.

Доминантните състояния не са така тежки за организма, както рецесивните по отношение на дадения локус. Това се обяснява с процеса на еволюция и естествения отбор: тежкият наследствен дефект води до развитие на летален фактор и се елиминира бързо, още в първото поколение. Рецесивните дефекти обаче могат да се запазват в популацията чрез хетерозиготни носители, които са фенотипно здрави.

През 1903 г. американският антрополог Фараби описва брахидактилията при човека – наследствено заболяване, характеризиращо се със скъсяване или липса на средните фаланги на пръстите, нисък ръст и скъсени крайници. През 1969 г. същото родословие е допълнително анализирано от други изследователи, които установяват, че сред потомството на засегнатите индивиди 45 са здрави, а 45 проявяват заболяването. Това съотношение 1:1 между здрави и болни индивиди е типично за автозомно-доминантния модел на унаследяване. Оттук следва, че при потомството на засегнатите лица рискът от проявата на брахидактилия е $1/2$, независимо от пола. При генеалогичния анализ не се наблюдава прескачане на поколения, а фенотипно здравите индивиди винаги имат здраво потомство – характеристика, типична за автозомно-доминантните признаци.

В научната литература са описани множество наследствени признаци и заболявания, които се унаследяват по автозомно-доминантен механизъм. Такъв тип унаследяване е характерен за белези като наличие на бял кичур коса над челото, вродена нощна слепота, ранно оплешивяване, петниста пигментация на кожата и др. Натрупаните данни показват, че преобладаващата част от засегнатите индивиди са хетерозиготни носители на патологичния алел. Често те проявяват намалена жизнеспособност поради летален или сублетален ефект на мутацията, което води до липса на поколение. Когато доминантният алел не причинява значим селективен дефицит, той може да се предава през много последователни поколения. Примери за това са симфалангията (срастване на първа и втора фаланга на пръстите), описана в 14 поколения, както и вродената нощна слепота, проследена в 10 поколения.

При този тип унаследяване на патологични признаци при човека симптомите на заболяването могат да се проявят в различни периоди от индивидуалното развитие, например късна или варираща възраст. Това е характерно за хорейта на Хънтингтън, бъбречната поликистоза и други автозомно-доминантните заболявания. До настъпването на симптомите носителите изглеждат напълно здрави и често успяват да създадат потомство, на което предават мутантния алел. Така алелът остава недостъпен за действието на естествения отбор и заболяването се разпространява в родословието. За хорейта на Хънтингтън е известно, че повечето засегнати са наследили мутацията от родител, а едва около 2% са резултат от нововъзникнали мутации.

За някои болестни състояния на индивида, отнасящи се към автозомно-доминантното унаследяване е отчетена **непълна пенетрантност** – например при индивиди, за които е доказано, че са носители на мутантния алел (имат болни родители и болни деца), признаци на заболяването не са установени. Към тази група се отнасят наследственият панкреатит (80% пенетрантност), отосклерозата (40% пенетрантност), ретинобластомът (80% пенетрантност) и др. Възрастта на носителя на мутантния алел също може да има отношение към пенетрантността му. При хорейта на Хънтингтън на 70 годишна възраст пенетрантността е 100% а на 40 годишна възраст – около 40%. Понякога възрастта влияе обратно – отдалечаването от младежката възраст намалява вероятността за заболяване.

При различните носители на един и същ автозомно-доминантен алел често се наблюдава различна степен на фенотипна изява – явление, известно като **вариабилна експресивност**. Типичен пример е полидактилията, при която могат да присъстват един или повече допълнителни пръсти с различна степен на морфологично оформяне. Друг пример е неврофиброматозата – при някои хетерозиготни носители се наблюдават фиброматозни тумори и множество кафяви петна, а при други – само кожни петна.

Основните генотипни комбинации между брачни партньори в семейства, засегнати от автозомно-доминантни заболявания, са следните:

- **Aa x aa** – в този случай има вероятност 50% от потомците да са хетерозиготни носители на доминантния алел; останалите 50% са генотипно и фенотипно здрави (aa).
- **Aa x Aa** – в този случай има вероятност 25% от потомците да са хомозиготи от типа AA, 50% да са хетерозиготи Aa и 25% да са фенотипно и генотипно здрави (aa).

Рискът за потомството не зависи от пола на родителя, който носи мутантния алел.

Често при семейства с автозомно-доминантни заболявания експресивността на мутантния алел при децата е по-голяма, отколкото при родителите. Това явление, известно като **антиципация**, се проявява чрез по-ранна клинична изява, по-тежко протичане и понякога с летален изход на заболяването в по-млада възраст.

Обобщено, автозомно-доминантното унаследяване на моногенни признаци (заболявания) при човека се характеризира със следните особености:

- Унаследяваният ген е локализиран в автозома и определяният от него признак се проявява доминантно.
- Всеки засегнат индивид има болен родител, от когото е унаследил мутантния алел, с изключение на случаите на нововъзникнали мутации.
- Патологичният признак се проявява във всяко поколение – типично вертикално предаване; при пълна пенетрантност не се наблюдава прескачане на поколения.
- Патологичният признак се предава от един засегнат индивид на приблизително половината от неговите деца; при достатъчно голямо потомство съотношението между здравите и болните сибси е 1:1.
- Здравите деца на засегнати родители, при брак със нормални партньори, имат здраво потомство; при тях и при техните низходящи мутантният алел е елиминиран.
- Фенотипната изява и предаването на белега не зависят от пола.
- Хомозиготното състояние по мутантния доминантен алел води до по-тежка клинична картина, често с ранна леталност; родителите на такива индивиди обикновено са хетерозиготни.

Автозомно-рецесивно предаване на наследствени признаци (болести)

Рецесивен се нарича алелът, който се изявява фенотипно само в хомозиготно състояние, а в хетерозиготно не се експресира. В медицинската генетика това означава, че индивидите с автозомно-рецесивно заболяване са унаследили еднакъв рецесивен алел от двамата родители. При наследствените рецесивни заболявания родителите на засегнатия индивид най-често са фенотипно здрави, но генотипно са хетерозиготни носители на патологичния алел. Обикновено заболяването се изявява при сибсите на пробанда и рядко при по-далечни родственици.

Основните генотипни комбинации между брачни партньори, в чието потомство може да се прояви автозомно-рецесивен белег, са следните:

- **Aa x Aa** – при брак между двама хетерозиготни носители вероятността за поява на заболяването в потомството е 25%.
- **Aa x aa** – в този случай рискът за засегнато потомство е 50%. На практика това са най-често кръвнородствените бракове, при които неутрални или сублетални аномалии, както и заболявания, които не водят до ранна детска смърт и не ограничават репродуктивните възможности, могат да се проявят в потомството.
- **aa x aa** – браковете между хомозиготни индивиди са изключително редки поради тежките патологични прояви на рецесивните мутации, които често намаляват жизнеспособността и преживяемостта.

При човека преобладаващата част от дефектите в обмяната на веществата се унаследяват автозомно-рецесивно – описани са над 300 ензимопатии. Арчибалд Гарод пръв доказва автозомно-рецесивния механизъм на унаследяване при алкаптонурия – заболяване, характеризиращо се с повишено отделяне на хомогентизинова киселина с урината. Едно от най-честите автозомно-рецесивни заболявания сред представителите на европейската раса е муковисцидозата (кистозна панкреатична фиброза), която се среща с честота 1:1600 – 1:2000. Счита се, че разпространението на това заболяване в европейската популация се определя от действието на естествения отбор.

Кръвнородствените бракове значително повишават вероятността за образуване на хомозиготни комбинации на редки рецесивни алели в потомството. Често родственици до трета степен са хетерозиготни носители на един и същ мутантен алел и при брак между тях може да се роди болно дете. Честотата на кръвнородствените бракове варира между човешките популации: те са по-разпространени в Япония и страните от Близкия изток, докато в Европа са под 1 – 2%. В малки и изолирани популации, поради географски, религиозни, езикови, социални или етнически бариери, често се наблюдава повишена честота на редки автозомно-рецесивни заболявания. Например при ескимосите се срещат високи нива на автозомно-рецесивна метхемоглобинемия и адрено-генитален синдром (псевдохермафродитизъм, проявяващ се още при раждането при индивиди от женски пол). Болестта на Тей-Сакс е около 100 пъти по-честа сред потомците на евреите ашкенази в Северна Америка в сравнение с останалото население. Особено показателен е примерът с 51 канадски деца от 29 семейства в изолиран район на Квебек, диагностицирани с рядката и летална в ранно детство чернодробна тирозинемия. Впоследствие се установява, че всички родители на засегнатите деца произлизат от съпругеска двойка, заселила се в Квебек през 1644 г. Вероятно единият от съпрузите е бил хетерозиготен носител на мутантния алел, който след преминаване през множество поколения се е „срещнал сам със себе си“, довеждайки до хомозиготното му проявление. Това явление е известно като **ефект на родоначалника**.

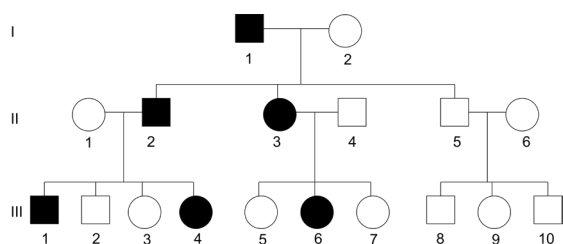
Макар и по-рядко, в популациите се наблюдават бракове между хетерозиготни носители и хомозиготни болни. В потомството им патологичният и нормалният фенотип се проявяват в съотношение 1:1, което наподобява доминантно унаследяване. Този модел се нарича **псевдоминиране** (или псевдоминантно унаследяване на рецесивен белег).

Експресивността на автозомно-рецесивните заболявания обикновено е по-еднородна в сравнение с автозомно-доминантните. Непълната пенетрантност при рецесивните белези е рядкост. Хомозиготното състояние по автозомно-рецесивен патологичен алел най-често води до тежка клинична картина, което ограничава разпространението на хомозиготите в популацията, тъй като много от тях рядко достигат репродуктивна възраст.

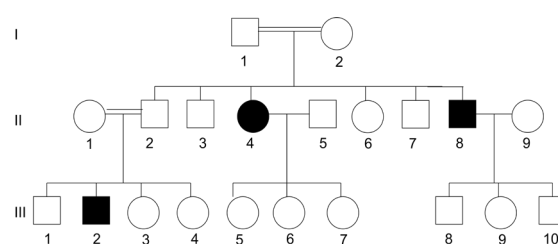
В обобщен вид основните критерии за автозомно-рецесивното унаследяване са следните:

- Мутантният ген е локализиран в автозома и се проявява само в хомозиготно състояние, докато хетерозиготните индивиди са фенотипно здрави. Тези заболявания са сравнително редки, но се срещат по-често при близкородствени бракове и в изолирани популации.
- Засегнатият индивид обикновено има фенотипно здрави родители, които са хетерозиготни носители на мутантния алел. Това определя хоризонтално разпределение на заболяването в родословието – засегнатите най-често принадлежат към едно и също поколение.
- При достатъчно голямо родословие около 25% от сибсите на болния пробанд са засегнати. Рискът за повторно раждане на болно дете е 1:4 за всяка бременност.
- И двата пола са засегнати с еднаква честота, което показва, че полът няма влияние върху експресията на автозомно-рецесивния ген.
- Болните хомозиготи, встъпили в брак със здрави хомозиготи, създават фенотипно здраво потомство от хетерозиготни носители на патологичния алел.
- Родителите на засегнатите деца често са в кръвно родство, което повишава вероятността за унаследяване на един и същи рецесивен алел.

Фигури 1 и 2 илюстрират родословия, демонстриращи автозомно-доминантен и автозомно-рецесивен тип унаследяване.



Фигура 1. Родословие с автозомно-доминантно унаследяване.



Фигура 2. Родословие с автозомно-рецесивно унаследяване.

1. Въведение и дефиниция

Инфертилитетът се дефинира като невъзможност за постигане на клинична бременност след 12 месеца редовни незащитени полови контакти (или след 6 месеца при жени ≥ 35 години). Клиничният подход при женски инфертилитет изисква поетапна оценка на основните причинни групи и прогнозните фактори, включително възраст и яйчников резерв, с цел избор на най-ефективна терапия и/или подходяща ART стратегия.

2. Етиология на инфертилитета при жената

2.1. Овулаторни нарушения

Узряването и отделянето на яйцеклетката от яйчниците е процес, контролиран от каскада от хормони. Когато техните съотношения и нормални серумни нива са нарушени, се появяват и репродуктивни проблеми. Овулаторните нарушения включват ановулация, олигоовулация и дефекти в лутеалната фаза. Те възникват при нарушения в хипоталамо–хипофизо–овариалната ос (GnRH, FSH, LH, естрогени, прогестерон). Хиперпролактинемията е класически пример за ендокринно обусловена ановулация и следва рутинно да се изключва при ановулаторни пациентки. Нивата на пролактин могат да бъдат функционално завишени или да са резултат от аденом на хипофизата. Пролактинът се повишава дори при стрес и леки физически усилия.

PCOS – синдромът на поликистозните яйчници е водеща причина за хронична ановулация, характеризираща се с овулаторна дисфункция, хиперандрогенизъм и поликистозна морфология. Терапията е поетапна (начин на живот $\rightarrow$ овулаторна индукция $\rightarrow$ ART), като IVF се разглежда като терапия от трета линия при резистентност или наличие на неблагоприятни прогностични фактори

2.2. Тубарен фактор

Тубарният инфертилитет е резултат от обструкция или функционално увреждане на маточните тръби, често вследствие на тазово-възпалителна болест, инфекции (вкл. *Chlamydia trachomatis*), ендометриоза или постоперативни сраствания. Тези промени могат да възпрепятстват нормалното оплождане на яйцеклетката или придвижването на оплодената яйцеклетка до маточната кухина. Диагностиката включва HSG/контрастни ултразвукови методи и/или лапароскопия. IVF първоначално е разработено като терапия за тубарен инфертилитет и остава метод на избор при тежки двустранни увреждания

2.3. Ендометриоза

Ендометриозата може да наруши фертилитета чрез хронично възпаление, сраствания, ендометриоми и неблагоприятна имплантационна среда. Ендометриозата е заболяване, което представлява разпръскване и разрастване на локални островчета от ендометриални клетки на нетипични места. Този тъкан може да се разполага навсякъде из коремната кухина и малкия таз. Тя реагира на хормоналните промени на естрогените и прогестерона, което означава, че при спад в техните нива, тя кърви. Кървенето на тази тъкан предизвиква възпаления и в резултат на тях – сраствания. Също така, кървящата ектопична маточна лигавица няма къде да изхвърли тази кръв и може да се образуват кисти. В яйчниците тези кисти се наричат шоколадови (ендометриозни) и могат да бъдат причина за инфертилитет.

При умерени и тежки форми, IVF-техниките са водеща опция; наличните данни не подкрепят универсална необходимост от съществени модификации на стандартните ART протоколи само поради диагноза ендометриоза

2.4. Маточни фактори: морфологични вариации, полипи и миоми

Вродените аномалии на матката (напр. септирана, двурога, еднорога, диделфична) произхождат от нарушения в развитието/сливането на мюлеровите канали и могат да се асоциират с имплантационни неуспехи и ранни репродуктивни загуби. Септираната матка е най-тясно свързана с неблагоприятни репродуктивни изходи; хистероскопската резекция на септума може да подобри резултатите при селектирани пациентки.

Ендометриалните полипи представляват малки, меки образувания, прикрепени към вътрешната повърхност на матката. Те се образуват в резултат от разрастване на ендометриума – маточната лигавица. Срещат се относително често. Те се прикрепят към ендометриума с тънко краче (педикул) или са на широка основа и се простират навътре в маточната кухина. Големината им варира от няколко милиметра (с размер на сусамово семе) до няколко сантиметра – с размер на гроздено зърно или по-големи.

Точната причина, поради която се формират полипи в матката е неизвестна, вероятна роля има промяната в хормоналните нива. Високи нива на естрадиола (E2), който предизвиква удебеляване на ендометриума всеки месечен цикъл, се асоциират и със склонността за образуване на маточните полипи.

Миомата е доброкачествен тумор от мезенхимен произход, който възниква в миометриума (мускулния слой на матката) и който засяга жените в репродуктивна възраст. Той произхожда от гладкомускулните клетки на матката. При жени над 35 години честотата достига 40%. По-голямата част от тях нямат никакви оплаквания и никога не разбират, че имат т.нар. миома на матката. Миомните възли могат да нарастват към кухината на матката (т.нар. субмукозни възли) или към коремната кухина (т.нар. субсерозни възли). Не е ясно какъв е произходът на миомите, но за техният растеж важно значение имат естрогените (хормони, произвеждани от яйчника). Миомата не прави нищо друго освен да расте и понякога, нараствайки, да затруднява функцията на някои от репродуктивните органи (матка, маточни тръби, маточна лигавица – ендометриум), причинявайки инфертилитет.

2.5. Намален яйчников резерв и възрастов фактор

Възрастта и намаленият яйчников резерв са ключови прогностични фактори. С напредване на възрастта се влошава овоцитното качество и се увеличава честотата на анеуплоидии. Антимюлеровият хормон (AMH) е утвърден маркер за оценка на яйчниковия резерв и прогнозиране на отговора към овариална стимулация. При преждевременна овариална недостатъчност или изчерпан резерв, донорството на овоцити е най-ефективната опция.

2.6. Неизяснен инфертилитет

Неизясненият инфертилитет се диагностицира при липса на доказуеми овулаторни, тубарни, маточни и/или мъжки причини след стандартна оценка. Изборът на терапия се определя от възрастта, продължителността на инфертилитета и яйчниковия резерв; при неблагоприятна прогноза IVF често е предпочитана първа линия.

2.7. Имунологични фактори при женски инфертилитет

Имунологичните механизми в женския репродуктивен тракт имат двоен характер: те трябва да осигурят защита срещу патогени, но и да поддържат толеранс към алоантигените на сперматозоидите и (по-късно) към полуалогенния ембрион. Нарушаването на този физиологичен баланс може да доведе до т.нар. „имунологичен фактор“, при който се наблюдава локален и/или системен имунен отговор срещу компоненти на семенната течност и сперматозоидите.

Ключов компонент са антисеменните и антиспермалните антитела (ASA), които могат да се откриват в серум, цервикална слуз, фоликуларна течност и други среди. ASA могат да влияят неблагоприятно върху транспорта на сперматозоидите, капацитацията, акрозомната реакция и/или взаимодействието със *zona pellucida*; ASA-опсонизирани сперматозоиди могат да бъдат по-уязвими на фагоцитоза в женския репродуктивен тракт.

Автоимунните механизми също са релевантни. Антифосфолипидните антитела (насочени напр. срещу $\beta 2$ -гликопротеин I, кардиолипин и др.) се свързват с репродуктивни неуспехи, включително загуба на бременност и плацентарни съдови усложнения; описани са и антитела срещу компоненти на *zona pellucida* и ендометриума, които потенциално нарушават оплождането и имплантацията.

От гледна точка на клиничния алгоритъм, имунологичните фактори се разглеждат най-вече при случаи на необяснен инфертилитет, повтарящи се имплантационни неуспехи и/или повтарящи се ранни репродуктивни загуби. Оценка трябва да бъде селективна и интерпретирана в контекста на конкретния казус, като се избягва рутинно прилагане на невалидирани панели. При доказани показания, ART подходът се насочва към преодоляване на бариерите пред оплождането и имплантацията (IUI/ICSI при съмнение за ASA-медирирани нарушения).

3. Диагностичен подход (постепенен алгоритъм)

Базовата оценка включва: (1) анамнеза и клиничен преглед; (2) доказване на овулация и ендокринен профил; (3) оценка на матка и тръби (ехография, HSG/контрастни методи, хистероскопия при вътрематочна патология); (4) оценка на яйчников резерв (АМН и др.); (5) паралелна оценка на партньора. Целта е едновременно установяване на причина и прогнозиране на ефективността на различните терапевтични опции.

4. Терапевтичен подход и асистиран репродуктивни техники

Терапията следва принципа „най-малко инвазивна ефективна опция“, съобразена с възрастта и прогнозата. При леки форми и проходими тръби може да се приложи вътрематочна инсеминация (IUI), като успеваемостта е променлива и силно зависи от възрастта и етиологията (Repetitorium ART, 2025). IVF е метод на избор при тубарен фактор, неблагоприятна прогноза, напреднала възраст или след неуспех на по-консервативни подходи. ICSI е показано преимуществено при мъжки фактор/малък брой овоцити и не демонстрира универсално предимство при чисто женски или неизяснен инфертилитет. Донорството на овоцити е високоефективна стратегия при преждевременна овариална недостатъчност или изчерпан резерв.

5. Заключение

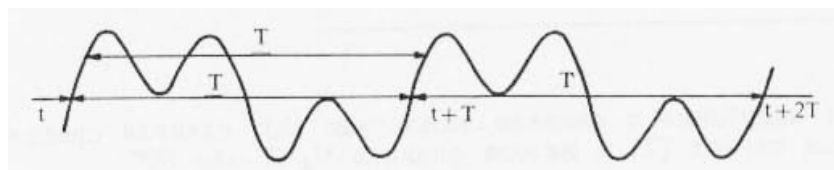
Женският инфертилитет е хетерогенно състояние, при което най-честите причинни групи включват овулаторни нарушения, тубарен фактор, ендометриоза, маточни фактори и възрастово обусловено намаляване на яйчниковия резерв. Имунологичните механизми представляват специфичен и клинично значим компонент при подгрупи пациентки и следва да се оценяват селективно. Индивидуализираният, прогностично ориентиран подход и рационалното прилагане на IVF- и ART-техниките оптимизират вероятността за успешна бременност.

Думата „хронобиология“ произлиза от гръцки (Χρόνος – “време”) – клон на биологията, който разглежда периодичните (циклични) явления, протичащи в живите организми с течение на времето. Тя е тясно свързана с физиологията, биохимията, биофизиката, генетиката, молекулярната биология и екологията.

Видове ритъм

Основно понятие в хронобиологията е понятието *ритъм*. Ритъмът е основно свойство на живата материята и представлява динамична, закономерна смяна на противоположни, но неразривно свързани действия като различни страни на един и същ процес или на едно и също явление. Той участва в създаването и поддържането на живота, в неговия ход, в многобройните автоматични регулации на живия организъм, в дейностите на всяка система и орган, обуславя връзката между живите организми и неживата среда на тяхното съществуване.

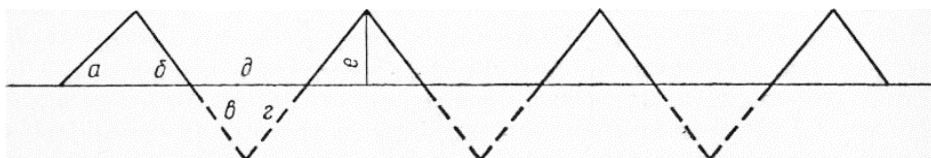
Под ритъм или цикъл в широкия смисъл на думата се разбира наличието на качеството *периодичност* в колебателните процеси. В тесен смисъл на думата под ритъм или цикъл се разбира времето между две последователни еднакви състояния (фази) на един периодичен процес. Ритмични, циклични или периодични са такива процеси, при които след изтичане на определено време (период) процесът достига до същата стойност и състояние (фиг. 1), т.е. стойността на процеса във всеки момент t е равна на стойността на процеса в моментите $t+kT$ или $t-kT$, като k е броят на пълните цикли, изминали от момента t , а T е периодът на цикъла.



Фиг. 1. Периодичен процес с период T .

Присъщи на всеки ритъм са следните съставки: честота на колебанията, размер (амплитуда) и фаза. Тези съставки на ритъма са добре познати от махалото. При него отклонението в едната или другата страна отговаря на двете фази, големината на отклонението е амплитудата, а честотата измерва броя на колебанията в единица време. Под *фаза* се разбира времето, изтекло в рамките на един период от произволен, но фиксиран като начален момент за всеки цикъл. Най-често фазата се отчита или спрямо моментите на преминаване през средната стойност (нулата), или достигане на максимума (минимума) на колебанието, или друг характерен момент за колебателния процес.

Най-обикновен е хармоничният ритъм – с еднакви колебания и амплитуди с постоянна честота. Във всеки ритъм се крие латентен тласък на възврата към дадено изходно положение или състояние, което до известно време се запазва или се променя, без да се нарушава ритъмът (фиг. 2).



Фиг. 2. Хармоничен ритъм –

a и b – фази; δ и ε – латентни фази; δ – скрит период на колебанията; e – амплитуда.

Ритмовата регулация често пъти е част на други регулационни явления, каквито са например приспособяването (адаптация), изравняване (компенсация), съдружност (синергизъм), противопоставяне (антагонизъм), разпространение (генерализация), заместване (викаризация) и общата функция на вегетативната нервна система.

Класификация на биоритмите

В зависимост от избрания критерий за класификация биоритмите могат да бъдат систематизирани по различен начин. Тъй като ритъмът се измерва с времето, за което се извършва един пълен цикъл от дадено периодично явление, биоритмите най-често се подразделят според продължителността или честотата си. На тази основа известният хронобиолог Халберг дели ритмичните процеси в живия организъм на три групи: *високо-, средно- и нискочестотни*.

Високочестотни са всички ритми с период по-малък от 30 минути. Към тази група спадат различните процеси, свързани с дейността на сърцето, дишането, електроенцефалографските промени, колебанията на някои биохимични реакции и т.н.

Средно честотни са ритмите с период между половин и 6 дни. В тази група се включват жизнените процеси, свързани с ритъма на бодърстване и сън, активност и покой, обмяна на веществата в денонощния жизнен цикъл, състава на кръвта, урината и др. Най-характерни за тази група са така наречените циркадни (денонощни) ритми, които заемат централно място и в общата хронобиология. Названието циркадни ритми е употребено за първи път от Халберг и произхожда от латинските думи „цирка“ – приблизително, „диес“ – ден, денонощие. Самото название показва, че циркадните ритми не са точно 24 часови, а се колебаят около тази продължителност, като най-често са по-краткотрайни. За растенията тези ритми са в границите на 23 – 28 часа.

Нискочестотни са седмичните, лунните и годишните ритми, менструалните цикли, екскрецията на някои хормони, половите цикли и т.н., чиято продължителност е от една седмица до една година. Към нискочестотните ритми се отнасят и получилите широка популярност биоритми с период 23, 28 и 33 денонощия.

Класификацията на Халберг, която се отнася за живия организъм, не включва някои доказани годишни и многогодишни ритми, към които спадат изменението на числеността на популациите, реколтите, растежът на дърветата и т.н.

Класификация на биоритмите въз основа на продължителността на цикличността на явленията в живата материя може да се допълни със свръх бавните ритми на еволюционните преобразувания, чиято продължителност е от порядъка на 10 – 100 млн. години.

Друга класификация е предложена от американския физиолог Браун, който разделя биоритмите на две групи – *екзогенни* и *ендогенни*, според зависимостта им от външните условия.

Екзогенните ритми са определени по честота напълно от външните условия, при които се пораждат. Те се наричат още адаптивни, тъй като целят приспособяването на организма към закономерната ритмика на неживата природа. Имат различна продължителност и биват: денонощни (около 24 часа), приливно-отливни (приблизително 12,8 часа), лунни (около 28 дни), сезонни, годишни и многогодишни.

Денонощна ритмика се наблюдава при много растения и видове животни. Така например голям брой гризачи проявяват хранителна активност само през първата половина на нощта. Същото се отнася и за много нощни грабливи птици, прилепите и др.

Най-сложен от екзогенните ритми е *приливно-отливния ритъм*, характерен за организмите, обитаващи крайбрежните зони на моретата и океаните. Тези видове живеят в сложна периодичност, тъй като към денонощната ритмика на факторите на средата се прибавя и редуването на приливите и отливите. В продължение на лунното денонощие (24 ч. и 50 мин.) настъпват два прилива и два отлива, чиято фаза се измества ежедневно с 50 мин. Силата на прилива се мени в течение на лунния месец (29,5 денонощия) като максимумът се достига при новолуние и пълнолуние. Обикновено крайбрежните обитатели са активни по време на прилив и пасивни при отлив, например стридата отваря и затваря черупката си синхронно с тези процеси.

Някои равноноги раци се хранят само по време на прилив, а при настъпване на отлив се заравят в пясъка. Младите имаго на някои насекоми от приливната зона показват ясно изразен лунен (по-точно полулунен) ритъм – появяват се през две седмици, когато нивото на водата е най-ниско.

При някои кафяви водорасли изхвърлянето на половите клетки се подчинява също на лунен (в Северна Америка) или на полулунен (в Европа) ритъм. Поради голямата сложност на тези биологични ритми (приливно-отливния и лунния), те са генетически детерминирани, т.е. закрепени са в генетичната програма на индивидите и протичат като безусловни рефлексии. Пренесени в други географски ширини, организмите веднага синхронизират своята активност с лунната ритмика в съответния район, което по всяка вероятност се предизвиква от изменения в атмосферните

условия, съпътстващи приливните и отливни явления. Така например стридата продължава да отваря и затваря черупката си даже и в аквариум, където отсъстват приливи и отливи.

Най-закономерни са *денонощните* и *сезонни ритми*, свързани с циклични изменения на физиологичните процеси и активността на организмите, циклите на размножаване, периодите на миграция, летаргия и т. н. Размножаването при повечето бозайници и птици е подчинено на ритъм, съответстващ на смяната на сезоните. При някои видове птици (например славеи) годишните ритми се състоят в изпълняване на сложна програма от смяна на оперението (линеене), миграции и размножаване, свързани с определен сезон.

Многогодишните ритми са резултат от различната активност на Слънцето в отделните години, предизвикана от намаляване на броя на слънчевите петна в резултат на сливането им, което се придружава от увеличаване на общата повърхност на активните зони и усиляване на слънчевата радиация. Последното предизвиква изменения в климата на Земята, което от своя страна води до изменение на числеността при животните и продуктивността на растенията. Известни са редуване на топли и студени, сухи и влажни периоди с продължителност от около 3 – 5, 6 – 7, 11, 35 и 80 – 100 години. Редуването на години с висока и ниска численост при животните и голяма и малка продуктивност при растенията е приспособление на организмите към сходни изменения на климатичните условия под влияние на слънчевата активност.

Ендогенните ритми са предизвикани от т.нар. „биологичен часовник“ в организма. Ритмичното повторение на едни и същи физиологични функции в организма, в едно и също време от денонощието, се нарича „биологичен часовник“. Под понятието „биологичен часовник“ условно се нарича и способността на организмите да измерват и се ориентират във времето. Ендогенни са ритмите на сърдечната дейност, дишането и т.н. Продължителността на ендогенните ритми е от няколко десетохилейни от секундата до няколко седмици – например провеждане на нервен импулс, синтез на ДНК, РНК, делене на клетки, до денонощие или сезон – например функционалната ритмика на сърцето и другите органи, кръвното налягане, промяна на хормоналния статус при женските индивиди, двигателната активност на организма и др. Болшинството от високо честотните ендогенни ритми проявяват и характерна допълнителна периодичност, която е близка до продължителността на денонощието, но за разлика от екзогенните ритми е различна от 24 часа т.е. не са синхронизирани с измененията на факторите на средата. Това позволява да се разграничат ендогенните биоритми опитно, като се поддържат постоянни условия на външната среда. Например пилета, излюпени в инкубатор и оставени при същите условия показват още от втория ден циркадна ритмитика, която може да се обясни само с ендогенния характер на тази ритмитика. Ако за критерий се приеме не продължителността на въздействие на физическия фактор, а неговата природа, могат да се различават фоторитми, терморитми, магнитни ритми и т.н. Някои автори употребяват термина функционален ритъм, с който означават онези ритми, които гарантират непрекъснатата дейност на живия организъм. По правило това са най-високо-честотните ритми, определящи процесите в организма от молекулярно до органно ниво. Някои функционални ритми проявяват синхронно изменение (модулация) с денонощния ритъм, т.е. собственият функционален ритъм се променя в различните фази на денонощието.

Ритмите, които запазват периодичността си или слабо я менят при отсъствие на външен (изкуствен) синхронизатор, се наричат *несинхронизирана ритмичност* или *свободни ритми*. Нарушаването на фазовото и честотното съотношение на биоритмите се нарича *десинхроза* или *дисритмия*. Според това коя структура проявява биоритъмът и къде е локализиран този ритъм: субклетъчни, клетъчни, тъканни, органни, организмови и популационни ритми.

Американският учен Гудуин разглежда клетъчните ритми, като основа, върху която се развиват биологичните ритми на тъканно, а оттам на органно ниво. По този начин ритмичната организация на живия свят се представя като една твърде сложно организирана йерархическа система, в която има водещи, автономни и подчинени ритми, което позволява пренастройка на организма при десинхронизация на биоритмите и поддържане на една относителна устойчивост.

Методи за изучаване на биоритмите

Методите за изучаване на биоритмите могат да се класифицират в три основни, взаимно свързани и обусловени групи – *експериментални методи*, *аналитични методи* и *модели на биоритмите*.

Основен принцип на всички *експериментални методи* е регистрирането на измененията на един от множеството параметри в зависимост от промяната на друг, предварително избран

параметър, при съблюдаване на едни и същи условия на опита. Този принцип, който задоволява почти напълно изследователските нужди на физическите и техническите науки, често е неефективен за изучаването на сложните по организация и взаимодействие биологични системи. Според степента на автоматизация на експеримента се различават неавтоматизирани методи с директно отчитане на данните, полуавтоматизирани методи, при които отчитането на данните става автоматично след подаване на сигнал от експериментатора, и автоматизирани методи, при които е програмирано изцяло реализирането на необходимите измервания в процеса на опита.

Аналитичните методи за изучаване на биоритмите (а още по-точно на качеството „периодичност“ в дадено явление) е прието да се делят на три основни групи – (1) класически методи, които са приложими само за чисто периодични функции, (2) методи за откриване на периодичност със случайни компоненти и (3) методи за откриване на скрити периодичности.

Към класическите методи се отнасят: методите за пряко изследване на формата на кривата на периодичността.

Към класическите методи спадат:

- методите за намиране на параметрите (амплитудата и фазата) на колебания със зададена или известна честота (период);
- методът за анализ на периодични процеси на базата на разложенията на Фурие, при който изследваното колебание се разлага на кратни на основната честота хармонични компоненти;
- статистическите методи за потвърждаване или отхвърляне на достоверността на дадена работна хипотеза, които включват методите на математическата статистика без ограничения.

От методите за откриване на периодичност със случайни компоненти (зашумена периодичност), най-голямо значение имат авто- и взаимнокорелационният анализ, при които се сравняват две функции, отместени във времето на някакъв интервал. При автокорелационния анализ изходната функция (данните) се сравнява сама със себе си, а при взаимнокорелационния анализ – с друга функция, и то най-често с очакваната или с близка до нея честота.

Към методите за откриване на скрити периодичности се отнасят периодограмният анализ и резонансно търсещите методи, чиито цели са да се намери естествена честота (ритъм) в изследваното явление.

Третият основен метод за изучаване на биоритмите – *моделирането* – решава задачите, свързани с формализирането на биологичните колебателни системи и намирането, описването и изследването на колебателните системи, аналогични на формализираните биологични системи. Формализацията е съвкупност от изисквания към разработвания модел на базата на описание на оригиналните (естествените) процеси с желание или възможна точност и сложност на бръзките с останалите процеси в рамките на една система. Основната задача на моделирането на биологичните ритми е намирането на такива осцилиращи системи, които да възпроизвеждат параметри и съотношения, характерни за обекта на моделиране както в стационарно състояние, така и в преходни режими под различни въздействия. Друга основна задача на моделирането на биоритмите е възпроизвеждането на системи от връзки във функционалната организация на биологичните обекти, които гарантират не възбуждането на колебания, а съгласуването по фази и честота на различни ритмични процеси, т.е. моделиране на фазовата синхронизация в биологичните обекти.

Според броя на участващите в колебателната система на модела осцилатори се различават: едно-, дву-, три- и многоосцилаторни модели. Първоначално предложени и добили известност, са едноосцилаторните модели на Клотер, двуосцилаторните модели на излитането на дрозofilата на Питендрай, Харкер и др.

Биоритми и адаптация при човека

Биологичен часовник

Циркадните часовници (цикъл приблизително 24 ч.) са изключително важни за координацията на физиологичните функции на всички организми от цианобактерии до човека. Системи от биологични часовници (биологичния часовник е нар. още „циркаден пейсмейкър“ или „циркаден осцилатор“) контролира циркадните ритми в тялото. Тези т.нар. „часовници“ представляват групи от взаимодействащи си молекули в клетките, разположени в цялото тяло. Главният часовник поддържа всички останали в синхрон. При гръбначните животни включително и човека този главен часовник се намира в хипоталамуса в сгрупване на нервни клетки в супрахиазматичното ядро.

Интересен е фактът, че когато клетки на супрахиазматичното ядро биват отстранени от организма и изготвени под формата на мозъчен препарат, те продължават да генерират 24 часови ритми, под формата на електрическа активност, секреция и генна експресия. Биологичните часовници са частично управлявани от вътрешни фактори, включително множество гени и протеините които кодират.

Биологичните часовници се повлияват също и от външни фактори като светлина и тъмнина. Разположението на супрахиазматичното ядро при човека, точно над оптичните нерви, позволява получаването на информация за количеството на постъпващата светлина. Когато количеството на светлината е малко, мозъка получава информация да се продуцира повече мелатонин, който предизвиква чувство на сънливост. По този начин главният биологичен часовник повлиява цикъла на сън и бодърстване. Прекъсване на биологичният часовник или промени в синхронизирането му се случва по време на дълги полети (през няколко часови зони), работа на смени и старост. Нарушения в регулацията на часовника влияе хегативно на човешкото психическо и физическо състояние.

Циркадни биоритми при човека

Циркадните ритми са основните характеристики на адаптация към околната среда. При бо-зайниците, циркадните ритми са създадени и регулирани от циркадна система. От всички видове биоритми, най-добре изучени са циркадните ритми. Те представляват еволюционна адаптация към периодичните промени на дневната осветеност, температурата и други фактори на околната среда, дължащи се на Земната ротация. Тъй като, тези ритми/осцилации са изключително важни за човешкото здраве, могат да бъдат ключов фактор за синхронизацията и на други видове биоритми.

Циркадните осцилатори (часовници) осигуряват временната структура на физиологичните процеси в организма. Почти всички функции в тялото показват съществени денонощни колебания, включително възбуда, познавателни способности, обучение, памет, моторика и възприятие. Тези временни вариации, играят важна роля в хомеостатичните механизми на организма и имат голямо влияние върху функцията на нервната система.

Наименованието „циркадиен“ идва от латински и означава „около един ден“. Циркадните биоритми са физиологични и поведенчески ритми и включват: цикъл на сън и бодърстване; флуку-туациите в телесна температура; регулация на хормоналната секреция; кръвно налягане; секре-ция в храносмилателната система; нива на будност/ бдителност; времето за реакция.

Циркадните ритми имат продължителност приблизително 24 – 25 часа, а Josef Berger ги описва като 22 – 26 часа цикъл. Циркадните ритми, които е известно че са съществени във физи-ологията на човека и животните, показват нарастваща роля и в регулацията на специфични имунни функции. Циркадните ритми на имунни медиатори, съвпадат с активността на имунната система, което вероятно помага на гостоприемника да се справи с микробните заплахи по-ефек-тивно. Тези колебания могат също да помогнат за насърчаване на тъканното възстановяване, и отстраняването на потенциално вредни клетъчни елементи в циркулацията. Това мнение обоб-щава текущите знания за циркадните ритми в имунната система и осигурява поглед върху евен-туалните бъдещи последици при различните заболявания.

Цикъла на бодърстване и сън се регулира чрез два механизма действащи в синхрон или в опозиция помежду си в продължение на 24 часов цикъл: хомеостатичният и циркадния процес. Тези два механизма са заложи в двупроцесният модел на регулиране на цикъла сън-бодърстване, който първоначално е предложен от Borbe'ly и др. (Borbe'ly, 1982; Daan, Beersma & Borbe'ly, 1984). Този модел първоначално създаден за изучаване регулацията на съня, намира широко приложение в изучаването на човешките поведенчески реакции, които също са повлияеми от тези два процеса.

Хората организират своя живот в приблизително 24 часов цикъл. Въпреки това съществуват известни индивидуални различия. *Хронотипът* е индивидуална характеристика на човека, която показва през коя част от деня неговите физиологични функции (хормонална секреция, хранене, сън, познавателни способности) са активни, променят се или достигат определено ниво. В зависи-мост от тези особености най-често хората се определят като сутрешен или вечерен тип. Предраз-положението на човека към сутрешен или вечерен тип определя неговия циркаден профил.

„Сутрешните“ хора (т. нар. „чучулиги“), обикновено предпочитат да стават рано сутрин между 5 – 7 ч. и да си лягат рано вечер между 9 – 11 ч. Този тип хора се нагаждат по-трудно към промените в циркадния им ритъм. Хората от вечерен тип (т. нар. „сови“) предпочитат късното ставане сутрин между 9 и 11 ч. и късното лягане между 11 и 3 ч. сутринта. В повечето случаи, този тип хора се приспособяват по-лесно към евентуална промяна в ежедневието си.

Регулация на циркадните биоритми

Когато циркадните ритми са изследвани при постоянни условия, техните ендогенни периоди често се отклоняват от 24 часа. При естествени условия, циркадните часовници се повлияват от външни фактори, най-вече от светлината. Молекулният механизъм лежащ в основата на генерирането на ендогенните ритми, е свързан с регулация на транскрипцията на т.нар. часовникови гени и техните продукти. Генетичните различия между хората, определят до голяма степен предпочитанията им към сутрешен или вечерен тип.

При бозайниците и човека циркадните ритми са създадени и регулирани от циркадна система. Тази система се състои от клетки на ретината (отчитат количеството на постъпващата светлина), клетките на супрахиазматичното ядро (СХЯ) в хипоталамуса (часовникови гени) и епифизата (секреция на мелатонин). Часовниковите гени са взаимосвързани чрез вътреклетъчни обратни връзки. Някои видове имунни клетки също притежават активни часовникови гени и могат да продуцират мелатонин. Този факт, дава предпоставка да се счита, че циркадната система е компонент на невроимунната регулация на организма.

В СХЯ ендогенният характер доминира, който се определя от тъмнината и настройва организма към режима светлина/тъмнина включително и имунитета. Екзогенния характер на ритмите доминира при имунната система, като синхронизира организма, включително клетките на СХЯ, към външните стимули.

Антибиотиците (АБ) са специфични нискомолекулни биологично активни вещества (БАВ), продукти на вторичния метаболизъм на различни организми или техни аналози и производни, които притежават висока физиологична активност и избирателно потискат и/или задържат развитието на определени микроорганизми, протозои и някои злокачествени образувания. До момента в науката са открити и описани голям брой АБ вещества, изолирани от микроорганизми, лишеи, висши и низши растения, растителни и животински клетъчни култури, от които около 150 се произвеждат и прилагат в практиката. Те са изключително хетерогенна група съединения, като липсва единен критерий за класификацията им.

В зависимост от вида на продуциращите ги организми:

- ✓ АБ, синтезирани от актиномицети – тетрациклин, стрептомицин, еритромицин и др.;
- ✓ АБ, синтезирани от плесенни гъби – бензилпеницилин, цефлоспорин С и др.;
- ✓ АБ, синтезирани от бактерии – бацитрацин, вискозин и др.

В зависимост от спектъра на действие:

- ✓ Антибактериални – действат на бактерии;
 - С тесен спектър на действие – действат само на Грам-положителни бактерии (бензилпеницилин, линкомицин, олеандомицин и др.);
 - С широк спектър на действие – действат и на Грам-положителни, и на Грам-отрицателни бактерии (стрептомицин, тетрациклин, карбеницилин и др.);
- ✓ Противогъбни – действат на дрожди и плесенни гъби (нистатин, амфотерицин В);
- ✓ Антипротозойни – действат на протозои (тилозин);
- ✓ Противотуморни – действат на някои злокачествени образувания (дауномицин, адриамицин).

В зависимост от типа (силата) на действие:

- ✓ АБ със статично действие (бактериостатично, фунгистатично, цитостатично) – само потискат развитието на чувствителните организми, без да ги убиват;
- ✓ АБ с цидно действие (бактерицидно, фунгицидно, цитоцидно) – убиват чувствителните организми.

Какъв ще бъде типът на действие на АБ, статично или убийствено, зависи най-вече от концентрацията, в която се прилага.

В зависимост от механизма на биологично действие:

- ✓ АБ, които инхибитори на синтеза на клетъчна стена (бензилпеницилин, цефалоспорин С, ванкомицин);
- ✓ АБ, които инхибират биосинтез на белтъци (тетрациклин, стрептомицин, еритромицин);
- ✓ АБ, които инхибират репликацията на ДНК (митомицин, рубомицин, новобиоцин);
- ✓ АБ, които инхибират нормалната пропускливост на клетъчната мембрана (нистатин, амфотерицин В и др.);
- ✓ АБ, които инхибират синтеза на пуринови и пиримидинови бази (саркомицин, аскозин);
- ✓ АБ, които инхибират клетъчното дишане (патулин, антимицин);
- ✓ АБ, които инхибират процеса окислително фосфорилиране (валиномицин, грамицидин);
- ✓ АБ, които действат като антиметанболити – структурни аналози на нормалните клетъчни метаболити (пурамицин, ацидомицин);
- ✓ АБ с имуномодулаторно действие (циклоспорин, рубомицин).

β -Лактамните АБ спадат към класа на пептидните и механизмът на действието им се основава на инхибиране синтеза на пептидоглюкана муреин, като необратимо нарушават интегритета на клетъчната стена при бактериите и в този смисъл действието им е бактерицидно. АБ от тази група инхибират транспептидазите и D-аланинкарбоксипептидазата, които катализират полимеризацията на пептидоглюкановата верига. За някои пеницилини е доказано инхибиращото

действие по отношение и на ендопептидази и трансглюкозилази, локализирани в плазматичната мембрана на бактериите. Към β -лактамните АБ се отнасят: (1) пеницилини, цефалоспорици и цефеме – продуцират се от плесенни гъби от родовете *Penicillium* и *Cephalosporium*; (2) карбапеними и цефамицини – продуцират се от представители от род *Streptomyces* и (3) монобактами – продуцират се от представители от род *Nocardia*. Биосинтетичните β -лактамни АБ се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове в комплексни хранителни среди, съдържащи по-трудно метаболизируеми въглеродни източници, като царевично нишесте, соев шрот, соево масло и др., защото лесно метаболизируемите източници, като глюкоза, репресират продукцията на вторични метаболити. Всички АБ от този клас са външноклетъчни и се изолират от културалната течност след филтрационно отделяне на мицела. Пеницилините се изолират чрез течна-течна екстракция с бутилацетат, а цефалоспорицините – чрез йонообменна сорбция. Биосинтетичните пеницилини и цефалоспорици се използват за получаване на полусинтетични производни с по-широк антимикробен спектър на действие, като ампицилин, амоксицилин и др.

Към класа на **хиноновите АБ** се отнасят линейни кондензирани полициклически АБ (тетрациклини), нафтохинони (антрациклини) и бензохинони. Тетрациклините представляват голяма група субституирани полиокси поликарбонилни съединения с октахидронафтаценова структура. Към тях се отнасят голям брой биосинтетични и полусинтетични представители, които съдържат еднаква система от четири кондензирани ядра – тетрациклин, хлортетрациклин, окситетрациклин и др. Тетрациклиновите антибиотици проявяват широкоспектърно бактериостатично действие и са активни спрямо коки, спирохети, рикетсии, хламидии и амеби. Не са активни спрямо бактерии от род *Proteus* и вида *Pseudomonas aeruginosa*. Механизмът на антимикробното им действие се основава на инхибиране на белтъчната биосинтеза при бактериите. Те преминават през OmpF и OmpC пориновите канали и под формата на положително заредени координационни комплекси с йони на двувалентни метали проникват и се натрупват в периплазматичното пространство на клетките. Там комплексите между АБ и металните йони се дисоциират и под формата на незаредени слабо лиофилни молекули тетрациклините свободно дифундират през липидния бислой и постъпват в цитоплазмата на клетките. В цитоплазмата настъпва хелатиране на антибиотика с двувалентни метални йони. Счита се, че точно под формата на комплекс с Mg^{2+} тетрациклините се свързват с акцепторния сайт на 30S субчастицата на рибозомата. Съществуват доказателства, че в процеса участва специален протеин S7, а мястото на свързване на антибиотика с рибозомалната субчастица става в участъка, в който се формира от базите G693, A892, U1052, C1045, G1300 и G1338. По този начин тетрациклините възпрепятстват свързването на аминоксил-тРНК комплекс с рибозомата. Установено е още, че тетрациклините инхибират металоензими, като аминоксил-тРНК-синтетаза, като образуват хелатни комплекси с двувалентните метали (Mg^{2+}), намиращи се в активния център на тези ензими. Вероятно по този начин те пречат и на образуването на аминоксил-тРНК комплекси. Биосинтетичните тетрациклинови антибиотици – хлортетрациклин, тетрациклин и окситетрацикли, се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове от видовете *S. aureofaciens* и *S. rimosus*, в комплексни хранителни среди. В състава на средите като въглероден източник се влагат глицерол, нишесте, растителни масла и липиди, малтоза и млечна киселина. От комплексните източници на азот широко приложение намират соевото брашно, соевият, памучният и фъстъченият шрот, царевичен и дрождев екстракт. Тетрациклините са външноклетъчни и се изолират от културалната течност чрез екстракция, йонообменна сорбция или утаяване под формата на комплексни соли с дву- и поливалентни метали при алкални стойности на рН.

Към групата на антрациклините се отнасят около 70 различни АБ, продуцирани главно от актиномицети – *S. peuceticus* и *S. coelicolor*. Повечето от тях действат антибактериално, но някои като дауномицина и неговите производни адриамицин и карминомицин, проявяват противотуморна активност. Митомицините са АБ от групата на бензохиноните, които имат близки структури (митомицин А, В и С) и подобно на антрациклините проявяват противотуморно действие. Най-важният представител от тази група е митомицин С, който се продуцира от щамове *S. caespitosus*. Антибиотикът притежава широк антибактериален спектър на действие, потиска развитието на рикетсии и проявява противотуморно действие спрямо ексудативни форми на саркома, аденокарциноми и меланоми. Механизмът на действието му се основава на инхибиране на процеса репликация на ДНК.

Всички **аминогликозидни АБ** съдържат в молекулата си цикличен многоатомен aminoalkohol (аминициклитол), който е глюкозидно свързан с аминокзахарен остатък. В зависимост от вида на аминокиклитола аминогликозидните антибиотици се разделят на: производни на стрептамина (стрептомицин), производни на 2-десоксистрептамина (гентамицин, тобрамицин), производни на актинамина (спектиномицин) и др. Проявяват широк антимикробен спектър на действие, а бактерицидният им ефект се дължи на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига. От аминогликозидните антибиотици по-широко приложение намират биосинтетичните антибиотици стрептомицин, продуциран от *S. griseus*, гентамицин, от продуциран от *Micromonospora purpurea*, тобрамицин, продуциран *S. tenebrarius*, канамицин, продуциран от *S. canamyceticus* и някои техни полусинтетични производни като амикацин. Проявяват широк антимикробен спектър на действие, а бактерицидният им ефект се дължи на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига. Аминогликозидните АБ се асоциират с клетъчната повърхност чрез йонни връзки и дифундират през клетъчната стена в периплазматичното пространство, като процесът е по посока на концентрационния градиент, т.е. протича без разход на енергия. АБ преодолява цитоплазмената мембрана чрез електротранспортната система и навлиза в цитоплазмата (енергозависима фаза I). В цитоплазмата аминогликозидите се свързват към 30S рибозомната субчастица при нуклеотиди 911 – 915 от 16S рРНК в участък, известен като „регион на точността“. Необратимото свързване на антибиотика с 30S субчастицата в региона на точността води до синтеза на аномален инициращ комплекс, като фиксира 30S/50S рибозомния комплекс към стартовия кодон на иРНК. Това блокира нормалната трансляция на иРНК, индуцира преждевременна терминация на белтъчната биосинтеза и образуването на аномални функционално неактивни късоверижни белтъци. Тези функционално неактивни белтъци се включват в клетъчната мембрана и необратимо нарушават пермеабилитета ѝ, като благоприятстват за по-лесното навлизане на нови порции от антибиотика в клетката и по този начин се засилва бактерицидният ефект на аминогликозидите. Недостатък на тази група АБ е бързата проява на резистентност и високата им ото- и нефротоксичност. Това ограничава приложението на класическите аминогликозиди до резервни АБ в терапията на инфекциозните заболявания, причинени от чувствителни микроорганизми, но са получени и полусинтетични аминогликозиди с понижена токсичност. Аминогликозидите се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на продуцентите в комплексни хранителни среди. Като въглеродни източници се използват глюкоза, малтоза, но най-вече нишесте и декстрини, защото щамовете проявяват висока амилалитична активност. От комплексните органични източници на азот се влагат соево и рибно брашно, царевичен екстракт и слънчогледов шрот, а от неорганичните – амониеви соли и карбамид. Повечето аминогликозидни АБ се изолират от културалната течност чрез йонообменна сорбция, като в производствени условия процесът се осъществява в батерия от последователно свързани йонообменни колони.

Макролидите представляват голям клас АБ, които съдържат в молекулата си алифатен макроцикличен лактонен пръстен, свързан глюкозидно със захарен или аминокзахарен остатък. По мащаба си на производство макролидните антибиотици заемат второ място след пеницилините. В зависимост от антимикробния си спектър на действие те се разделят на две групи: антибактериални и противогъбни, като последните са наречени полиени. Антимикробният спектър на действие на макролидите е сходен с този на пеницилините. Проявяват висока антимикробна активност спрямо Грам-положителни и някои Грам-отрицателни бактерии. Механизмът на действието им се основава на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига, като образуват комплекс с 50S субчастицата на рибозомата. Макролидните АБ се свързват с пептидилния участък на 50S субчастицата на рибозомата и правят невъзможно преминаването на растящия аминоксил-тРНК комплекс от аминоксилния към пептидилния участък, т.е. възпрепятстват придвижването на рибозомата по дължина на иРНК. По този начин се синтезират късоверижни и функционално неактивни белтъци. От групата на антибактериалните макролиди едни най-широко произвеждани по биотехнологичен път са еритромицин от *S. erythreus*, олеандомицин от *S. antibioticus*, авермектин от *S. avermetilis* и тилозин от *S. fradiae*. Биосинтетичните макролиди се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове в комплексни хранителни среди, които съдържат глюкоза, нишесте, хидрол, царевично брашно и др. От комплексните органични източници на азот се използва главно соево брашно, защото не е установено царевичният екстракт да стимулира антибиотичната продукция. Антибактериалните макролиди са външноклетъчни и се изолират от културалната течност чрез екстракция с бутилацетат.

Полиеновите макролидни АБ са изградени от 20- до 44-членен лактонен пръстен, който съдържа система от 2 до 8 конюгирани двойни връзки и е глюкозидно свързан с аминокиселинен остатък микозамин. При някои полиени, като кандицидина и леворина, лактонът е свързан и с ароматен амин *p*-аминоацетофенон. В зависимост от броя на двойните връзки полиеновите антибиотици биват тетраени, пентаени, хексаени, хептаени и октаени. Механизмът на антимикробно действие на полиеновите АБ се основава на образуването на стабилни комплекси между АБ и стеролите в състава на клетъчните мембрани на еукариотните микроорганизми, което обяснява и липсата на антибактериална активност. Образуваните комплекси формират трансмембранни канали (пори) в мембраната и променят пропускливостта ѝ по отношение на вода и редица йони, което е свързано с нарушение на нормалните метаболитни процеси в клетките и води до тяхната смърт. Освен противогъбна активност, някои полиенови АБ проявяват и противотуморна активност. Приложението на полиените до известна степен се лимитира от тяхната неразтворимост във вода, нестабилност и токсичност. От тази група най-широко по биотехнологичен път се произвеждат нистатин от *S. noursei*, амфотерицин В от *S. nodosus* и леворин от *S. levoris*. Полиените се получават чрез тристепенно аеробно култивиране на продуцентите в комплексни хранителни среди. В състава им се влагат глюкоза, хидрол, нишесте, соево брашно и растителни масла, които имат стимулиращо действие върху продуктивността на културата. Този ефект се дължи на ненаситените мастни киселини, влизащи в състава на маслата. Полиеновите АБ се продуцират вътреклетъчно и след края на култивирането, мицелът се отделя от средата чрез филтрация под вакуум и се суши в сушилня с псевдокипящ слой. АБ се екстрахират от изсушения мицел и се концентрират под вакуум.

Анзамицините са макролактамни АБ, съдържащи в молекулата си ароматно ядро, към което е свързана в две отдалечени позиции алифатна поликетидна верига чрез амидна, етерна, и/или С-С връзка, наречена „анза“-връзка. Те се различават по вида на ароматното ядро, което може да бъде бензолно или нафталиново. Съединенията с бензолно ядро, като гелданамицин или анзамитоцин, са активни главно спрямо еукариотни организми, а тези с нафталинова структура имат само антибактериално действие. Към антибактериалните анзамицини се отнасят рифамицините, халомицините и стрептоварицините. Рифамицините притежават висока активност спрямо Грам-положителни бактерии и микобактерии и са по-слабо активни спрямо Грам-отрицателни бактерии. Не предизвикват кръстосана резистентност. Механизмът на антимикробното им действие се изразява в инхибиране репликацията на РНК. Първите природни рифамицини са изолирани във вид на АБ комплекс от 5 компонента от културалната течност на *Nocardia mediterranei*. Общ предшественик на всички антибиотични съединения от комплекса е рифамицин S или SV. Търговският препарат рифамицин, съдържа главно рифамицин В. За да се потисне образуването на по-слабо активните компоненти от комплекса и да се стимулира продукцията на рифамицин В, в състава на ферментационната хранителна среда се влага диетилбарбитурова киселина. АБ се получава в резултат на дълбочинно аеробно култивиране при интензивна аерация, температура 24 – 28°C за време 5 – 9 дни, в зависимост от състава на средата и конкретния шам-продуцент.

Токсикологията е наука за взаимодействието на отровата и организма. Тя изучава вредните ефекти на всички чужди за организма субстанции (т.н. ксенобиотици), включително лекарствени средства, върху живите организми. Тъй като лекарствата също са чужди вещества, те се разглеждат като ксенобиотици, които при определени условия могат да проявят токсичен ефект.

Токсикологията е интердисциплинарна наука с няколко основни подразделения. Общата токсикология формулира фундаменталните принципи – механизми на действие, токсикокинетика, токсикодинамика, доза-ефект зависимости и др. Специалната токсикология изучава отделните отрови и токсични вещества, техните характеристики и антидоти. Други клонове са клиничната токсикология (диагностика и лечение на отравяния), екологичната токсикология (ефекти на замърсители върху околната среда и екосистемите), съдебна токсикология (анализ на отрови при криминални случаи), индустриална токсикология (трудова, изследва рискове от интоксикации на работното място) и др. Всички тези дялове носят информация, помагаша за разбиране и предотвратяване на токсичните увреждания на организма.

В токсикологията се използват специфични термини за описание на вредните вещества и техните ефекти като: отрова (токсин, токсикант), ксенобиотик, токсичност, токсичен ефект. Токсичните ефекти са дозозависими, а степента на увреждане се определя от количеството на ТВ и времето на експозиция.

Токсичните вещества могат да предизвикат различни по характер увреждания, които се класифицират по няколко критерия. В токсикологията различаваме остър и хроничен ефект. Остра токсичност възниква при краткотрайна, еднократна експозиция на относително висока доза токсично вещество и се проявява бързо (например минути или часове след контакт). Хронична токсичност се развива при продължително или многократно излагане на по-ниски дози токсично вещество, като уврежданията се натрупват с времето. Един и същ токсикант може да предизвика различна клинична картина при остра и при хронична интоксикация. В токсикологията съществуват локално и системно увреждане. Локалната токсичност засяга мястото на първоначален контакт с отровата – например корозивно вещество причинява изгаряне на кожата или лигавиците на мястото на допир. Системната токсичност настъпва след абсорбция и разпространение на токсиканта в тялото, като уврежда отдалечени органи и системи. Много отрови имат специфичен прицелен орган – например метанолът поражда зрителния нерв и ретината. В токсикологията говорим още за обратимо и необратимо увреждане. Някои токсични ефекти са обратими – организмът може да се възстанови след прекратяване на експозицията (напр. временна наркотична упойка, дразнене на очите от пара, което отзвучава). Други увреждания са необратими, например мутации в ДНК, увреждане на слуховия нерв от ототоксични лекарства или индуциран от химици рак. Необратимостта често е свързана с разрушаване на клетки, които не се регенерират (неврони, сърдечни кардиомиоцити) или с персистиращи промени като белези, фиброза, злокачествена трансформация. Разглеждат се още незабавен и отложен токсичен ефект. Незабавните (остри) ефекти се проявяват веднага или скоро след излагането (напр. цианидът води до мигновена загуба на съзнание). Отложени ефекти се появяват след латентен период – например канцерогенезата може да настъпи години след експозиция на мутагенно вещество. Някои вещества предизвикват характерни патологични състояния наречени специфични типове токсични ефекти – например мутагенност (предизвикване на генетични мутации), канцерогенност (предизвикване на рак), тератогенност (увреждане на плода и вродени малформации), алергични реакции (имунологично медирано увреждане) и др. Такива ефекти често се разглеждат отделно, тъй като механизмите им на възникване се различават от директната цитотоксичност.

При развитието на токсичния процес могат да се разграничат няколко последователни етапа. Първично увреждане наричаме прякото взаимодействие на токсиканта с ключови биомолекули (на молекулярно или субклетъчно ниво) – например окисление на тиолови ензими, свързване с рецептори, директна химическа реакция с клетъчни компоненти. Вторично увреждане са следващите клетъчни и тъканни реакции, произтичащи от първоначалния молекулен удар – например оксидативен стрес, нарушена клетъчна сигнализация, некроза или апоптоза на клетки, възпалителна реакция в тъканите. Третично увреждане се отнася до крайния ефект на нивото на

целия организъм – симптомите и синдромите, които наблюдаваме (например чернодробна недостатъчност, гърчове, кома или смърт). Тези три етапа по същество съответстват на различните равнища на токсично действие (молекулно → клетъчно → органно/организмено), които се изучават в токсикодинамиката.

При продължително или многократно излагане на въздействието на токсични вещества организъмът може да прояви адаптивни явления, променящи реакцията към отровата. Основните от тях са кумулация, толерантност и тахифилаксия. Кумулацията е постепенно увеличаване на количеството на веществото или на ефекта му при многократен прием. Разграничават се два вида: (1) Материална кумулация, изразяваща се в постепенен принос на малки дози, при което веществото се натрупва в организма, тъй като постъпленията надвишават способността за елиминиране. Това се случва, когато отделянето е бавно или веществото има дълъг биологичен полуживот. Например тежките метали (олово, живак и др.) при хроничен контакт се акумулират в тъкани (кости, нервна система), понеже екскрецията им е затруднена. С течение на времето концентрацията им в организма нараства и може да достигне токсични нива. (2) Функционална кумулация, при която става натрупване на ефектите от всяка следваща доза без самото вещество непременно да се задържа в организма. Тук последователните увреждания се сумират, защото организъмът не успява напълно да компенсира или възстанови настъпилите промени между отделните експозиции. Пример е кумулативното увреждане на черния дроб при хронична злоупотреба с етанол – всеки епизод на пиене причинява известна хепатоцелуларна вреда, която се натрупва до клинично значимо чернодробно заболяване. Толерантността представлява намаляване на чувствителността на организма към дадено вещество при повтарящата се употреба. В резултат на толеранс, за да се постигне същият ефект, е необходима по-висока доза от веществото. Този феномен често се дължи на адаптивни промени: напр. намаляване на броя или чувствителността на рецепторите-мишени (при повторна стимулация рецепторите могат да се десенситизират или интернализират), засилено разграждане и елиминиране на веществото (ензимна индукция, ускорен метаболизъм) и др. Толерантността може да бъде фармакодинамична (на ниво прицелни клетки – рецептори, йонни канали и пр.) или фармакокинетична (на ниво организъм – ускорено инактивация/екскреция). Тахифилаксията е бързо настъпваща толерантност, развиваща се след многократно прилагане на веществото в кратък период. Тахифилаксията може да се появи дори в рамките на часове или дни – ефектът на веществото спада рязко при последващи приеми, но тази поносимост също така бързо изчезва, ако употребата се прекрати за известно време. Класически пример са непреките симпатомиметици (напр. ефедрин): първоначалните дози освобождават депата от невротрансмитери и дават силен ефект, но скоро депата се изчерпват и следващите дози имат все по-слаб ефект – наблюдава се тахифилаксия.

Дозата/концентрацията на едно вещество е най-важният определящ фактор за токсичността му. Токсичните ефекти са тясно свързани с количеството на токсичното вещество – с увеличаване на дозата нараства и тежестта на ефекта. Съществува доза, под която не се наблюдава ефект (прагова доза), а при нея започва проява на токсичност, както и доза, над която настъпва максимален ефект. Между праговата доза и тази с максимален ефект обикновено се описва крива „доза–отговор“.

За количествена оценка на токсичността се използват различни показатели. Един от най-често цитираните е LD_{50} (летална доза 50%) – дозата, причиняваща смърт при 50% от експерименталните животни. LD_{50} обикновено се изразява в mg/kg телесна маса. Вещество с малка LD_{50} (напр. 5 mg/kg) е силно токсично, докато друго с голяма LD_{50} (напр. 5000 mg/kg) се счита за слабо токсично. Освен LD_{50} , в токсикометрията се използват и ED_{50} (ефективна доза за 50% от индивидите за определен нетоксичен ефект), TD_{50} (токсична доза, причиняваща определен неблагоприятен ефект у 50%), NOAEL (нулево-ефектно ниво, най-високата доза без наблюдаван ефект) и др.

Токсикологична класификация на веществата често се прави именно на база на острата им токсичност (LD_{50}). Съгласно една обща скала веществата се разделят на крайно токсични ($LD_{50} < 50$ mg/kg), високо токсични (50 – 500 mg/kg), умерено токсични (500 – 2000 mg/kg) и ниско токсични (> 2000 mg/kg).

Важен фактор, свързан с дозата, е времето на въздействие. Еднаква доза, получена еднократно, може да има различен ефект в сравнение със същата доза, разпределена в продължение на дни или седмици. Разграничават се експозиции от различна продължителност: остра (еднократна или < 24 часа), субхронична (повтаряща се експозиция за седмици до ~3 месеца) и хронична (месеци до години непрекъснато излагане).

Структурата и физико-химичните свойства на веществата силно влияят върху тяхната токсичност. Химическият строеж определя липофилността или хидрофилността, което пък влияе на абсорбцията и разпределението им. Например мастноразтворимите вещества лесно преминават през клетъчните мембрани и могат да се натрупват в мастните тъкани. Молекулната структура предопределя и реактивността на съединението: наличие на определени функционални групи (епоксиди, алкилиращи групи, нитро-групи и др.)

В реални условия организмът често е изложен на комбинация от химикали. Основните типове комбинирани ефекти са: (1) Адитивен ефект: комбинираното действие е равно на сумата от ефектите на отделните вещества ($1 + 1 = 2$). (2) Синергизъм: взаимодействие, при което комбинираният ефект е по-голям от сумата на отделните ефекти ($1 + 1 > 2$). С други думи, веществата взаимно усилват токсичността си. (3) Антагонизъм: обратното на синергизма – едно вещество намалява ефекта на друго ($1 + 1 < 2$). Антагонистичните ефекти са в основата на много антидотни терапии при отравяне. Взаимодействията между отровите могат силно да повлияят силата на токсичността им – понякога токсичността на една смес е много по-висока от очакваното (опасни синергизми), а друг път едно вещество може да предпазва от друго (антагонизъм).

Токсикокинетиката е дял от токсикологията, изучаващ въздействието на организма върху токсичното вещество. Тя описва процесите на абсорбция (резорбция), разпределение, биотрансформация (метаболизъм) и екскреция на токсиканти от момента на постъпване в организма до пълното им елиминиране. Обратната страна на процеса – какво причинява токсичното вещество на организма – се нарича токсикодинамика. Токсикокинетиката има няколко етапа (нива): експозиция и резорбция (токсикогенен стадий), разпределение чрез кръвта (хематогенен стадий), преминаване в тъкани и клетки (органо-целуларен стадий), метаболизъм и екскреция. Всеки от тези етапи е повлиян от свойствата на токсиканта и от физиологията на организма, като заедно те определят колко бързо и в каква форма една отрова достига до мястото на действие и колко дълго се задържа там.

Резорбция наричаме процеса на поглъщане на токсичното вещество в организма – преходът му от околната среда във вътрешната среда (кръвта, лимфата). Основните входни врати за токсиканти са: (1) стомашно-чревен тракт (перорално поглъщане): Много отрови попадат чрез храната и водата. Резорбцията става главно в тънките черва (поради голямата повърхност и кръвоснабдяване). Фактори като рН на стомаха/червата, разтворимост на веществото, наличие на храна и др. влияят на степента на абсорбция. (2) дихателна система (инхалационно): Белите дробове са вход за газообразни отрови, пари и аерозоли. Абсорбцията през алвеолите е много бърза – благодарение на голямата им повърхност и тънката бариера между въздуха и кръвта, вещества, разтворими в кръвта, постъпват практически мигновено в кръвообращението; (3) Кожа (през кожна бариера): Някои токсиканти могат да се резорбират през неповредена кожа при контакт – например органофосфорни инсектициди, нитробензен, анилин, феноли.

В обобщение, степента и скоростта на абсорбция зависят от входната врата: инхалационно и интравенозно ефектът е най-бърз, през кожа – най-бавен, а перорално – междинен и подложен на влиянието на храносмилателната система.

След като токсичното вещество се резорбира и попадне в кръвообращението, започва етапът на разпределение чрез кръвта до различните тъкани и органи. Кръвният поток разнася молекулите, като първи получават високи концентрации най-добре кръвоснабдените органи – черен дроб, бъбреци, мозък, бял дроб. По-слабо кръвоснабдени (мускули, кожа) получават по-бавно, а мастната тъкан и костите – най-бавно, но могат да служат като депо. Важни фактори, повлияващи разпределението са: (1) физико-химичните свойства на токсичните вещества Липофилните вещества лесно преминават през клетъчни мембрани и могат да се натрупват в тъкани с високо съдържание на липиди (напр. пестициди ДДТ се акумулират в мастна тъкан). Водноразтворимите остават повече в кръвната плазма и междуклетъчните течности. (2) Плазмено свързване: Много вещества се свързват обратимо с плазмените протеини (албумин, глобулини). Свързаната фракция на молекулата е фармакологично неактивна (не може да преминава през мембрани или да се елиминира), докато свободната фракция е тази, която дифундира в тъканите и упражнява ефект. В крайна сметка разпределението на токсиканта определя кои органи ще бъдат изложени на най-голяма доза и съответно къде ще се прояви токсичният ефект.

След като чрез кръвта отровата достигне даден орган, тя трябва да навлезе в конкретните клетки-мишени, за да упражни действието си (органо-целуларен стадий – дистрибуция в органите и клетките). Това включва преминаване през клетъчните мембрани на съответния орган (по-

добно на описания процес на резорбция). Органо-целуларният стадий описва разпределението вътре в тъканите – кои клетки или субклетъчни структури концентрират токсиканта.

Метаболизмът на ксенобиотиците (още наричан биотрансформация) представлява химичното превръщане на чуждите вещества в организма посредством ензимни реакции. Целта на метаболизма обикновено е да направи молекулите по-хидрофилни (водоразтворими), за да могат лесно да бъдат изведени с урината или жлъчката. В повечето случаи това води до детоксикация – получават се по-малко токсични или нетоксични метаболити. Понякога обаче метаболитните реакции създават по-токсични продукти – процес, известен като метаболитна активация или биоактивация. Класическа схема е разделянето на биотрансформацията на две фази: (1) Фаза I (функционализация): Реакции като окисление, редукция и хидролиза. Те въвеждат функционални полярни групи ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$) в молекулата. Основни ензими тук са монооксигеназите от семейството цитохром P450 (CYP) в черния дроб, които окисляват много различни субстрати. Други примери: алкохолната дехидрогеназа (окислява етанол до ацеталдехид), моноамин оксидазата (разгражда амини), естерази и амидази (хидролизират естерна или амидни връзки на някои лекарства и инсектициди). (2) Фаза II (конюгация): Реакции на свързване (конюгиране) на получените функционални групи с високо полярни ендогенни молекули. Най-чести са глюкуронидация (свързване с глюкуронова киселина чрез UDP-глюкуронилтрансферази), сулфатиране (със сулфатна група чрез сулфотрансферази), ацетилиране (с ацетил-CoA чрез N-ацетилтрансферази), глутатион-конюгация (с трипептида глутатион чрез глутатион S-трансферази) и др.

Екскрецията е процесът на отделяне на токсичните вещества и техните метаболити от организма във външната среда. Това е финалният етап, който определя колко дълго една отрова ще остане в организма и ще упражнява ефекта си. Основни пътища на екскреция са: (1) Бъбречна екскреция (урина): Бъбреците филтрират кръвната плазма през гломерулите – водоразтворимите малки молекули лесно попадат в първичната урина. В бъбречните тубули някои от тях се реабсорбират обратно (липофилните могат пасивно да дифундират през мембраните обратно в кръвта), докато полярните конюгати остават и се изхвърлят. Има и активна тубулна секреция – специализирани транспортери пренасят органични киселини и основи от кръвта в урината (напр. пеницилин, урат, др.). (2) Чернодробна екскреция (жлъчка → фецес): (3) Бял дроб (издишване): Летливите вещества и газове до голяма степен се елиминират през белите дробове с издишания въздух. В по-малки количества токсичните вещества могат да се отделят и чрез потните жлези, слюнката, кърмата.

Токсикодинамиката изучава биологичните ефекти на токсичните вещества и механизмите, по които те въздействат на организма. Ако токсикокинетиката описва пътя на отровата до мястото на действие, то токсикодинамиката описва самото взаимодействие с прицелните молекули и последващите биологични отговори. Това включва молекулните механизми на токсично действие, клетъчните и органните увреждания, които водят до наблюдаваните симптоми и ефекти. Токсичните ефекти могат да настъпят на различни нива – субклетъчно (молекулно, генетично), клетъчно, тъканно, органно и системно. Токсикодинамиката обхваща всички тези равнища, като се фокусира върху прицелните биомолекули и ключовите патофизиологични процеси. В контекста на фармакологията често се говори, че „фармакодинамиката е действието на лекарството върху организма“. Аналогично, токсикодинамиката описва действието на отровата върху организма – включително нежелани и патологични реакции.

Някои от основните молекулни механизми на токсичност включват: (1) Образуване на свободни радикали и липидна пероксидация: Много токсиканти увреждат клетките чрез генериране на реактивни кислородни видове (ROS) – свободни радикали като супероксиден анион ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и хидроксилен радикал ($\cdot\text{OH}$). Тези силно реактивни частици окисляват важни биомолекули. Особено податливи са ненаситените липиди в клетъчните мембрани – започва верижна реакция на липидна пероксидация. Радикалите „атакуват“ мастните киселини в мембраните, което води до образуване на пероксиди и нови свободни радикали, в порочен кръг. Резултатът е увреждане на мембраните. Те губят своята цялост и функция – променя се течливостта, пропускливостта, активността на ензими и рецептори. Това може да доведе до клетъчен летален изход (некроза) или задействане на апоптоза. (2) Свързване със сулфхидрилни групи: Много метали и реактивни органични съединения имат афинитет към $-\text{SH}$ (тиолни) групи в белтъците. Сулфхидрилните групи на цистеиновите остатъци са от решаващо значение за структурата и функциите на множество ензими. Токсичните метали като арсен, живак, олово, кадмий се свързват ковалентно със сулфхидрилите, което води до конформационни промени в белтъка и загуба на ензимна активност.

(3) Инхибиране на ензими (и кофактори): Блокирането на активността на жизненоважни ензими е често срещан механизъм на токсично действие. Цианидът например е един от най-бързодействащите отрови, защото инхибира цитохром-с оксидазата в митохондриите, като се свързва с Fe^{3+} в активния център – това спира дихателната верига и клетките губят способността си да произвеждат АТФ. (4) Ковалентно свързване и алкилиране на биомолекули: Някои реактивни химикали действат чрез директна химична модификация на макромолекулите – алкилиране или арилиране на ДНК, РНК или белтъци. Алкилиращите агенти (напр. диметилсулфат, азотен иприт) придават алкилни групи към основите на ДНК, което води до погрешно спаряване или скъсване на веригата. Резултатът са мутации, които могат да причинят генотоксичност и канцерогенеза, или при масивно увреждане – апоптоза на клетките. Списъкът с молекулни механизми може да продължи – някои токсини дестабилизируют клетъчния скелет (фалоидин от гъбата зелена мухоморка стабилизира прекомерно актиновите нишки и клетките не могат да функционират), други предизвикват имунни реакции (хаптените – малки молекули, които се свързват с белтъци и стават антигени, причиняващи алергия). Горепосланите четири механизма – оксидативен стрес, взаимодействие с ключови функционални групи, ензимна инхибиция и ковалентно модифициране – са замесени при голяма част от известните отрови.

Токсичните вещества имат мишени на различни нива. Най-често те поразяват: (1) Нуклеинови киселини (ДНК): Генотоксичните вещества (мутагени, канцерогени) директно или индиректно увреждат ДНК – било чрез химична модификация (алкилиране, окисление), или чрез инхибиране на ключови ензими в ДНК-метаболизма (топоизомеразы, ДНК-репарация). (2) Протеини (ензими, рецептори, транспортни белтъци): Огромен брой отрови имат за мишена определени белтъци. (3) Клетъчни мембрани: Освен чрез липидна пероксидация, някои вещества директно нарушават мембраните – детергенти, органични разтворители (бензол, толуол) разтварят липидите на мембраните, причинявайки изтичане на клетъчно съдържимо. (4) Органели: Митохондриите са често мишена на токсични вещества. Тетрациклиновите антибиотици във високи дози например, могат да инхибират митохондриалната протеинова синтеза (понеже митохондриите имат бактериоподобни рибозоми), увреждайки енергийния метаболизъм. (5) Тъкани и органи: На по-високо ниво, разпределението и механизмите определят и органната специфичност. Някои отрови са невротоксини, други хепатотоксини, нефротоксини, кардиотоксини, мускулни токсини, имунни токсини и др. Освен прякото увреждане на структури, токсичните вещества могат да причинят вреда и чрез нарушаване на физиологични баланси и комуникации в организма.

В заключение, токсикодинамичните процеси са сложни и многоетапни. Първичните механизми (на молекулно ниво) задействат вторични клетъчни събития (оксидативен стрес, метаболитен дисбаланс, освобождаване на калций, активация на протеази, ДНК повреда), които водят до клетъчна дисфункция или смърт (некроза, апоптоза). Това пък се проявява като тъканно увреждане (напр. некротични огнища в черния дроб, демиелинизация в нервите) и органна недостатъчност или синдром (хепатит, невропатия, сърдечна аритмия, коматозно състояние и т.н.). Поради този многостепенен характер, трябва да се познава както „мишената“ така и „отговора на организма“. Само така могат да се разберат клиничните прояви на отравянията и да се разработят ефективни противодействия – антидоти, симптоматично лечение и превантивни мерки.

Токсичните вещества са химични, биологични или физични агенти, които при достатъчно висока доза и продължителност на експозиция могат да увредят организма или да причинят смърт. Токсичността им се изразява в нарушаване на нормалните функции на клетки, тъкани или органи. Важно е да се отбележи, че токсичният ефект е **дозо-зависим**. Токсичните вещества могат да бъдат класифицирани по произход като: (1) **Химични токсиканти**: индустриални химикали, пестициди, тежки метали, газове и други синтетични вещества; (2) **Биологични токсиканти**: токсини от растения, гъби, микроорганизми и животински отрови и (3) **Физични агенти**: някои физични фактори, които могат да увредят биологични структури – например радиация (йонизираща радиация, UV-лъчи) или прахови частици (напр. азбест), които механично или чрез физико-химично действие причиняват токсичен ефект.

Интоксикацията е патологично състояние, възникнало вследствие проникването и действието на токсично вещество в организма. Интоксикацията може да бъде остра (при еднократна висока доза) или хронична (при продължителна експозиция с по-малки дози токсин). Причините за интоксикациите са разнообразни. Тя може да настъпи при случайно поглъщане или вдишване на отрова, при предозиране с медикаменти, при **умишлен прием** (напр. опит за самоубийство) или **несъзнателно** (например чрез замърсени храни). Токсичните вещества могат да попаднат в тялото по различни пътища: през устата, през дихателните пътища (инхалация), чрез кожата или посредством инжектиране директно в кръвообращението.

Според произхода на отровата интоксикациите биват: *Нелекарствени отравяния* – причинени от химикали, токсини в околната среда, битови отрови, растения, гъби, животински отрови и пр. и *Лекарствени отравяния* – причинени от медикаменти (преднамерено или случайно предозирани). **Според протичането те се класифицират като:** *Остро отравяне* – развива се внезапно, най-често след еднократен прием на голяма доза токсин. Характеризира се с бурна симптоматика, настъпваща минути или часове след експозицията и *Хронично отравяне* – настъпва при продължително повтарящо се излагане на токсичното вещество в по-ниски дози. Симптомите се развиват бавно, понякога след месеци или години кумулация на отровата в организма. Хроничната интоксикация често води до трайни органни увреждания – например хронично оловно отравяне причинява анемия, неврологични нарушения и нефропатия.

Нелекарствените отравяния са няколко подгрупи: (1) **Химични нелекарствени отравяния**, към които отнасяме **индустриални химикали** (бензен, толуен, ксилол, формалдехид, различни киселини и основи); **пестициди** – химически агенти за борба с вредители – основно *органофосфорни* и *карбаматни* инсектициди, както и *хлорорганични инсектициди* и *родентициди*; **тежки метали** – олово (Pb), живак (Hg), кадмий (Cd), арсен (As) и др. Тежките метали се натрупват в тялото (костите, черния дроб, бъбреците, нервната тъкан) и причиняват дълготрайни увреждания. Например живакът засяга основно нервната система – органичните му форми (метилживак) причиняват тежки мозъчни увреждания (синдром на Minamata), а неорганичният живак уврежда бъбреците и храносмилателния тракт. Тежките метали обикновено проявяват **хепатотоксичност и нефротоксичност** – увреждат черния дроб и бъбреците чрез оксидативен стрес и нарушаване на ензимните системи; **Газове** – токсични газообразни вещества като **въглероден оксид (CO)**, **циановодород (HCN)**, **сероводород (H₂S)**, **амоняк (NH₃)**, **хлор** и др. Например, въглеродният оксид е безцветен, без мирис газ, който се свързва с хемоглобина с ~250 пъти по-висок афинитет от кислорода, образувайки карбоксихемоглобин, което пречи на транспорта на O₂ в кръвта. Резултатът е **тъканна хипоксия**. **Уврежданията при химични отравяния се изразяват в невротоксичност, хепатотоксичност и нефротоксичност, тъканна хипоксия, корозивни увреждания:**

Биологичните нелекарствени отравяния включват интоксикации с токсини, произведени от живи организми – растения, гъби, животни или микроорганизми. Често тези отравяния настъпват при консумация на отровни видове или при ухапвания/ужилвания от отровни животни. **Растителните токсини са** мощни алкалоиди или гликозиди. Пример е *атропинът* (в беладона, татул), който причинява класически **антихолинергичен синдром**: суха гореща кожа, разширени зеници, учестен пулс, задръжка на урина, делир. **Животинските отрови** включват отровите на змии, паяци, скорпиони, пчели, оси, жаби и др. *Змийските отрови* са сложна смес от токсични

протеини и пептиди. Някои змии (кобри, мамби) имат *невротоксини*, които блокират нервно-мускулното предаване и предизвикват **невромускулна парализа**. Отравянията с **гъбни токсини** могат да бъдат особено тежки. Най-опасна е *зелената мухоморка* (*Amanita phalloides*), която съдържа *аманитини*. Тези пептидни токсини блокират РНК-полимераза II и спират синтеза на протеини в черния дроб. В резултат от 1 до 3 дни след консумацията настъпва остра **чернодробна некроза** и остра чернодробна недостатъчност. Към битовите отравяния се включват интоксикации с вещества, които присъстват в бита и ежедневието: почистващи препарати (белина – натриев хипохлорит; киселинни препарати за отпушване на канали – сярна или солна киселина; основни препарати – натриева основа и др.), антифриз (етиленгликол), препарати против вредители за домашна употреба и пр. Често срещани са случаите на малки деца, погълнали почистващ препарат. Агресивните химикали причиняват изгаряния на храносмилателния тракт (при поглъщане) или на кожата и очите (при разливане). Прекомерната употреба на етилов алкохол (етанол) или приемът на наркотици също водят до интоксикации. Във всекидневието най-чести са злоупотребите с канабис, амфетамини, кокаин, хероин, екстази и др. Опиоидите (например хероин) причиняват тежка депресия на съзнанието и дишането, миоза (свити зеници) и могат да доведат до кома и смърт от дихателен арест. Стимулантите (кокаин, метамфетамин) предизвикват свръхвъзбуда, тахикардия, хипертония, хипертермия, психотични прояви и риск от инфаркт или инсулт. Отравяния с храни могат да настъпят при *контаминация* на храната с бактерии и техните токсини (например стафилококов ентеротоксин – предизвиква повръщане и диария няколко часа след консумация на заразена храна). Хранителните отравяния обикновено протичат с гадене, повръщане, коремни болки, диария, понякога неврологични симптоми.

Тежките метали са често срещани замърсители и могат да предизвикат както остри, така и хронични отравяния. **Тежките метали** се абсорбират по различни пътища – през храносмилателната система, при вдишване или през кожата. Те имат склонност да се **натрупват (кумулират)** в тъканите – например оловото се депонира в костите и остава там с години, кадмият – в бъбреците, живакът – в мозъка и бъбреците. Това обуславя хроничната им токсичност дори при ниски дози, приемани продължително. Механизмът на действие често включва свързване с сулфхидрилни групи на ензими и протеини, което нарушава тяхната функция, генериране на оксидативен стрес (образуване на свободни радикали) и увреждане на ДНК и клетъчни органели. Много тежки метали са **канцерогенни** (арсен, кадмий, хром). **Диагностиката на тези отравяния** се основава на измерване на съответния метал в биологични проби – кръв, урина, коса.

При лечение на остри отравяния с тежки метали се прилагат **хелаторни агенти** – вещества, които се свързват със свободните метални йони и образуват водоразтворими комплекси, които могат да се излъчат с урината. Така хелаторите „улавят“ метала и предотвратяват взаимодействието му с тъканите. Хелатори са *димеркаптол*, *димеркаптосукциновата киселина (DMSA, сукцимер)*, *димеркаптопропансулфонат (DMPS)*, *калциев динатриев EDTA*, *пенициламин* и др.

Лекарствените средства, когато се приемат в доза над терапевтичната, могат да предизвикат интоксикация. Това може да се случи при случайно предозиране, суициден опит или нарочна злоупотреба. В токсикологията се разглеждат ключови синдроми на лекарствени отравяния (**токсидроми**). **Токсидромът** (toxic + syndrome) е съвкупност от характерни симптоми и признаци, която насочва към определен тип отрова или лекарство. Разпознаването на токсидромите има важно диагностично значение в спешната медицина, тъй като бързо ориентира към категорията на веществото. Основните токсидроми при медикаментозни и химични отравяния са: (1) **Антихолинергичен токсидром**: получава се при свръхдоза вещества, блокиращи мускариновите ацетилхолинови рецептори – например атропин, скополамин, много антихистамини (дифенхидрамин), трициклически антидепресанти, някои антипсихотици. Симптомите са резултат от *потисната парасимпатикова* активност: **разширени зеници (мидриаза)**, суха кожа и лигавици, *зачервена, гореща кожа* задръжка на урина (2) **Симпатикомиметичен токсидром**: причинен от свръхстимулация на симпатиковата нервна система – например при предозиране със *стимуланти* (амфетамини, метамфетамин, кокаин, ефедрин, PSE и др. Характеризира се с **психомоторна възбуда, безсъние, нервност, мидриаза** (разширени зеници), *изпотяване*, бледа влажна кожа, **тахикардия, хипертония**, учестено дишане, повишена температура. (3) **Холинергичен токсидром** – противоположен на антихолинергичния – резултат от **свръхстимулация на холинергичните рецептори**, най-често при отравяне с *органофосфати* или *карбамати* (инхибитори на ацетилхолинестеразата). **Антидот при това отравяне е атропин** (мускаринов антагонист) във високи дози; (4) **Серотонинов токсидром**: резултат от прекомерна серотонинова ак-

тивност в ЦНС, обикновено поради предозиране или комбинация на **серотонинергични лекарства** – например антидепресанти, някои аналгетици (трамадол), *MDMA (екстази)*, литий и др. Характеризира се с триада: **1) Психични промени** – тревожност, възбуда, обърканост, може да има халюцинации; **2) Автономна възбуда** – **хипертермия**, изпотяване, тахикардия, хипертония, разширени зеници, диария; **3) Невромускулна хиперактивност** – *тремор, хиперрефлексия*, в тежки случаи ригидност на мускулите. **(5) Опиоиден токсидром**: предизвикан от свръхдоза *опиоиди* (морфин, хероин, фентанил, кодеин, оксикодон и др.). Кардиналната триада е: **ЦНС депресия (кома), респираторна депресия** (брадипнея, дори апнея) и **миоза (свити зеници)**. Кожата обикновено е хладна. Може да има брадикардия и хипотония. Често се наблюдава **белодробен оток** (некардиогенен) при остро опиоидно предозиране – проявява се с влажни хрипове, розова пенеста секречия от устата/носа. **Антидот при тези отравяния е: налоксон** – опиоиден антагонист, който бързо обръща ефектите, възстановявайки дишането и съзнанието. **(6) Седативно-хипнотичен токсидром**: получава се при свръхдоза на **централни депресанти** – **бензодиазепини, барбитурати**, някои успокоителни (карбамати). Общата картина е **потиснато съзнание** – от сънливост до кома, с *говорни нарушения* (алкохол, бензодиазепини – несвързана реч), *атаксия* (клатене при ходене), *двойно виждане*. Рефлексите са намалени. Витални показатели: обикновено *нормални или леко забавени*. **Антидот за бензодиазепини е флумазенил**, конкурентен антагонист на бензодиазепиновите рецептори – прилага се в болнична обстановка при тежки случаи, но с внимание, тъй като може да провокира гърчове.

Барбитуратите (напр. фенobarбитал, тиопентал, секобарбитал) са седативно-сънотворни медикаменти, които *усилват инхибиторната невротрансмисия* в ЦНС чрез свързване към GABA рецепторния комплекс. Те **удължават продължителността на отваряне на хлорния канал**, медиран от GABA, което хиперполяризира невроните и потиска възбудимостта им. При свръхдоза това води до дифузна депресия на кората, мозъчния ствол и гръбначния мозък. **Клинична картина при остро предозиране**: се извява със *седативно-хипнотичен токсидром*. В началото – **сънливост**, неясен говор, *атаксия*. Скоро настъпва **кома**. Дишането е **потиснато**. Възможна е поява на *белодробен оток*. Барбитуратите причиняват вазодилатация и директна миокардна депресия. При аутопсия се открива белодробен оток, мозъчен оток, задръжка на кръв в органите. Хистологично клетките са исхемично увредени. При хронична употреба се наблюдава увеличен черен дроб. **При лабораторна диагностика** се измерва концентрацията на барбитурати в кръвта или урината. Често диагнозата е клинична. Понякога се отчитат неспецифични отклонения: респираторна ацидоза в комбинация с метаболитна ацидоза. При тежки случаи – повишени чернодробни ензими и повишен карбамид. **При хронично барбитурово отравяне** се развиват толерантност и зависимост. Пациентите са с нестабилно настроение, нарушения в координацията, нистагъм, отслабване на паметта, сексуални разстройства. Може да се наблюдават чернодробни увреждания поради ензимна индукция и токсичност. При внезапно спиране настъпва **синдром на отнемане**: тревожност, безсъние, тремор, гърчове, потенциално фатален.

Няма специфичен антидот за барбитурати, затова терапията е поддържаща и насочена към ускоряване на елиминацията. Основните мерки са: **(1) Осигуряване на проходимост на дишателните пътища и дишане**: при коматозни пациенти – интубация и изкуствена вентилация, тъй като потискането на дишането е водеща причина за смърт. **(2) Поддържане на кръвообращението**: вливания на i.v. течности, вазопресори (норадреналин, допамин) при тежка хипотония. Загриване при хипотермия. **(3) Намаляване на резорбцията**: ако пациентът е погълнал барбитурати през последния час – стомашна промивка и активен въглен. **(4) Ускоряване на елиминацията**: за *фенobarбитал* и други дългодействащи барбитурати може да се ускори екскрецията, защото те се излъчват частично в активна форма с урината. Алкализиране на урината (със i.v. NaHCO_3) и форсиране на диурезата ще йонизира барбитурата и ще увеличи бъбречното му отделяне. При много тежки случаи – **хемодиализа или хемоперфузия** (барбитуратите са малки молекули и преминават през диализни мембрани, особено ако има и бъбречна недостатъчност). **(5) Мониторинг**: непрекъснато наблюдение на жизнени функции, електролити, газов анализ. **(6) Лечение на усложнения**: антибиотик при развитие на пневмония (честа аспирация), манитол при мозъчен оток, корекция на хипогликемия (барбитуратите могат да понижат кръвната захар).

Бензодиазепините (дiazepam, lorazepam, midazolam, alprazolam и мн. др.) са широко употребявани анксиолитици и хипнотици. Те също *модулират GABA рецептора*, но на различно място от барбитуратите. Бензодиазепините **увеличават честотата на отваряне** на хлорните канали, индуцирани от GABA, което повишава инхибиторните постсинаптични токове и потиска

невроналната активност. Фармакологичните им ефекти включват анксиолитичен, седативен, хипнотичен, миорелаксиращ и антиконвулсивен. Те имат по-широк терапевтичен индекс от барбитуратите – предозирането самостоятелно рядко е фатално, освен ако не се комбинира с други депресанти (алкохол, опиати). **Предозирането с бензодеазепини** обикновено причинява *средно тежка депресия на ЦНС*. **Бензодиазепиновият токсидром** се характеризира със седация, кома, хипорефлексия и стабилни витални показатели. Понякога се наблюдава *парадоксална възбуда*. В големи дози може да има и *респираторна депресия*, но не е толкова дълбока колкото при барбитуратите или опиоидите. **Лечението е поддържащо. Специфичен антидот е Флумазенил** – конкурентен антагонист на бензодиазепиновото място на GABA-рецептора.

Невролептиците са антипсихотични медикаменти, използвани за лечение на шизофрения, биполарна мания, психотна депресия и др. Те включват класическите антипсихотици като халоперидол, хлорпромазин, както и атипичните – клозапин, рисперидон, оланзапин и мн. др. Предозирането с тях може да бъде умишлено (суицидни опити при психично болни) или инцидентно. Повечето антипсихотици основно **блокират допаминовите D₂-рецептори** в мезолимбичните пътища, което медиаторно намалява психотичните симптоми. Много невролептици имат голям обем на разпределение и дълъг полуразпад. Те се метаболизират в черния дроб (CYP450) – при предозирание може да се наблюдава удължено действие. **При остро отравяне централната нервна система** е потисната – варира от сънливост до кома в зависимост от дозата. Често се наблюдава **дистонична реакция или паркинсонизъм** – т.е. мускулна ригидност, треперене, трудна артикулация, изкривени очни пози – особено при типичните антипсихотици във високи дози. **Лечението при остро отравяне е:** (1) **Стабилизиране на пациента:** осигуряване на дихателен път, кислород, интравенозни течности за кръвното. (2) **Намаляване на абсорбцията:** ако пациентът е в съзнание и не са минали повече от 1-2 часа може да се даде активен въглен през устата. Промивка на стомаха – според стандартните показания (голямо количество, животозастрашаваща доза, в рамките на час). (3) **Специфични мерки:** няма директен антидот за антипсихотици. Пациентите, отровени с антипсихотици, обикновено се възстановяват за 1 до 3 дни при адекватно лечение.

Антибиотиците като цяло имат сравнително висок терапевтичен индекс, но все пак при свръхдоза или неправилна употреба могат да причинят токсични прояви. Преднамерените суицидни предозирания с антибиотици са редки (за разлика от другите групи лекарства), по-често се срещат случайни предозирания (например дете изпива цяла бутилка сироп с антибиотик) или токсични реакции при нормални дози у предразположени индивиди (бъбречна недостатъчност, лекарствени взаимодействия). Някои антибиотици имат специфични токсични ефекти върху определени органи. Например аминогликозидите (гентамицин, амикацин, тобрамицин и др.): във високи дози и особено при продължителна употреба причиняват нефротоксичност (остро увреждане на бъбречните тубули – повишен креатинин, олигурия) и ототоксичност (увреждане на слуховия и вестибуларния апарат – до необратима глухота или балансни нарушения). Предозирането им усилва тези рискове. Лечението е спиране на антибиотика, хидратация; няма антидот, но хемодиализата може частично да отстрани някои аминогликозиди. Общите признаци на антибиотично предозирание често са гадене, повръщане, диария, коремна болка – тъй като много антибиотици дразнят стомашно-чревния тракт. В повечето случаи тези симптоми не са животозастрашаващи и преминават с прекратяване на препарата и поддържаща терапия (рехидратация, антиеметици). Тежките прояви (гърчове, аритмии, бъбречна/чернодробна недостатъчност) са по-редки и обикновено изискват съответно интензивно лечение – антиконвулсанти, антиаритмици, хемодиализа при нужда. За антибиотиците няма универсален антидот. Подходът е: (1) Симптоматично и поддържащо лечение: наблюдение на жизнените функции, корекция на електролитни нарушения (например тежка диария – хидратация, електролити), противогърчова терапия ако има пристъпи. (2) Елиминиране на неабсорбираното лекарство: ако е орална свръхдоза, може да се даде активен въглен в рамките на час, стига пациентът да е в съзнание. Стомашна промивка рядко е нужна, освен при изключително големи количества и ранно представяне. (3) Ускорена елиминация: някои антибиотици могат да бъдат частично премахнати с хемодиализа (напр. аминогликозиди, β-лактами). Перитонеална диализа също помага, макар и по-слабо. Форсираната диуреза не е особено ефективна, освен ако антибиотикът не се отделя непроменен. (4) Мониторинг: следи се бъбречната функция (креатинин, диуреза), чернодробни показатели, ЕКГ (при макролиди, флуорохинолони – риск от удължено QT). Като цяло „предозирането“ с антибиотици рядко причинява остри драматични синдроми, сравнено с другите класове лекарства. По-често проблем са страничните ефекти (алергии, органна токсичност) при нормални дози, както и раз-

витието на антимикробна резистентност при хронична употреба, което е отделен общественоздравен проблем. В контекста на токсикологията, важно е да се разпознаят случаите, когато антибиотикът може да е причината за остро настъпили симптоми – напр. пациент на висока доза пеницилин с новопоявили се гърчове, или пациент на гентамицин със загуба на слуха.

Разнообразните токсини могат да засегнат всички органи, но някои целеви увреждания се срещат по-често. **При засегнат черен дроб може да се наблюдава:** (1) **Некроза на хепатоцитите** – класически пример е парацетамоловата некроза (центролобуларна), както и гъбния токсин аманитин, тетрахлорметана, които причиняват остро масивно некротично увреждане с рязко покачване на трансаминазите и чернодробна недостатъчност. (2) **Холестаза** – представлява застой на жлъчка и може да се причини от лекарства (анаболни стероиди, хлорпромазин, еритромицин). Води до жълтеница и повишени чернодробни ензими (алкална фосфатаза, ГГТ). (3) **Чернодробна недостатъчност**, която е крайният стадий на тежкото увреждане, характеризиращо се с нарушен синтез на фактори на кръвосъсирването (висок INR), хипогликемия, енцефалопатия. **При увредени бъбреци:** (1) **Остра тубулна некроза (АТН)** – причинява се от нефротоксини като тежки метали (живак, кадмий), етиленгликол (кристали оксалат в тубулите), някои антибиотици (аминогликозиди), контрастни вещества. Проявява се с покачване на креатинина и олигурия. (2) **Хронична нефропатия** – възниква при продължителна експозиция с ниски дози нефротоксини. Примери за този вид увреждане са *оловната нефропатия* (интерстициален нефрит, бъбречна недостатъчност и подагра от нарушена пикочна киселина); *аналгетична нефропатия* (дългогодишна комбинирана употреба на фенацетин/аспирин – интерстициален нефрит с папиларна некроза); *кадмиева нефропатия* (тубуларно увреждане, протеинурия); *литиева нефропатия* (намалена концентрационна способност, нефрогенен диабет инсипидус). **Когато е засегната нервната система:** (1) **Кома** – крайна степен на депресия на ЦНС при много отрови: седативи, опиати, въглероден оксид, цианид. (2) **Гърчове** – много интоксикации се характеризират с припадъци, а те се причиняват от локални анестетици (лидокаин във висока доза), органофосфати, отнемане на алкохол, бензодиазепини и др. Гърчовете водят до хипертермия, ацидоза и потенцират уврежданията (рабдомиолиза, мозъчни увреди). (3) **Периферна невропатия** – някои токсини увреждат периферните нерви. Примери за такива токсини са олово, живак, арсен (невропатия с болки и слабост в крайниците), акриламид (сензорна невропатия), талий (болезнена невропатия с косопад). Обикновено тези увреждания са хронични, а терапията е спиране на експозицията, хелатори и прием на витамини (тиамин, пиридоксин). Уврежданията с токсични вещества засягат още **сърдечно-съдовата и дихателна система, причинявайки съответно аритмии, кардиогенен шок, дихателна депресия и/или белодробен отток.**

Специальность

„Микробиология
и вирусология“

КОНСПЕКТ ЗА ДЪРЖАВЕН ИЗПИТ ПО БИОЛОГИЯ

СПЕЦИАЛНОСТ „МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ“

ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА

ОБРАЗОВАТЕЛНО-КВАЛИФИКАЦИОННА СТЕПЕН „БАКАЛАВЪР“

ПРОФЕСИОНАЛНА КВАЛИФИКАЦИЯ

„МИКРОБИОЛОГ“

1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори.
2. Клетъчна сигнализация. Функции на клетъчно-повърхностните рецептори. G протеин-свързани рецептори, протеин-тирозин киназни рецептори и цитокинови рецептори.
3. Цитоскелет и микротръбички. Роля на микротръбичките при вирусно-клетъчни взаимодействия.
4. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Етапи на ембрионалното развитие при животните. Кратка морфофункционална характеристика на типовете тъкани при животните.
5. Мутационна изменчивост. Хромозомни мутации.
6. Репликация. Полуконсервативен модел. Молекулен апарат – репликон, ДНК полимерази. Механизъм и основни етапи – инициация, удължаване (синтез на водещата и изоставащата верига) и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти.
7. Транскрипция – транскрипционна единица, РНК полимерази, основни етапи. Транслация – генетичен код, рибозоми, основни етапи. Особености при прокариоти и еукариоти.
8. Репликация и регулация на генната експресия при вируси с РНК геноми.
9. Ферментации – алкохолна, млечнокисела, мравченокисела (смесена), пропионовокисела, масленокисела и бутанолова, ацетатна. Представители, биохимизъм, приложение.
10. Хемолитотрофен метаболизъм. Основни физиологични групи хемолитотрофи. Фиксация на CO₂ – цикъл на Калвин; редукиращ цикъл на трикарбоновите киселини.
11. Метаболизъм на алифатни въглеводороди. C₁ метаболизъм – метилотрофи. Енергетичен и анаболитен метаболизъм.
12. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимоненатакиселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на гликоген. Регулация на въглехидратния метаболизъм.
13. Катаболизъм на белтъци и α-аминокиселини. Дезаминиране, трансаминиране, декарбоксилиране. Разграждане на въглеродния скелет. Орнитинов цикъл.
14. Вектори за молекулярно клониране. Видове вектори, компоненти на векторните молекули. Клонирание в pUC18/19. Вектори за молекулярно клониране – видове вектори, компоненти на векторните молекули.
15. Защитни механизми при бактерии и археи. Системи за рестрикция и модификация. Система BREX. Argonaute-центрирана система. Системи токсин-антитоксин. ABI системи за изключване на фаги. Система DISARM. Адаптивен имунитет: системи CRISPR-Cas.
16. Механизми за резистентност на растенията към вируси, естествена резистентност и съвременни генно-инженерни подходи за постигане на устойчивост.
17. Водораслови цъфтежи. Токсин-продуциращи водорасли. Цианотоксини – класификация, характеристика и механизъм на действие. Методи за детекция на цианотоксини.
18. Растителна клетка – форма, размери и специфични структури.
19. Отделителни (секреторни) структури при растенията – видове и характеристика.
20. Произход и еволюция на надклас *Tetrapoda* (Четирикрази).

21. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората.
22. Физиология на храносмилането. Храносмилане в устна кухина, стомах, тънко и дебело черво. Роля на нормалната чревна микрофлора и пробиотиците при поддържането на хомеостазата.
23. Структурни и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие – генетика на VDJ пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности, ензими.
24. Екосистема – същност, трофична структура и поток на енергията, екологични пирамиди.
25. Морфологична, физиологична и технологична характеристика на промишлените микроорганизми. Изолране на природни щам-продуценти и подходи за повишаване на продуктивността им. Методи за съхранение на индустриални микробни продуценти на биопродукти.
26. Култивиране на микроорганизмите в промишлени условия – кинетични и технологични особености на периодически култивиране. Фактори, влияещи върху развитието на продуцентите и биосинтеза на целеви продукти.
27. Обща характеристика и класификация на антибиотиците. Механизъм на действие на различните класове антибиотици. Биотехнологии за получаване на антибиотици (β -лактами, тетрациклини, аминогликозиди, макролиди и анзамицини).
28. Инфекция, инфекциозен процес, инфекциозна болест. Свойства на инфекциозните агенти – патогенност, вирулентност, инвазивност, токсигенност. Фактори на патогенност и вирулентност.
29. Микотични инфекции при човека – етиология, патогенеза и диагностика на мукормикози, кандидози и аспергилози. Антимикотични агенти – азоли, алиламини, ехинокандини, полиени.
30. Тип *Apicomplexa* (Спорови) – обща характеристика. Медицинско значение на представителите от класовете *Coccidia* (Кокцидии) и *Hematozoa* (Кръвни спорови): морфология, жизнени цикли и заболявания.
31. Природоогнищни инфекции. Кърлежово-преносими болести.
32. Микробиологична оценка на питейната вода – микрофлора на водата, индикаторни микроорганизми; мембранно-филтрационен метод за определяне на общ брой микроорганизми, *E. coli* и колиформи.
33. Микробиологично изследване на мляко и млечни продукти – микробиологични показатели, патогенни микроорганизми в млякото, определяне на общ броймикроорганизми и когулазо-положителни стафилококи (*S. aureus*) в пастьоризирано мляко.
34. Принципи и обхват на системата HACCP. Етапи на разработване на HACCP – план. Системи за управление на микробиологичната безопасността на храните, базирани на HACCP. Акредитация и сертификация.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова-Николова, С., Начева, Л., Иванова, И., 2015. Хранителна микробиология. Микробиология на пресните храни. УИ „Св. Климент Охридски“, София.
2. Витанова, Л., Гърчев, Р. 2020. Физиология на човека. Изд. Арсо, Пловдив.
3. Влахов, С. Микробиология. 2006, Акад. изд. „Проф. М. Дринов“, София.
4. Георгиева, Е. 2022. Обща хистология, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
5. Гочев, В. 2015. Биотехнология на антибиотици и витамини. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
6. Донев, А. 2008. Зоология на безгръбначните. Издателство ИПК „Екобелан“, Асеновград.
7. Драганов, М., Попов, Н. 2010. Клетъчна биология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
8. Иванова, Е. 2003. Генетика във въпроси и отговори. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
9. Иванова Е., Стайкова Т., Андреев Е. 2011. Генетика с биологични основи на поведението и психогенетика. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
10. Косекова, Г., Митев, В., Алексеев, А., Николов, Т., 2010. Лекции по биохимия, 2ро преработено издание, Централна медицинска библиотека, София.
11. Костадинова, С., 2023. Микробен метаболизъм. 2ро преработено издание, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
12. Костов, Г., Гочев, В., Илиев, И., Горанов, Б., 2023. Биотехнологични процеси и съоръжения, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
13. Минков, И., Баев, В., Даскалова, Е., Денев, И., Яхубян, Г., Гозманова, М., Гечев, Ц., 2013. Молекулярна генетика. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
14. Митев, Д. 2010. Зоология на гръбначните животни. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
15. Митов, И. Г. (ред.). 2023. Медицинска микробиология. Изд. Арсо, София
16. Младенов, Р, Тенева И. 2011. Фикология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
17. Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова, И., Белкинова, Д., Тенева, И., Радукова, Ц., Стоянов, П. 2016. Фармацевтична ботаника – том 1., УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
18. Младенов, Р., Чешмеджиев, И., Димитрова, И., Белкинова, Д., Тенева, И., Радукова, Ц., Стоянов, П. 2017. Фармацевтична ботаника – том 2, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
19. Николова, М. 2011. Анатомия на човека – Пловдив, „Макрос“ ООД, Пловдив.
20. Тенева, И. 2025. Фикология. – Второ преработено и допълнено издание. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
21. Хайдушка, И., Атанасова, М., Кирина, В., Кълвачев, З. 2016. Медицинска микробиология. Изд. Лакс Бук, Пловдив.
22. Яхубян, Г. Основи на молекулярната биология, 2025, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив
23. Alberts B., Bray D., Hopkin K., Johnson A. Essential Cell Biology, 3rd ed., Garland Science. ISBN 0815341296, 2009.
24. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2002. Molecular Biology of the Cell 4th ed., New York: Garland Publishing, USA.
25. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. 2002. Biochemistry. New York: W. H. Freeman and Co, USA.
26. Cooper, G. M. 2018. The Cell – A Molecular Approach. 8th ed. Sinauer Associates, Oxford University Press, UK.
27. Leninger, A., Nelson, DL., Cox, MM., 2008. Leninger Principles of Biochemistry, 5th ed., Plaggrave Macmillan, USA.
28. Ratledge, C., Kristiansen, B., 2012. Basic Biotechnology, 3rd ed., Cambridge University Press, UK.
29. Simpson, C., Yamauchi, Y. Microtubules in Influenza Virus Entry and Egress. Viruses. 2020 Jan 17;12(1):117. doi: 10.3390/v12010117. PMID: 31963544; PMCID: PMC7020094.
30. Vandamme, E., Revuelta, J. L., 2016. Industrial biotechnology of vitamins, biopigments and antioxidants, Wiley, VCH.
31. Verma, M. C., Chandel, A. K. (Eds.). 2020. Biotechnological production of bioactive compounds. Elsevier, Netherlands.
32. Willey, J., Sandman, K. 2022, Prescott's Microbiology, 12th Ed. McGraw Hill, UK
33. Willey, J., Sherwood, L., Woolverton, C. Prescott, 2008. Harley Klein's Microbiology. 7th Ed., McGraw-Hill Higher Education, UK.

Растенията, животните и висшите протисти са **еукариоти**. Бактериите и цианобактериите са **прокариоти**. Основните характеристики на прокариотната клетка са следните: (1) Липсва морфологически обособено ядро, генетичният материал е локализиран в нуклеоид, който не е ограничен от ядрена мембрана; (2) Слаба компартментализация; липсват мембранни органели като митохондрии, хлоропласти, апарат на Голджи, ендоплазматичен ретикулум; (3) Клетъчната мембрана не съдържа стероли, като холестерол; (4) Рибозомите са 70S, с 30S и 50S субединици; (5) Прокариотната клетка е хаплоидна; дели се чрез проста фузия.

Прокариотите се разделят на две големи таксономични групи – Еубактерии и Архебактерии. **Еубактериите** (същински бактерии) съдържат пептидогликан (муреин) в клетъчната си стена. Основен компонент на муреина е мурамовата киселина. Клетъчните стени на някои **архебактерии** съдържат псевдомуреин, в който липсва мурамова киселина. В прокариотната клетка са установени редица структури: клетъчна стена, цитоплазмена мембрана, цитоплазма, рибозоми, нуклеоид, капсула и слизести слоеве, фимбрии, пили, флагелуми, ендоспори.

Клетъчна стена

Всички прокариотни клетки с изключение на родове *Mycoplasma* и *Thermoplasma* (архебактерии без клетъчна стена) притежават стена. Клетъчната стена е един от най-съществените компоненти на прокариотната клетка по няколко причини: (1) стената е здрава, придава форма на клетката и я предпазва от осмотичен лизис; (2) клетъчната стена участва в патогенезата при редица патогенни бактерии; (3) стената защитава клетката от токсични субстанции; (4) стената е място за действие на някои антибиотици.

През 1884 г. Кристиан Грам разработва оцветителен метод, по който бактериите се разделят на две групи. Грам-положителните бактерии (Грам⁺) се оцветяват в синьо-виолетово, а Грам-отрицателните (Грам⁻) в розово-червено. Оцветяването по Грам корелира със съществени структурни особености на бактериите и е важен таксономичен признак. Грам⁺ и Грам⁻ бактерии се различават помежду си, преди всичко по устройството на клетъчните стени.

Основен компонент на клетъчната стена е хетерополимерът **пептидогликан** (муреин). Пептидогликанът се състои от полизахариден скелет и странична верига съдържаща D- и L-аминокиселини. Скелетът на веригите е съставен от редуващи се остатъци на N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамова киселина, свързани с β -1,4-гликозидни връзки. N-ацетилмурамова киселина представлява N-ацетилглюкозаминлактат. С карбоксилната група на лактилния остатък на N-ацетилмурамовата киселина е свързана къса пептидна верига, включваща аминокиселините L-аланин, D-глутаминова киселина, *meso*-диаминопимелинова киселина (*meso*-DAP) и D-аланин. При повечето Грам⁺ бактерии, *meso*-DAP е заместена от L-лизин. Три от аминокиселините (D-глутаминова киселина, *meso*-DAP и D-аланин) не се срещат в природните белтъци.

Страничните вериги на пептидогликана са свързани чрез пептидни връзки, които варират. Диаминокиселините (*meso*-DAP и L-лизин) изпълняват важна роля в междумолекулното свързване, тъй като образуват пептидни връзки и с двете си аминогрупи. При Грам⁻ бактерии карбоксилната група на терминалния D-аланин е свързана директно с аминогрупата на *meso*-DAP. Грам⁺ бактерии осъществяват напречното свързване чрез пептиден мост, съставен от 1 до 5 аминокиселинни остатъка (най-често пентаглицинов мост). В резултат на напречното свързване, пептидогликанът добива структурата на мрежа, която здрава и поддържа формата на клетката. Мурамовата киселина, D-аминокиселините и *meso*-DAP не се синтезират от бозайниците.

Клетъчна стена при Грам-положителни бактерии. Грам⁺ бактерии са обвити от плътна, хомогенна клетъчна стена съставена предимно от многослоен пептидогликан с дебелина 20-80 nm. Стената съдържа също голямо количество **тейхоеви киселини** – полимери на глицерол или рибитол, свързани с фосфатни групи. Към глицероловите или рибитоловите групи се присъединяват аминокиселини (най-често аланин) или захари (глюкоза). Тейхоевите киселини се свързват с пептидогликана или с липидите на цитоплазмената мембрана; този случай се наричат липотейхо-

еви киселини. Тейхоевите киселини са отрицателно заредени и концентрират метални йони около молекулите си; достигат до повърхността на пептидогликана и придават на клетъчната стена отрицателен заряд. Тези молекули са от значение и за поддържане структурата на клетъчната стена.

Клетъчна стена при Грам-отрицателни бактерии. Грам-отрицателната клетъчна стена има комплексна структура. Тя включва тънък (1 – 3 nm) пептидогликан, съставен от 1 или 2 слоя, обкръжен от **външна мембрана**. Пространството между цитоплазмената и външната мембрана се нарича периплазмено пространство (периплазма). Пептидогликанът при Грам⁻ бактерии се намира в периплазменото пространство. Размерите на периплазмата варират при различните Грам⁻ бактерии, най-често от 30 до 70 nm. Периплазмата съдържа редица протеини – предимно хидролитични ензими (**екзоензими**) и транспортни белтъци. Само при някои Грам⁺ бактерии се установява подобна тясна цепнатина между цитоплазмената мембрана и пептидогликана, поради което за периплазма се говори предимно при Грам⁻ бактерии.

Външната мембрана на стената е съставена от белтъци, липиди и липополизахариди. Липополизахаридите са най-съществените компоненти на външната мембрана и са съставени от три части: липид А, сърцевинен полизахарид и О-странична верига. Липополизахаридът (LPS) е проучен детайлно при род *Salmonella*. Липид А се състои от два фосфорилирани остатъка на глюкозамин, естерифизирани с дълговерижни мастни киселини. Сърцевинният полизахарид е прикрепен към липид А. При *Salmonella* е изграден от 10 захарни остатъци, повечето със специфична структура. Сърцевинният полизахарид съдържа заредени захари и фосфатни групи и допринася за отрицателния заряд на бактериалната повърхност. О-страничната верига или **О антигенът** е къса, повтаряща се последователност от захарни остатъци, някои от които са специфични.

Липополизахаридът предпазва патогенните Грам⁻ бактерии от имунната защита на гостоприемника. О-страничната верига се нарича **О антиген**, защото предизвиква имунен отговор. Много Грам⁻ бактерии са в състояние бързо да променят състава на странични вериги, като по този начин преодоляват защитните механизми на гостоприемника. Липид А често е токсичен; в резултат на това LPS може действа като **ендотоксин**. Външната мембрана има по-голяма пропускливост от цитоплазмената, поради наличието на поринови канали, съставени от три молекули, наречени порини. През каналите преминават молекули с размери 600-700 Da.

Цитоплазмена мембрана

Цитоплазмената мембрана е най-динамичната структура в прокариотната клетка. Тя е определяща за контакта на клетката с обкръжаващата я среда. Мембраната е **селективна полупропусклива бариера**, която регулира както постъпването на вещества в клетката, така и извеждането им от клетката в средата. Бактериалната мембрана позволява свободно движение на вода и незаредени молекули с маса около 100 Da. По-големи молекули и заредени субстанции се придвижват само с участие на специални мембранни транспортни процеси и **транспортни системи**. Прокариотите са лишени от вътреклетъчни органели, поради което в мембраната са локализиран редица важни метаболитни процеси: **аеробно дишане, фотосинтеза и синтез на АТР**. Освен транспортни протеини, медиращи постъпването на вещества в клетката прокариотната мембрана съдържа **рецепторни молекули – сензорни протеини**, които определят концентрацията на молекулите в средата и изпращат сигнали в цитоплазмата. Чрез тях, клетката може да установи и отговори на химични сигнали от обкръжаващата я среда. Мембраната съдържа **ензими**, участващи в синтеза клетъчната стена, формирането на септа в делящи се клетки, мембрания синтез, репликацията на ДНК, фиксацията на CO₂ и окислението на амоняк.

Бактериалните мембрани са съставени от около 40% фосфолипиди и 60% белтъци. Фосфолипидите са амфипатични молекули с полярни, хидрофилни глицеролови „глави“, свързани чрез естерни връзки с две неполярни, хидрофобни мастнокиселинни „опашки“. Тези свойства на липидите им позволяват да формират бислой в мембраната, в който са диспергирани различни структурни и ензимни протеини, които изпълняват повечето мембранни функции. Бактериалните мембрани се различават от клетъчните мембрани на еукариотите по това, че съдържат **наситени** или **мононенаситени** мастни киселини и нормално **не съдържат стероли**, като холестерол. Редица бактериални мембрани, обаче съдържат пентациклични стерол-подобни молекули наречени **хопаноиди**, които стабилизират мембраната.

Мембраните при архебактериите са различни, което е свързано с адаптирането им към екстремални местообитания. Мембраните формират бислой, но липидите са наситени, разклонени, повтарящи се изопреноидни субединици, свързани с глицерола чрез етерни връзки.

Независимо, че прокариотите нямат мембранни органели, като митохондрии и хлоропласти, някои бактерии притежават **вътреклетъчни мембранни структури**. Често цитоплазматичната мембрана образува **вгъвания**, които заемат голяма част от вътреклетъчното пространство при фототрофните и нитрифициращите бактерии. При нитрифициращите бактерии (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*) вътрешните мембранни структури осигуряват по-голяма повърхност във връзка с интензивното дишане. Мембранните системи при фототрофните бактерии съдържат пигменти, поглъщащи светлина (бактериохлорофил и каротеноиди), а също компоненти на фотосинтетичната електрон-транспортна верига и фосфорилиращата система.

Друга мембранна структура при бактериите е **мезозомата**. Мезозомите са инвагинации на цитоплазматичната мембрана под формата на везикули, тубули или ламели. Въпреки, че мезозомите се свързват с различни функции (напр. координация на репликацията на ДНК, формиране на септа при деленето на клетката) много бактериолози смятат, че те са артефакти, получени по време на химическата фиксация на бактериите за електронна микроскопия.

Цитоплазма и включения

Цитоплазмата е съдържанието на клетката, ограничено от цитоплазматичната мембрана. Цитоплазматичната фракция, която има хомогенна консистенция и съдържа растворими РНК, ензими, продукти и субстрати на метаболитни реакции се нарича **цитозол**. Друга част от цитоплазмата е представена от структурни елементи: рибозоми, нуклеоид и включения. Включенията в цитоплазмата са органични и неорганични, и най-често са резервни вещества. Някои от включенията нямат собствена мембрана и лежат в цитоплазматичния матрикс, напр. гликоген, цианофицин. Други включения имат обвивка, която е еднослойна и може да се състои само от протеини или да бъде мембранна структура, съставена от протеини и фосфолипиди. Включения с мембрана са поли- β -хидроксibuтират, карбоксизоми, газови вакуоли.

Органичните включения обикновено са резервен източник на въглерод и енергия. **Гликогенът** е разклонен полимер на глюкозата. Глюкозните остатъци са свързани в дълги вериги с α -1,4-връзки; в местата на разклоненията, връзките са α -1,6. Гликогенът е диспергиран равномерно цитоплазматичния матрикс под формата на малки гранули и може да се наблюдава само с електронен микроскоп. Гликогенът, наричан още животинска скорбяла, се синтезира от *Escherichia coli*, *Salmonella* и други ентеробактерии, някои видове *Bacillus*, дрожди.

Поли- β -хидроксibuтиратът е полиестер, разтворим в хлороформ, съставен от приблизително 60 остатъка на β -хидроксимаслена киселина, свързани с естерни връзки. Полихидроксibuтиратът се натрупва във включения, които могат да достигнат до 80% от сухата маса на клетката. Наричат се суданofilни, т.к. се оцветяват с багрилото суданово черно и могат да се наблюдават със светлинен микроскоп. Поли- β -хидроксимаслена киселина синтезират видове на род *Pseudomonas*, *Bacillus megaterium*, анаеробни фототрофни бактерии.

Гликогенът и поли- β -хидроксibuтиратът са двете основни съединения, които бактериите използват като резервни източници на въглерод и енергия. Обикновено, бактериите синтезират само гликоген или поли- β -хидроксibuтират, но някои пурпурни серни бактерии образуват и двете.

Скорбяла като резервен източник на въглерод и енергия, образуват бактериите от род *Neisseria* и *Acetobacter pasteurianum*. **Гранулеза** (скорбялоподобно вещество) се съдържа в голямо количество в клетките на видове от род *Clostridium*. **Масни вещества** под формата на липидни капки образуват и използват като резервен източник на въглерод и енергия, много бактерии, дрожди и други гъби. Микобактериите могат да съдържат до 40% восъци.

Цианофицинови гранули образуват цианобактерите. Състоят се от полипептид, изграден от аминокиселините аргинин и аспартат в еквивалентни количества. Цианофициновите гранули служат като резервен азотен източник, който цианобактериите използват при недостиг в средата.

Газови вакуоли (аерозоми) са установени при бактерии, обитаващи водна среда (цианобактерии, фототрофни бактерии, *Thiothrix*, *Halobacterium*). Представяват агрегати от газови везикули. Стената на везикулите се състои от протеинови субединици, свързани така, че образуват твърд затворен цилиндър, който е кух и непроницаем за вода, но свободно пропуска атмосферните газове. Чрез газовите вакуоли бактериите „плуват“ близо или на повърхността на водоема и могат да променят разположението си в зависимост от наличието на субстрати, кислород, светлина.

Карбоксизоми съдържат клетките на някои автотрофни бактерии (нитрифициращи, фототрофни бактерии, цианобактерии). Имат форма на многостенник с диаметър 90 – 100 nm, обвит с еднослойна белтъчна обвивка. Карбоксизомите съдържат ензима рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза, който е ключов за фиксацията на CO_2 в цикъла на Калвин.

Неорганичните включения са два основни типа: полифосфатни и серни гранули. Много бактерии съхраняват фосфати като **полифосфатни** или **волутинови** гранули. Полифосфатните естери служат като фосфатно депо и източник на енергия. Полифосфатните гранули се наричат още „**метахроматинови**“ т.к. проявяват свойството метахромазия – оцветяване в цвят, различен от този обогатяващия разтвор. Полифосфати образуват някои млечнокисели бактерии (*Lactobacillus bulgaricus*), *Corynebacterium diphtheriae*, дрожди и др.

Серни гранули образуват редица фототрофни бактерии (пурпурни и зелени серни бактерии), които използват H_2S като електронен донор в процеса фотосинтеза. Сярата, получена при окислението на H_2S се натрупва в периплазмата или в специални цитоплазмени гранули. При отсъствие на H_2S , натрупаната в клетката сярa се окислява до сулфат.

Нуклеоид. Генетичният материал на прокариотите е представен от молекула (молекули) ДНК, разположена в компактна структура, локализирана в ограничен участък на цитоплазмата, без собствена ядрена мембрана (за разлика от еукариотите). ДНК молекулата включва няколко хиляди гена, разположени линейно и се нарича **хромозома**. В химично отношение хромозомата се състои от около 60% ДНК, 30% РНК и 10% белтъци. Обикновено прокариотите съдържат една двуверижна пръстеновидна ДНК, но някои бактерии съдържат линейна ДНК хромозома, а други, като *Vibrio cholerae* и *Borrelia burgdorferi* (съответно причинителите на холера и лаймска болест), имат повече от една хромозома. Нуклеоидът е компактно образование. Стабилизираща роля в организацията му изпълняват специфични белтъци, които участват в „упаковането“ на ДНК.

Рибозомите са структурите, в които се извършва белтъчният синтез. Прокариотните рибозоми имат коефициент на седиментация 70S. Те са съставени от две субединици – 30S и 50S. По размери и някои други особености бактериалните рибозоми са сходни с рибозомите на митохондриите и хлоропластите. Малката субединица (30S) съдържа 16S рРНК и в повечето случаи по една молекула от 21 вида белтъци. Голямата субединица (50S) се състои от два типа рРНК (23S и 5S) и около 35 молекули различни белтъци, представени в едно копие. Бактериалната клетка съдържа от 5000 до 50 000 рибозоми.

Капсула и слизест слой

Върху клетъчната стена на много бактерии се отлагат слоеве с високо водно съдържание. **Капсулата** е добре организиран слой, който е тясно свързан с клетката и не се отмива лесно. **Слизестият слой** е дифузна зона от неорганизиран материал, който лесно се отделя.

Капсулата и слизестите слоеве обикновено се състоят от **полизахариди** и/или **пептиди**. **Капсулните полизахариди** освен глюкоза съдържат аминокиселини, рамноза, уронови киселини, 2-кето-3-дезоксигалактонова киселина и органични киселини, като пирогроздена и оцетна. Полизахаридни капсули са установени при *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*. При *Bacillus anthracis* капсулата е белтъчна и се състои от поли-D-глутаминова киселина.

Редица компоненти на капсулата се отделят в средата под формата на **слуз**. Обилно образуване на слуз се наблюдава при култивиране на среди, съдържащи захароза. Хетероферментативната млечнокисела бактерия *Leuconostoc mesenteroides* бързо превръща разтвор, съдържащ тръстиков захар в декстран (слуз). Това превръщане протича извън клетката и се катализира от извънклетъчна хексозилтрансфераза–декстранзахараза. Декстранът се състои от остатъци на α -D-глюкоза, свързани с 1,6 връзки, т.е. 1,6- α -глюкан.

Капсулата не е необходима за бактериалния растеж и репродукция, но дава известно преимущество. (1) Придава на някои патогенни микроорганизми резистентност към фагоцитоза. Например, *Bacillus anthracis* „избягва“ поглъщане от фагоцитите, т. к. лизозомните ензими на фагоцитите не могат да инициират хидролиза на поли-D-глутаминовата капсула. (2) Капсулата е с високо водно съдържание и предпазва клетката от изсушаване. (3) Капсулата изключва бактериофаги и повечето хидрофобни токсични материали, като детергенти. (4) Капсулата и слизестите слоеве често медиат прикрепяне на клетките към твърди повърхности във водна среда или повърхността на тъканите на гостоприемника. (5) Капсулни материали (например декстран) се синтезират при усвояване на захари и представляват резерви на въглехидрати за метаболизма.

Фимбрии, пили, флагелуми

Фимбриите и **пилите** са фини, къси израстъци на повърхността на прокариотната клетка, които нямат отношение към подвижността и са по-тънки от флагелумите. Клетката може да бъде покрита с до 1000 **фимбрии**, видими само с електронен микроскоп. Фимбриите са характерни

предимно за Грам-отрицателни бактерии; най-често участват в прикрепянето на бактериите към повърхности, субстрати или други клетки. **Пилите** (F или sex пили) са подобни израстъци; от 1 до 10 на клетка. Пилите са детерминирани от половия фактор (F плазмида) или други конюгативни плаزمиди и са необходими за бактериалната конюгация. Някои бактериални вируси се прикрепят специфично към рецептори върху пили и стартират репродуктивния си цикъл

Повечето бактерии се придвижват с **флагелуми**. Броят и разположението на флагелумите имат таксономично значение. Разграничават се 4 типа клетки: монотрихи, лофотрихи, амфитрихи, перитрихи.

Бактериалният флагелум е съставен от три части – филамент (нишка), базално тяло и кука, свързваща нишката с базалното тяло. **Нишката** е кух, ригиден цилиндър, изграден от субединици на белтъка флагелин. **Куката** е съставена от различни протеинови субединици. **Базалното тяло** е най-сложната част от флагелума. При *E. coli* и повечето Грам⁻ бактерии, е съставено от четири пръстена, свързани с централна ос. Най-външните L- и P пръстени се свързват съответно с липополизахаридния и пептидогликановия слой. Вътрешният M пръстен контактува с плазмената мембрана, а S пръстенът е разположен над него. Грам⁺ бактерии имат само два пръстена – вътрешен, свързан с цитоплазмената мембрана и външен, свързан с пептидогликана. Флагелумите се движат в резултат на взаимодействието между S- и M пръстените. Оста на базалното тяло се разполага между куката и края на M пръстена, който свободно се върти в цитоплазмената мембрана, а S пръстенът е прикрепен и е неподвижен. Потокът от протони между двата пръстена или между базалното тяло и обкръжаващите го мембранни белтъци генерира протондвижеща сила, която задвижва флагелумите. P- и L пръстените при Грам⁻ действат като опора на въртящата се ос.

Бактериални ендоспори

Редица Грам⁺ бактерии могат да формират специални резистентни, инертни структури, наречени **ендоспори**. Ендоспорите се развиват във вегетативните клетки на бактерии от родове *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*. Спорите са високо-резистентни към стресови фактори на средата, като топлина, ултравиолетови лъчи, химични дезинфектанти и изсушаване и са начин за преживяване на условия на средата с критична влажност и хранителни вещества. Ендоспорите често преживяват обработка при 100°C в продължение на 30 – 60 min.

Спорите могат да се разполагат централно, субтерминално или терминално в майчината клетка (спорангиум). Понякога спорите са с по-голям диаметър и причиняват издуване на спорангиума. Структурата на спората е комплексна. Спорите често са обкръжени от тънка обвивка, наречена **екзоспориум**. **Обвивката на спората** (екзина), която лежи под екзоспориума е съставена от няколко протеинови слоя; тя е непроницава и отговорна за резистентността към химични вещества. **Кортексът**, който може да заеме повече от половината от обема на спората, се разполага под обвивката. Той се състои от пептидогликан, който е с по-малко напречни връзки отколкото във вегетативната клетка. **Стената на спората** (интина) е навътре от кортексът и обкръжава протопласта или сърцевината. Сърцевината на спората съдържа нормални клетъчни структури, като рибозоми и нуклеоид. Повече от 15% от сухото вещество на спората представлява дипиколинова киселина, свързана с калциеви йони. Калциевият дипиколинат стабилизира споровите нуклеинови киселини. Дехидратацията на протопласта също е от значение за терморезистентността. В процеса на спорообразуване водата се отстранява осмотично от протопласта, което го защитава от температурно и радиационно повреждане.

Спорогенезата (спорулацията) нормално започва при спиране на растежа, вследствие изчерпване на хранителните вещества. Тя е комплексен процес и може да бъде разделен на 7 етапа. (I) – формира се аксиален филамент от ядрен материал; (II) – цитоплазмената мембрана се вгъва навътре, затваря част от ДНК и формира септа; (III) – мембраната продължава да расте и поглъща незрялата спора, като по този начин я обвива във втора мембрана; (IV) – образува се кортексът между двете мембрани; натрупват се калциеви йони и дипиколинова киселина; (V) – около кортексът се формира протеиновата обвивка; (VI) – формира се зрялата спора: завършва синтеза на споровата обвивка; увеличава се терморезистентността и пречупването; (VII) – литични ензими разрушават спорангиума и спорите се освобождават. Процесът на спорулация при *Bacillus megaterium* продължава около 10 часа.

Трансформацията на спящите спори във вегетативни клетки също е комплексен процес и протича в 3 етапа: (1) активация, (2) герминация (покълване), (3) прорастване.

Всички клетки получават сигнали и отговарят на сигнали от околната среда. Дори най-просто устроените бактерии разпознават и плуват към високи концентрации на хранителни вещества като глюкоза или аминокиселини. Но докато клетките на прокариотите и едноклетъчните еукариоти са до голяма степен автономни, в многоклетъчните организми, комуникацията между клетките достига своето най-високо ниво на сложност. Поведението на всяка отделна клетка трябва да бъде внимателно регулирано, за да отговаря на нуждите на организма като цяло. Това се постига чрез различни сигнални молекули, които се секретират или експресират на повърхността на една клетка и най-често се свързват с рецептори, експресирани от други клетки. По този начин се интегрират и координират функциите на много индивидуални клетки, които съставляват организми толкова сложни като човешкият.

Клетъчната комуникация включва отделяне на сигнална молекула-лиганд от сигнализиращата клетка и придвижването ѝ до прицелната клетка. В единия случай се стимулират клетки, намиращи се в непосредствена близост до източника – паракринно сигнализиране, а в другия, сигналната молекула се придвижва из цялото тяло, като потенциално стимулира клетки, които са далеч от източника – ендокринно сигнализиране. В случая на автокринното сигнализиране, клетката, която произвежда сигнала, експресира рецептори на повърхността си, които могат да взаимодействат с този лиганд, в резултат на което те стимулират или инхибират самите себе си.

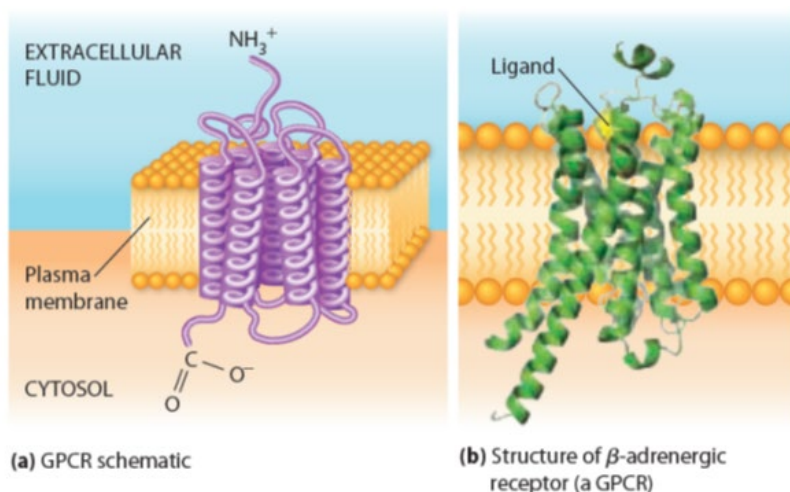
Извънклетъчната среда съдържа стотици различни информационни молекули, вариращи от малки съединения (напр. стероиди и невротрансмитери), малки разтворими протеини (напр. глюкагон и инсулин), до големи гликопротеини, свързани с повърхността на други клетки. Клетките могат да отговорят на конкретен извънклетъчен сигнал само ако експресират рецептори, които специфично разпознават и се свързват с тази молекула. В повечето случаи, сигналната молекула се свързва с рецептор на външната повърхност на прицелната клетка. Това взаимодействие предизвиква конформационна промяна у рецептора, която води до предаване на сигнала през мембраната към цитоплазмата.

Една клетка може да има един или повече вида рецептори, или различни клетки могат да имат различни групи рецептори за един и същ лиганд. Един рецептор може да се открие при различни клетъчни типове и свързването на един и същ лиганд да определя различни реакции за всеки клетъчен тип, т.е. различните клетки реагират по различен начин на един и същ лиганд. Някои невротрансмитерни рецептори са лиганд-зависими йонни канали, които директно контролират йонния поток през плазмената мембрана. Други рецептори на клетъчната повърхност, включително рецепторите за пептидни хормони и растежни фактори, действат чрез регулиране на активността на вътреклетъчните ензими. Тези ензими след това предават сигнали от рецептора към поредица от допълнителни вътреклетъчни цели – процес, наречен сигнална трансдукция.

Сигналите, предавани по такива сигнални пътища, в крайна сметка достигат целевите протеини, участващи в основни клетъчни процеси. В зависимост от типа на клетката и вида на лиганда, клетъчният отговор може да включва промяна в генната експресия, промяна в активността на метаболитните ензими, преконфигуриране на цитоскелета, увеличаване или намаляване на клетъчната подвижност, промяна в йонната пропускливост, активиране на ДНК синтеза или дори клетъчна смърт. Практически всяка дейност, в която участва клетката, се регулира от сигнали, произхождащи от клетъчната повърхност, като основните рецептори, еволюирали, за да посредничат при преноса на сигнали са G-протеин-свързани рецептори, протеин-тирозин киназни рецептори и цитокинови рецептори.

G-протеин-свързаните рецептори (GPCR) са наречени така, тъй като свързването на лиганда предизвиква промяна в конформацията на рецептора, която активира определен G-протеин (съкращение от гуанин-нуклеотид-свързващ протеин). Всички G-протеин-свързани рецептори имат сходна структура, въпреки че се различават значително по аминокиселинната си последователност. Рецепторът образува седем трансмембранны α-спирали, свързани чрез редуващи се цитозолни или екстрацелуларни вериги. N-краят на протеина е изложен на екстрацелуларната повърхност, докато C-краят се намира в цитозола (Фигура 1). Извънклетъчната част на всеки GPCR има уникално място за свързване на лиганд, а цитозолните вериги позволяват на рецептора

да взаимодействат само с определени видове G протеини. Примери за GPCR са обонятелните рецептори, β -адренергичните рецептори и хормоналните рецептори, като тези за тиреоидния стимулиращ хормон и фоликулостимулиращия хормон.



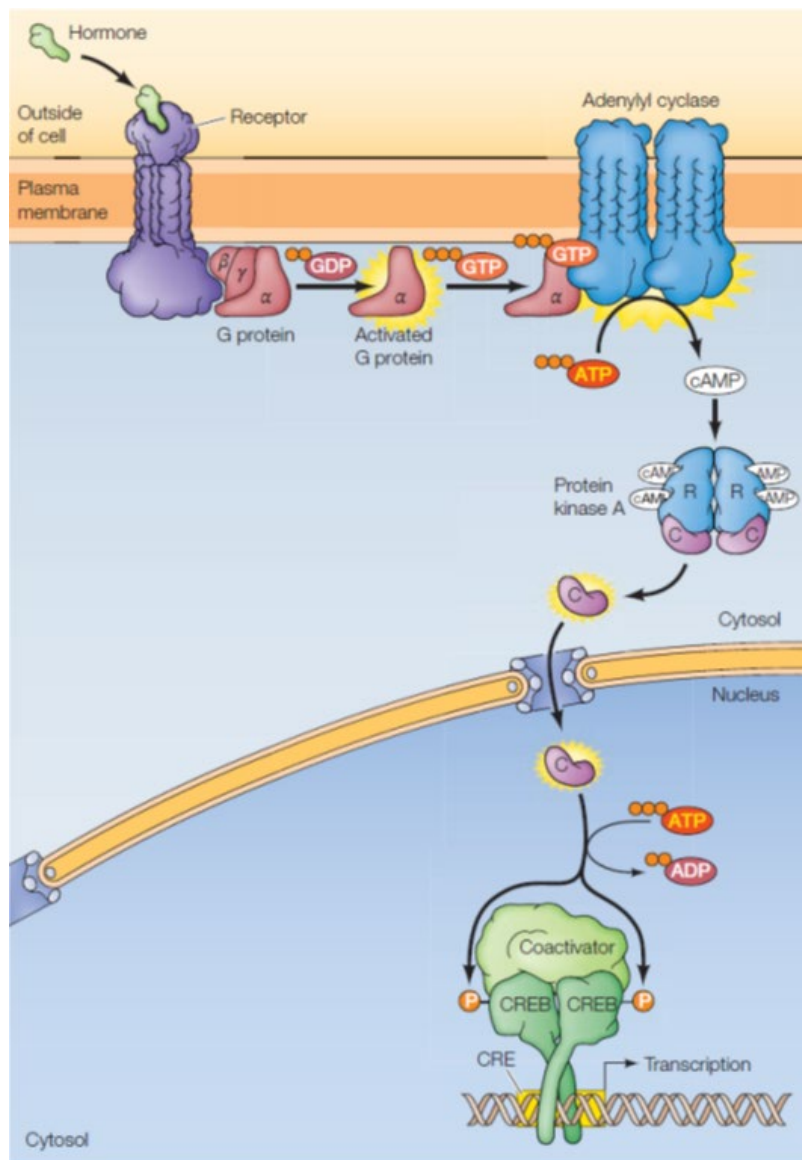
Фигура 1. Структура на G-протеин-свързаните рецептори (GPCR) (a); Молекулен модел на β -адренергичния рецептор (b). (по Cooper, 2019)

G-протеините са хетеротримерни протеини, защото са съставени от три различни полипептидни вериги α , β и γ . G-протеините се задържат към мембраната посредством липидни вериги, ковалентно свързани с α - и γ -субединиците. Взаимодействието между лиганд и G-протеин свързания рецептор, води до промяна в конформацията на α -субединицата на G-протеина, което предизвиква обмяна на гуанозин дифосфат (GDP) с гуанозин трифосфат (GTP). Това намалява афинитета на G- α -субединицата към G- $\beta\gamma$ -субединиците. Всяка отделена от тримера G- α -субединица е в състояние да активира ефекторен протеин, например аденилатциклаза, при което в случая се образува вторичен посредник – цикличен аденозин монофосфат (сAMP) (Фигура 2). Други ефектори могат да са фосфолипаза C- β или цикличен гуанозин монофосфат (сGMP) фосфодиестераза. Вторичните посредници от своя страна активират един или повече клетъчни сигнални протеини. След взаимодействието си с ефектора, G- α хидролизира GTP до GDP, което води до отделянето му от ефектора и отново свързване с G- $\beta\gamma$, при което се формира неактивен G-протеин. Полученият сAMP активира ензима цикличен AMP-зависима протеинкиназа, позната също като протеинкиназа A (РКА) или А-киназа. РКА е тетрамер, съставен от две регулаторни и две каталитични субединици. Известно е, че тя фосфорилира голям брой вътреклетъчни протеини, в това число други кинази, рецептори или транскрипционни фактори, които действат като ефектори. Когато сAMP се свърже към регулаторните субединици на РКА, това води до дисоциацията на каталитичните субединици, които могат да навлязат в ядрото и да фосфорилират ДНК-свързващи протеини (Фигура 2).

След като рецепторът е активиран, настъпва мултиплициран ефект по сигналния път. За да се избегне свръхстимулация, рецепторите трябва да бъдат блокирани. Необходимо е да се възстанови чувствителността на клетката за други сигнали. Това означава, че рецепторът, G-протеина и ефектора трябва да се върнат в първоначалното си неактивно състояние. Десенситилизацията е процес, който блокира активния рецептор за включване към допълнителни G-протеини. В този процес вземат участие специфични кинази, които фосфорилират цитоплазмения домейн на рецептора. Тези фосфорилирани участъци стават конформационно подходящи за свързване на арестини – протеини, които свързани към рецептора предотвратяват по-нататъшно активиране на други G-протеини. По този начин клетката престава да отговаря на сигнала, въпреки че той все още продължава да действа на външната ѝ повърхност.

За разлика от G-протеин-свързаните рецептори, другите рецептори на клетъчната повърхност са пряко свързани с вътреклетъчни ензими. Най-голямото семейство от такива ензимно-свързани рецептори са тирозинкиназите, които фосфорилират своите субстратни протеини върху тирозинови остатъци – рецепторни тирозинкинази. Много други рецептори сами по себе си не са тирозинкинази, но действат чрез стимулиране на вътреклетъчните тирозинкинази, с които са нековалентно свързани – нерепторни тирозинкинази. Тирозинкиназите са особено добре проу-

чени като ключови елементи на сигналните пътища, участващи в контрола на растежа и диференциацията на животинските клетки.



Фигура 2. Експресия на гени, индуцирани от цикличен АМР. Стимулирането на рецепторите води до активиране на аденилат-циклазата, посредством G-протеина, синтеза на сАМР и активиране на протеинкиназа А. Свободната каталитична субединица на протеинкиназа А се премества в ядрото и фосфорилира транскрипционния фактор CREB (CRE-свързващ протеин), което води до експресия на гени, индуцирани от сАМР. (по Cooper, 2019)

Рецепторните тирозинкинази включват рецептори за полипептидни растежни фактори. Човешкият геном кодира 58 рецепторни тирозинкинази, включително рецепторите за EGF, NGF, PDGF, инсулин и много други растежни фактори. Всички тези рецептори имат обща структурна организация: N-терминален екстрацелуларен домейн за свързване на лиганди, еди-

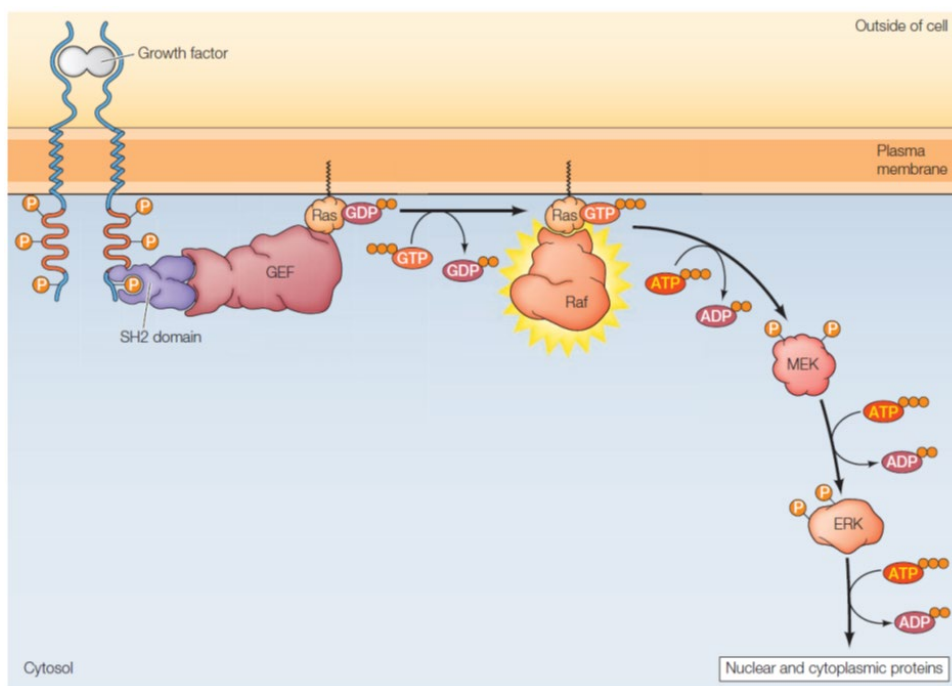
нична трансмембранна α -спирала и цитозолен C-терминален домейн с тирозинкиназна активност. Свързването на лиганди (например растежни фактори) с екстрацелуларните домейни на тези рецептори активира техните цитозолни киназни домейни, което води до фосфорилиране както на самите рецептори, така и на вътреклетъчните целеви протеини, които разпространяват сигнала, иницииран от свързването на растежния фактор.

Първата стъпка в сигнализирането от повечето рецепторни тирозинкинази е индуцирана от лигандна рецепторна димеризация. Димеризацията води до автофосфорилиране на рецептора, тъй като димеризираните полипептидни вериги се фосфорилират взаимно. Такова автофосфорилиране играе две ключови роли в сигнализирането от тези рецептори. Първо, фосфорилирането на тирозинови остатъци в каталитичния домейн увеличава активността на протеинкиназата. Второ, фосфорилирането на тирозинови остатъци извън каталитичния домейн създава специфични места за свързване за допълнителни протеини, които предават вътреклетъчни сигнали надолу по веригата от активираните рецептори.

Връзката на сигнални молекули надолу по веригата с рецепторните тирозинкинази се осъществява чрез протеинови домейни, които се свързват със специфични фосфотирозин-съдържащи пептиди. Първите от тези домейни, които са характеризирани са SH2 домейни (от Src homology 2), наричани така, защото първоначално са били разпознати в тирозинкинази, свързани със Src, онко-

генния протеин на вируса на саркома на Rous. Получената асоциация на SH2-съдържащи протеини с активирани рецепторни тирозинкинази може да има няколко ефекта: тя локализира тези протеини в плазмената мембрана, води до тяхната асоциация с други протеини, насърчава тяхното фосфорилиране и стимулира техните ензимни активности. Асоциацията на тези протеини с автофосфорилирани рецептори представлява първата стъпка в интрацелуларното предаване на сигнали, инициирано от свързването на растежни фактори с клетъчната повърхност.

Сигнализирането чрез митоген активирана протеинкиназа (MAP) киназна каскада е един от основните пътища за пренос на сигнали, активирани надолу по веригата от рецепторни тирозинкинази (Фигура 3). По този път на сигнализация, пренасянето на сигнала става през серия от последователно активиращи се протеинкинази. Името на киназата се получава от първите букви на цялото име на ензима, митоген активирана протеинкиназа – MAP киназа. Добре проучен е Ras-MAPK път на сигнализиране.

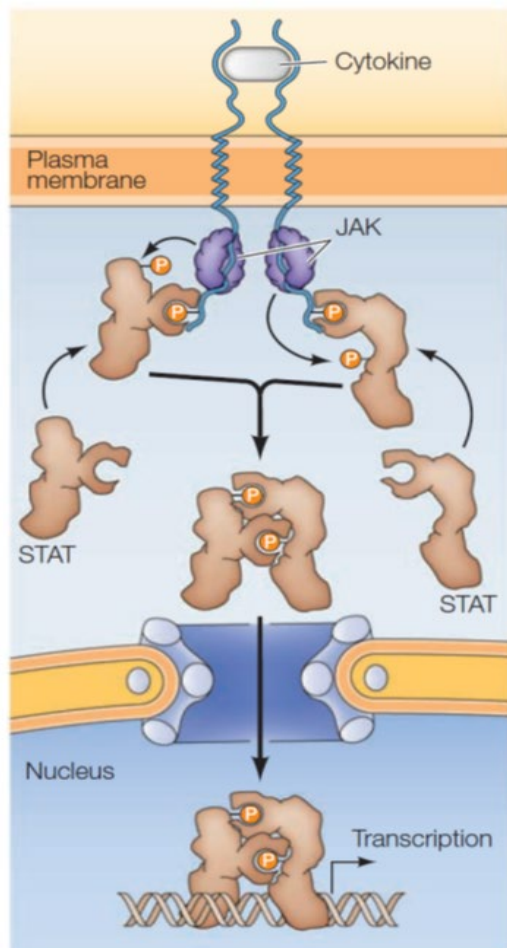


Фигура 3. Активиране на Ras, Raf и ERK надолу по веригата от рецепторни тирозинкинази. (по Cooper, 2019)

Процесът започва, когато растежен фактор (напр. EGF) се свърже с тирозинкиназния рецептор, който се автофосфорилира и това създава условия за асоцииране с него на адапторни протеини, което заменя GDP с GTP в Ras – малка протеинова молекула с GTP активност, която се намира на вътрешната повърхност на плазмалемата и е прикрепена към нея посредством липид, интегриран в цитоплазмения монослой на мембраната. Ras привлича Raf – протеин към мембраната, където той се фосфорилира от киназа. Фосфорилираният Raf на свой ред фосфорилира друга киназа, наречена MEK (известна като MAPKK-MAP киназа киназа). Тя пък фосфорилира киназа, наречена ERK (известна като MAPK). MAPKK-и могат да фосфорилират едновременно треонинови и тирозинови остатъци в полипептидната верига на MAPK, с което активират ензима. След като се активира, MAPK се пренася в ядрото, където фосфорилира транскрипционни фактори. Така те увеличават своя афинитет за свързване към регулаторни места на ДНК, с което се повишава нивото на транскрипция на специфични гени.

Много рецептори не притежават собствена ензимна активност, а действат чрез стимулиране на вътреклетъчни тирозинкинази, с които са нековалентно свързани. Тези нерецепторни тирозин кинази включват членове на суперсемейството на цитокиновите рецептори, което обхваща рецепторите за повечето цитокини (например еритропоетин и интерлевкин-2) и за някои полипептидни хормони (например растежен хормон). Подобно на рецепторните тирозинкинази, цитокиновите рецептори съдържат N-терминални екстрацелуларни лиганд-свързващи домейни, единични трансмембранны α-спирали и C-терминални цитозолни домейни. Цитозолните домейни на цитокиновите рецептори обаче не притежават никаква известна каталитична активност. Вместо това цитокиновите рецептори функционират в асоциация с нерецепторни тирозинкинази, които се активират в резултат на свързване на лиганда. Първата стъпка в сигнализирането от

цитоклиновите рецептори е индуцираната от лиганда димеризация на рецептора и кръстосано фосфорилиране на свързаните нерецепторни тирозинкинази. Тези активирани кинази след това фосфорилират рецептора, осигурявайки фосфотирозин-свързващи места за набирането на сигнални молекули надолу по веригата, които съдържат SH2 домейни. Комбинациите от цитоклинови рецептори и свързани нерецепторни тирозинкинази функционират по аналогичен начин на рецепторните тирозинкинази.



Пътят JAK/STAT е класически пример за сигнализация с участието на цитоклинови рецептори (Фигура 4). Киназите, свързани с цитоклиновите рецептори, включват членове на семейството Janus kinase (или JAK), което се състои от четири свързани нерецепторни тирозинкинази. Ключовите мишени на JAK киназите са STAT протеините (сигнални трансдуктори и активатори на транскрипцията), които първоначално са идентифицирани в проучвания на сигнализирането на цитоклиновите рецептори. STAT протеините са неактивни в нестимулирани клетки, където са локализирани в цитоплазмата. Стимулирането на цитоклиновите рецептори води до набиране на STAT протеини, които се свързват чрез своите SH2 домейни с фосфотирозин-съдържащи последователности в цитоплазмените домейни на рецепторите. След свързването им с активираните рецептори, STAT протеините се фосфорилират от киназите от семейството JAK. Фосфорилирането на тирозина стимулира димеризацията на STAT протеините, които след това се преместват в ядрото, където стимулират транскрипцията на техните целеви гени. По този начин STAT транскрипционните фактори служат като директна връзка между цитоклиновите рецептори на клетъчната повърхност и регулацията на генната експресия в ядрото.

Фигура 4. Сигналният път JAK/STAT.
(по Cooper, 2019)

Клетъчният цитоскелет представлява сложна мрежа от протеинови нишки със съществен принос към клетъчното функциониране. В структурно отношение те се разделят на три основни типа: микрофиламенти (актинови нишки), междинни филаменти и микротръбички (микротубули). Всички те функционират координирано, за да регулират множество аспекти на клетъчната биология като поддържане на клетъчната форма, участие в процеси за насочено движение и клетъчно делене, организация на цитоплазмата и вътреклетъчните органели. Освен това, цитоскелетът е отговорен и за регулирането на вътреклетъчния транспорт на широк набор от везикули, протеинови, а също така и патогени.

Микрофиламентите са най-малките по размер нишки на цитоскелета (7 nm). Означават се още като актинови филаменти, тъй като основният повтарящ се мономер е глобуларният протеин актин (G-актин). Мономерният G-актин полимеризира в нишковиден F-актин (фибриларен актин), образувайки двуверижни спирални структури. Тази полимеризация е силно регулиран процес, зависим от концентрацията на актин, наличието на АТФ и действието на множество актин-свързващи протеини. Микрофиламентите притежават полярност – имат „плюс“ и „минус“ край, което е от ключово значение за динамиката им и за взаимодействието с моторни белтъци. Една от централните характеристики на актиновите филаменти е тяхната динамичност. Те могат бързо да се полимеризират и деполимеризират, което позволява на клетката да променя формата си и да реагира на външни сигнали. Този процес лежи в основата на явления като клетъчна миграция, ендоцитоза и образуване на клетъчни израстъци (ламелиподии и филоподии). Вътреклетъчният транспорт по актиновите филаменти се осъществява чрез миозинови моторни белтъци, които използват енергия от хидролизата на АТФ, за да пренасят везикули, органели и макромолекулни комплекси. Този транспорт е особено важен в поляризираните клетки, като неврони и епителни клетки, където пространствената организация е критична за функцията. В близост до плазмалемата актиновите филаменти образуват клетъчен кортекс, който осигурява механичната стабилност на клетката и участва в нейната подвижност.

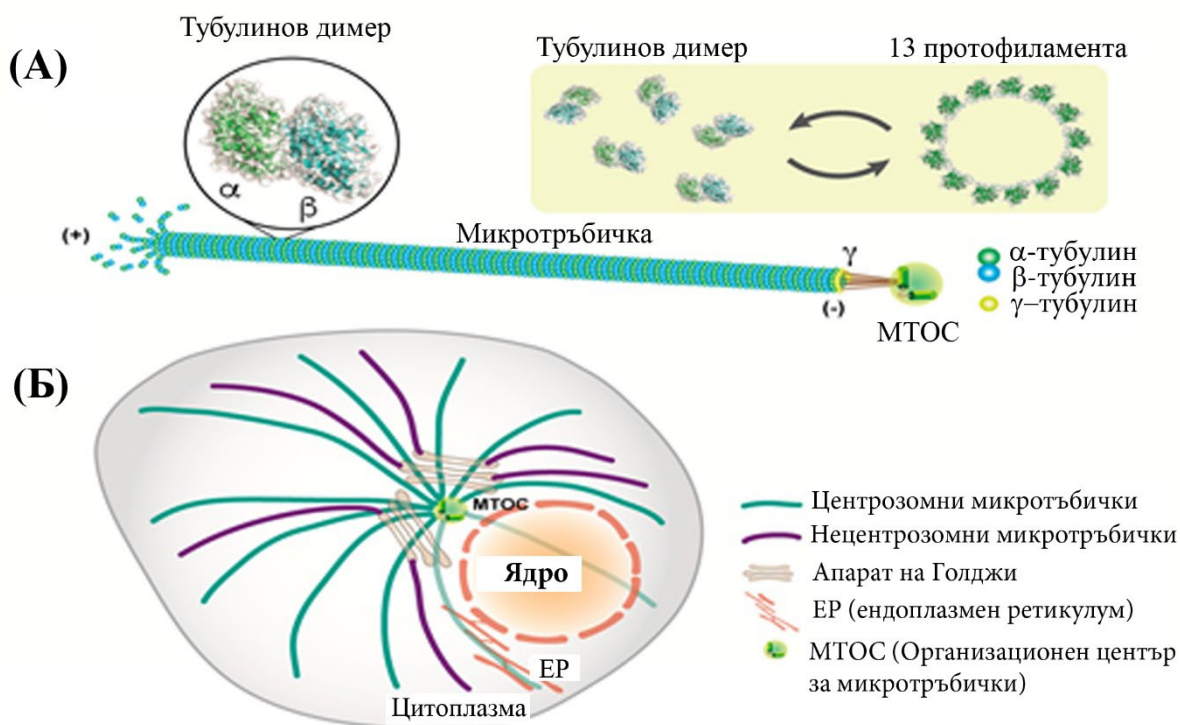
Междинните филаменти имат диаметър приблизително 10 nm, което е междинно между другите два типа филаменти – оттук произлиза и наименованието им. За разлика от актиновите филаменти и микротръбичките, които са силно динамични структури, междинните филаменти се характеризират с по-голяма стабилност и изпълняват предимно механични и структурни функции. Основната роля на междинните филаменти е да осигуряват механична здравина и устойчивост на клетките и тъканите. Съществуват няколко основни класа междинни филаменти, които се различават по белтъчния си състав и тъканна специфичност. Кератините са характерни за епителните клетки и изграждат мрежи, свързани с дезмосоми и хемидезмосоми, като по този начин участват в междуклетъчната адхезия. Виментинът е типичен за клетки от мезенхимен произход и допринася за клетъчната цялост и позиционирането на органелите. Десминът е специфичен за мускулните клетки и свързва миофибрилите в интегрирана мрежа. Неврофиламентите са ключови за невроните, където подпомагат поддържането на диаметъра на аксоните и по този начин влияят върху скоростта на нервната проводимост. Ламините изграждат ядрената ламина – мрежа под вътрешната ядрена мембрана, която стабилизира ядрото и участва в организацията на хроматина. Освен механична роля, междинните филаменти участват в пространствената организация на цитоплазмата и ядрото, в клетъчната сигнализация и в регулацията на клетъчния отговор към стрес. Те взаимодействат с други елементи на цитоскелета и с мембранни комплекси, като по този начин интегрират механични и биохимични сигнали.

Микротръбичките са най-големите представители на цитоскелета и представляват дълги, кухи, неразклонени цилиндри с диаметър около 25 nm. На структурно ниво, те са изградени от протеиновите хетеродимери α - и β -тубулин, подредени в надлъжни редове – протофиламенти. Тринайсет протофиламента се подреждат в кръг, затваряйки кухия цилиндър на микротръбичката (Фигура 1). Протофиламентите са обект на непрекъсната полимеризация и последваща деполимеризация, което води до генериране на протеинова мрежа, способна да претърпява бързи и непрекъснати промени в структурата, за да обслужва променящите се изисквания на клетката. Тези промени се регулират от молекулярни механизми, известни като посттранслационни моди-

фикации (PTMs), включващи ацетилиране, фосфорилиране, тирозиниране и палмитилиране. Всяка една от тези модификации, предизвиква значителни ефекти върху формата и функциите на микротръбичките, което може да доведе до появата на субпопулация от микротръбички със специализирани функции, изградени от специфични моторни протеини.

В допълнение към PTMs, второ ниво на регулация се осигурява и от немоторните микротубулни протеини (MAPs), които подпомагат сглобяването и стабилизирането на микротръбичките, като засилват надлъжните контакти във филаментите и ги предпазват от деполимеризация. Клетките също така разполагат и с негативни регулатори, като MAP Stathmin – протеин, способен да сканира субединиците на тубулина и в следствие да насърчава деполимеризацията на микротръбичките. Ефективната регулация на процесите при поддържане на баланса между изграждане и разграждане на микротръбичките, е съществена предпоставка за адекватното им функциониране в множество биологични пътища.

Въпреки, че микротръбичките участват в широк спектър от клетъчни процеси, регулирането на вътреклетъчния транспорт е може би една от най-значимите им функции. Образувайки динамична вътреклетъчна пътна мрежа, микротръбичките осигуряват най-бързия начин за целенасочен трафик към перинуклеарната област за широк спектър от компоненти, включително мембранни органели, протеини и патогени. Моторните протеини кинезин и динеин са от съществено значение за транспортните функции на микротръбичките, пренасяйки различни товари. Кинезините обикновено регулират транспортни везикули към периферията на клетката, докато динеините ги насочват обратно към централните им части – ретрограден транспорт.



Фигура 1. Структура и организация на микротубулите. (А) Микротръбичките се състоят от множество димерни комплекси от α- и β-тубулин, сглобени около кух цилиндър. Тринадесет протофиламентата се сглобяват, за да образуват микротръбичка. Микротръбичките са закотвени чрез минусовите си краища в МТОС, което се осъществява с помощта на γ-тубулин. (Б) Микротръбичките образуват динамични мрежи в цитоплазмата, които са стабилно закрепени в МТОС, включително центрозома и апарата на Голджи. (адаптирана по Simpson & Yamauchi, 2020)

Микротръбичките и асоциираните с тях моторни протеини се нуждаят от структурна организация на мрежово ниво, за да могат да извършват насочено движение на даден товар. Тези структури се означават като центрове за организиране на микротръбичките (МТОСs), като най-утвърденият такъв център е центрозома. Именно тук започват процесите на пространственото подреждане на нишките и полимеризацията им към периферията. Асоциираният с МТОС γ-тубулин също осигурява стабилизирано закрепване и последващата им организация. В еукариотните

клетки, освен центрозоите, и други клетъчни структури, като апаратът на Голджи, също са определени като независими МТОСs, способни да сглобяват и стабилизират микротръбички.

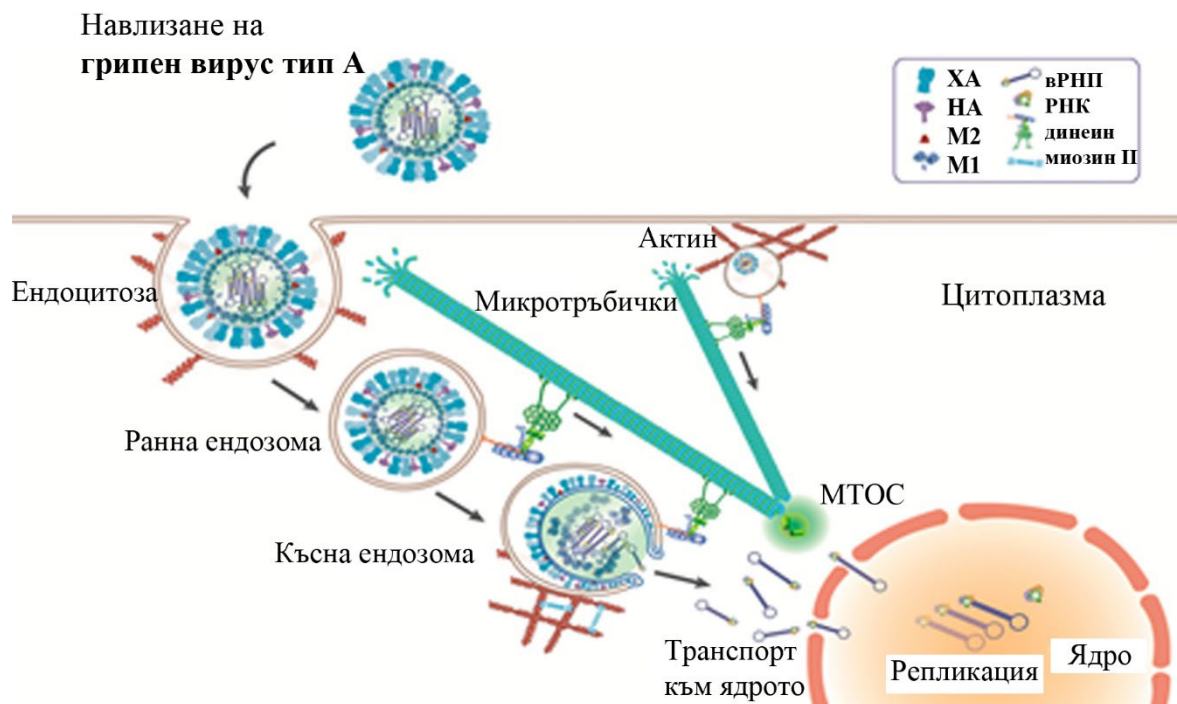
Различните животински вируси, включително аденовируси, херпесни и грипни вируси, зависят от микротръбичките като неизменно средство за насочен транспорт. Разположението на МТОС в близост до ядрото, определя микротръбичките като директен път, който вирусът използва към мястото за репликация на своя геном. Освен че осигуряват целенасочен транспорт, микротръбичките претърпяват и структурна реорганизация под въздействието на навлизащи патогени, които целенасочено променят скелетната структура, за да подпомогнат успешната реализация на жизнения си цикъл.

В еукариотната клетка, чрез процеса ендоцитоза, се интернализират голямо разнообразие от материали, включително мембранно-асоциирани комплекси, протеини, липиди, а също и патогени. Клетъчният цитоскелет и неговите микротръбички са основни компоненти на ендоцитния механизъм, който се използва от навлизащите вирусни частици. Докато някои вируси като херпес, полиома, адено- и адеоноасоциирани вируси, са в състояние да взаимодействат директно с микротубулните моторни протеини за транспортиране, други, включително грипният вирус тип А (IAV), разчитат на ендоцитни везикули. В клетъчната периферия, ендозоите, които съдържат IAV, взаимодействат с актиновите микрофиламенти и претърпяват бавни ограничени движения в близост до плазмената мембрана, преди да взаимодействат с микротръбичките и да предприемат придвижване по тях.

В случая на грипния вирус, след като бъде приет в клетката, той се съдържа в т. нар. ранна ендозома (EE), специализирана клетъчна везикула, характеризираща се с наличието на Rab5 протеина. С напредване на ендоцитозата настъпва Rab5-зависимо съзряване на ендозоите, което предизвиква превключване на Rab, така че късните ендозоми (LE), се свързват предимно с Rab7. Зреенето на ендозоите е от съществено значение за ефективния трафик до централната част на клетката. С придвижването на ендозоите към вътрешността, ретроградният транспорт става зависим от микротръбичките и свързаните с тях протеини – основно динеин. Освен че улесняват целенасоченото транспортиране на IAV към вътрешността на клетката, ендоцитните везикули осигуряват специализирана субклетъчна микросреда, която създава условия за оптимално реплициране на вируса. Ендоцитните везикули са отделени от заобикалящия ги цитозол чрез фосфолипиден бислой. Докато цитозолното рН обикновено се поддържа на ниво около 7.4, АТФ-зависимите протонни помпи в ендозомалната мембрана модулират вътрешната киселинност на ендозоите в рамките на рН 6.5 – 4.5. За грипния вирус, характерното прогресивно подкисляване на ендозомния компартмент по време на движението към ядрото представлява съществен регулатор на вирусната репликация – от ниското рН зависи ефективното разслояване на обвивката, което спомага за успешното освобождаване на генома в цитозола (фигура 2).

Координираното окисление на ендозоите и транспортът по микротръбичките, служат като лимитиращи фактори по време на инфекцията с грипен вирус. Транспортирането на вируса до мястото на перинуклеарното сливане, представлява оптимално условие за успешна инфекция, тъй като преждевременното излагане на вирионите в цитозола може да доведе до разграждането на вирусните рибонуклеопротеинови комплекси (вРНП). По този начин трафикът на IAV по микротръбичките, в рамките на ендоцитните везикули служи не само за защита на навлезналите вируси от имунно откриване, но е и оптимален за перинуклеарното сливане на местата, където се концентрират късните ендозоми (LE) и от решаващо значение за успешната реализация на инфекцията.

Транспортът през ядрената мембрана (внос и износ) е строго регулиран процес, който се контролира основно от ядрените транспортни рецептори (NTR). Разпознаването на товара и взаимодействието с NTR, се контролира главно от сигнали за локализация в ядрото (NLS) или сигнали за експорт от ядрото (NES) на целевите протеини. Грипните вирусни протеини експресират голямо разнообразие от NLS и NES, които им позволяват да взаимодействат с импортни и експортни протеини за транспорт през ядрената обвивка. В клетките на бозайниците е установена непряка връзка между рецепторите за импортиране в ядрото и микротръбичките.



Фигура 2. Ендоцитоза на грипен вирус тип А и ранно придвижване в клетката. Грипният вирус тип А (IAV) е едноврижен РНК вирус с отрицателна поляризираност, принадлежащ към семейство Orthomyxoviridae. Вирусните частици са съставени от външна обвивка, съдържаща гликопротеините хемаглуитинин (HA) и невраминидаза (NA), и M2 йонни канали. Обвивката M1 съставлява вирусната обвивка, в която се намират 8 вирусни генни сегмента, всеки от които е свързан с нуклеопротеин (NP) и РНК полимеразата.

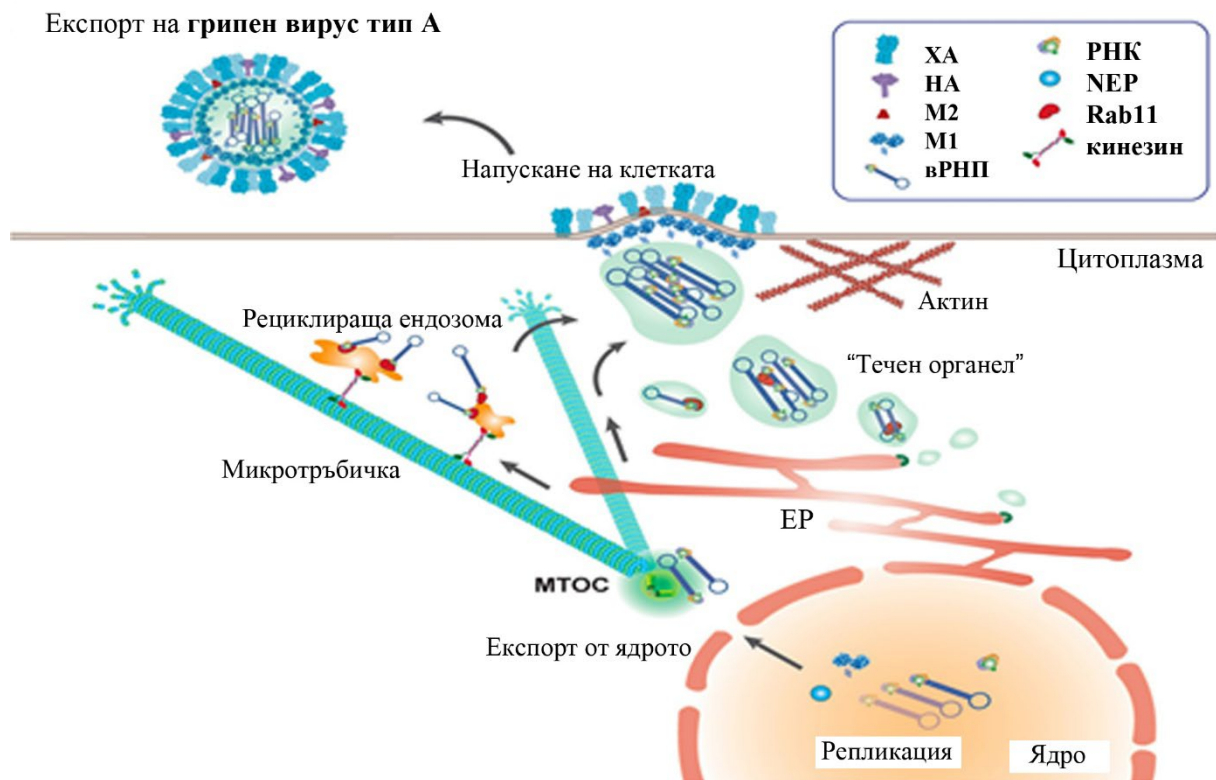
Самата грипна полимеразата е образувана от три субединици: PA, PB1 и PB2.

(адаптирана по Simpson & Yamauchi, 2020)

Зависимостта на импортин- α с микротубулната мрежа за вътреклетъчния трафик не е проучена добре. Въпреки това, връзките между импортин- α и микротръбичките, както директна, така и индиректна, предполагат, че микротръбичките на цитоскелета могат да допринесат за локализирането на NTR и последващите им взаимодействия с IAV.

След репликацията на генома и експортиране в цитоплазмата, грипните vRNPs трябва да достигнат до плазмената мембрана за сглобяване на вирионите и последващо освобождаване. Ендоцитният път на рециклиране, който се извършва чрез микротръбичките, е от съществено значение за насочения трафик към клетъчната периферия и гарантира, че носените товари ще се транспортират по подходящ начин за клетъчна секреция или включване в плазмената мембрана. В този процес, ключова роля играе протеинът Rab11. Той се свързва с везикулите, насочени за трафик към мембраната, като заедно с това взаимодейства с цитоплазмените моторни протеини – основно кинезин. Непосредствено след експорт от ядрото, vRNP се натрупват в областта на МТОС, където използват Rab11 за свързване с рециклиращите ендозоми. Взаимодействията на vRNP с Rab11 играят съществена роля в трафика им към плазмената мембрана по пътя на ендоцитното рециклиране и секреторния път (фигура 3).

Грипната инфекция може да предизвика динамични промени, които преразпределят Rab11 към ендоплазмения ретикулум (ER). Новосинтезираните vRNP образуват отделни цитоплазмени включения в течни органели, които използват предимно ER и секреторния път за транспортиране към клетъчната периферия. Секреторният път е алтернативно средство за периферен транспорт на макромолекули, сегрегирани от транс-края на апарата на Голджи и преминавали преди това през обработка в ER. Този секреторен път е алтернативен и за новосинтезираните vRNP.



Фигура 3. Излизане на грипен вирус тип А от клетката. След репликацията на вирусната РНК, новосинтезираните вРНП се изнасят от ядрото и се натрупват в МТОС, преди да се придвижат към клетъчната периферия по зависим от микротубулите начин за сглобяване и освобождаване. Грипните вируси използват компонентите на ендоцитното рециклиране и секреторния път за апикален транспорт; асоциациите между Rab11-положителните рециклиращи ендоцитни везикули и грипните вируси позволяват вирусния трафик по микротубулите. Освен това вРНП предизвикват образуването на „течни органели“, които се асоциират с Rab11 за пренос на вРНП по секреторния път. След зависимия от микротубулите периферен трафик, вРНП се сглобяват, за да образуват нови вириони и да се отделят от клетъчната повърхност, с цел предизвикване на вторична инфекция в съседни клетки. (адаптирана по Simpson & Yamauchi, 2020)

В клетките на гръбначните животни, перицентрозомото разположение и структурната цялост на Голджи, се поддържа от функционални микротръбички. Самият апарат на Голджи е утвърден МТОС със способност самостоятелно да генерира организирани масиви от микротръбички. Поради тази причина, Rab11 и микротръбичките представляват общи компоненти на клетъчния механизъм, който участва както в ендоцитното рециклиране, така и в секреторния път – процеси, жизнено необходими за оптималния трафик на вРНП към клетъчната мембрана и успешното реализиране на жизнения цикъл на вируса.

Процесът на образуване на женските и мъжки полови клетки се означава като *гаметогенеза*. В развитието и образуването им има сходства, но и характерни и специфични особености. Затова процесът на образуването на мъжките полови клетки (сперматозоиди) се означава като сперматогенеза (spermatogenesis), а на женските полови клетки (яйцеклетки) – овогенеза (oogenesis). При животните, с малки изключения, развитието на сперматозоидите се извършва в мъжките полови жлези – семенници (тестеси), а на яйцеклетките, в женските полови жлези – яйчници. Етапите на *сперматогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза); зреене (мейоза); окончателно оформяне. Етапите на *овогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза) и зреене (мейоза).

Етап на размножаване. Сперматогенезата и овогенезата започват през ембриогенезата, след детерминиране на пола на първичните полови клетки (гоноцити), които се превръщат в първични мъжки полови клетки – сперматогонии ($2n$, $2c$) или първични женски полови клетки – овогонии ($2n$, $2c$). В половите жлези започват активни митози, които продължават и в след ембрионалния период. Броят на сперматогониите и овогонииите се увеличава многократно. При висшите гръбначни животни вкл. и човека, митозите в яйчниците спират през определен етап от ембриогенезата.

Етап на растеж и зреене. Започва процесът мейоза с две последователни деления, всяко преминаващо през профаза, метафаза, анафаза и телофаза. *Етапът на растеж* включва дългата и сложна профаза на мейоза I, която е сходна при двата процеса и се разделя на пет фази. Клетките са сперматоцити I ред ($2n$, $4c$) или овоцити I ред ($2n$, $4c$). Те са претърпели подготовка през интерфазата свързана с удвояване на мол. ДНК, синтез на видове РНК, на ендогенни белтъци и АТФ. В ядрото им започва спирализация и дехидратация на хроматина с образуване на биваленти, всеки съдържащ $2n$, $4c$ (две хромозоми с по две мол. ДНК – хроматиди), които се означават като „тетрада“. Чрез процеса *crossing-over* се разменят участъци между несестринските хроматиди във всеки бивалент. Сперматоцитите от I ред нарастват 1 – 2 пъти, докато овоцитите I ред – няколко десетки до стотици пъти, поради образуването на жълтък в цитоплазмата. Процесът е известен като *вителогенеза*. Освен като хранителни вещества жълтъкът определя вида на яйцеклетката и особеностите на ембрионалното развитие. *Етапът на зреене* започва от края на пахитен I до края на второто мейотично делене. При сперматогенезата и овогенезата, процесите са много сходни. Мейоза I продължава последователно през метафаза I, анафаза I и телофаза I. В дъщерните клетки хромозомите са хаплоидни, но съдържат по две мол. ДНК (хроматиди). Без подготовка през интерфазата следва мейоза II, като през анафаза II от всяка хромозома към срещуположните полюсите на дел. вретено се насочват всяка от двете ѝ хроматиди. Те формират хаплоиден хромозомен набор в дъщерните клетки. *Обобщено, в края на мейозата*, при сперматогенезата от сперматоцит от I ред се образуват четири равностойни хаплоидни сперматиди (n , c), докато при овогенезата, от един овоцит I ред се образува една голяма хаплоидна яйцеклетка (n , c), в която се разпределя цилият жълтък и почти цялата цитоплазма и едно (три) полярни телца (n , c) с малко цитоплазма. Поради ограничената жизненост на яйцеклетките овогенезата в яйчниците спира през определен етап за отделните видове животни. Овогенезата завършва само след навлизането на сперматозоид в яйцеклетката при оплождането. *Окончателно формиране* е етап характерен само при сперматогенезата, по време на който се структурират морфологичните части на сперматозоидите (спермиогенеза). От всеки сперматид се оформя по един сперматозоид. В сперматидите на животните се описват сходни промени, които се разделят на четири последователни фази: фаза на комплекс на Голджи; фаза на „шапчица“; фаза на акрозома (акрозомен апарат); фаза на зреене.

Видове сперматозоиди. При животните има сперматозоиди от афлагелатен тип (без флагелум) и флагелатен тип (с флагелум или опашка). Сперматозоидите с флагелум са по-често срещани и се откриват у представители от Porifera до Vertebrata, включително и при човека. Имат общ принцип на устройство – глава, шийка и опашка. Характеризират се с редица особености на ултразруктурната организация на всяка морфологична част, което определя сперматозоидите като високоспециализирани и видовоспецифични клетки. *В главата на сперматозоида* се намират акрозома,

ядро и малко цитоплазма. В акрозомата се съдържат хидролитични ензими за разрушаване на вторичните яйчни обвивки на яйцеклетките. В *шийката* има две центриоли – проксимална центриола (структурира I-вото дел. вретено на зиготата) и дистална центриола (като базално телце участва в образуването на аксонемата на опашката). *Опашката на сперматозоида* се разделя на междинна, средна и крайна част, като по дължината ѝ се намира осев комплекс (аксонема) – двигателен център на опашката, митохондрии – в междинната част около аксонемата, с енергийна функция. По цялата дължина сперматозоида е покрит с малко цитоплазма и клетъчна мембрана.

Видове яйцеклетки. 1. В зависимост от количеството на жълтъка са: безжълтъчни (алецитални, напр. чернодробен метил, човек); малкожълтъчни (олиголецитални, напр. мещести); умереножълтъчни (мезолецитални, напр. безопащати земноводни) и многожълтъчни (полилецитални, напр. риби, влечуги, птици, насекоми). 2. В зависимост от количеството и разпределението на жълтъка са: хомолецитални – с малко жълтък, равномерно разпределен (напр. мещести); хетеролецитални – мезолецитални, с неравномерно разпределен жълтък, анимален полюс без жълтък и вегитативен полюс с жълтък (напр. жаби); телолецитални – полилецитални, жълтък изпълващ цялата клетка, ядрото се намира на анималния полюс, под оолемата (напр. риби, влечуги, птици); центролецитални – полилецитални, жълтък в центъра на клетката, който прекъсва от цитоплазма без жълтък, т. нар. цитоплазмени мостчета (напр. насекоми). По правило ядрото в яйцеклетките се намира в място, където жълтък липсва или е в малко количество.

Важен момент в онтогенезата на животните е оплождането – сливането на хаплоидните сперматозоид и яйцеклетка, при което се получава диплоидна зигота с обогатен генетичен материал. Процесът се предшества от изхвърляне, придвижване и депониране на сперматозоидите в женския копулативен орган или разположението им в непосредствена близост до яйцеклетката, извън женските полови пътища, във външна, водна среда (т. нар. осеменяване). *Най-общо механизма на оплождането* се разделя на три последователни етапа: 1. *Акрозомна реакция* – сперматозоида преодолява яйчните обвивки, с помощта на хидролитичните ензими в акрозомата. 2. *Кортикална реакция* – образуват се допълнителни прегради над оолемата, които възпрепятстват полиспермия. *Нуклеарна фаза* – яйцеклетката бързо завършва мейозата, отделя второто полярно телце и останалия в нея хаплоиден набор се превръща в женски пронуклеус, който се слива с мъжкия пронуклеус (майчини и бащини хромозоми) в едно общо диплоидно ядро. Образува се диплоидна зигота.

Зародишно развитие. Етапи на зародишното развитие. Зародишното развитие (ембриогенеза) започва с първото делене на активиранията яйцеклетка и завършва с излюпването или раждането на новия индивид. Най-общо ембрионалното развитие се извършва чрез следните последователни етапи: набраздяване (бластулация), гаструлация и органогенеза.

Набраздяване (бластулация, дробене). В рамките на 9 – 10 деления, активиранията към развитие яйцеклетка, се дели митотично, като през интерфазите няма растеж. Зародишът не нараства. С всяко следващо делене клетките се увеличават по брой и намаляват по размери. Означават се като бластомери. В края на етапа, зародишът придобива специфична структура наречена бластула, в която често се отваря празнина – брastoцел, изпълнена с течност, отделена от бластомерите. Делителните плоскости от всяко следващо делене се разполагат във взаимно перпендикулярни равнини. Особеностите на набраздяването се определят от типа на яйцеклетката, както и от условията на средата, в която се развива зародиша. По правило жълтъкът забавя скоростта на делене или напълно спира деленето, в мястото където се намира. Това се отразява върху структурата и типа на бластулата, определя особеностите на ембриогенезата. Дробене може да се извърши по *детерминативен и регулативен тип*, в зависимост от това дали бластомерите са диференцирани твърде рано за развитие на определена част от тялото на зародиша (още при 1-во, 2-ро делене) или твърде късно (след 16 клетъчен стадий), съответно. При липса на бластомер при детерминативния тип се развива дефектен зародиш, а при регулативния тип се развива нормален зародиш.

Видове набраздяване. Набраздяването се разделя на два вида: пълно (тотално, холобластично) и непълно (повърхностно, меробластично). *Пълно (тотално) набраздяване* се наблюдава при яйцеклетки без, с малко или умерено количество жълтък. Делителните плоскости преминават през обема на яйцеклетката, като разположението им зависи от разпределението на жълтъка в обема на яйцеклетката. *Непълно (повърхностно, меробластично) набраздяване* е характерно за полилециталните яйцеклетки, при които делителните плоскости не могат да преминават през целия обем на яйцеклетката. Бива два вида: дискоидално и повърхностно (суперфициално).

Гаструлация. Между деленията, през интерфазите се появява етап на растеж. Зародишът расте. Бластомерите нарастват и вече се означават като клетки, между които настъпват качествени и количествени различия. Те се пренареждат и диференцират. Обособяват се зародишните листове (слоеве). Първоначално се развиват външен зародишен лист наречен *ектодерма* (ektos – външен) и вътрешен – *ентодерма* (entos – вътрешен). По-късно между тях се образува и трети зародишен лист – *мезодерма* (mesos – среден) (при трипластните животни). Структурата, която се формира се нарича гастрала, а празнината в нея – гастроцел. *Ектодермата* и *ендодермата* се структурират по четири начина, чрез: *инвагинация* (потъване); *имиграция*; *епибolia* (обрастване); *деламинация* (разцепване). *Мезодермата* може да се развие от клетки на: ектодермата – ектомезодерма; ендодермата – ендомезодерма; от двата слоя едновременно – ектоендомезодерма. Структурира се като *мезенхим* – амебовидни клетки с неправилна форма в голямо количество аморфно вещество. Може да се образува и като по-сложно устроена мезодерма – *мезотел* (послойно подреждане на клетки заграждащи празнина). Образуват се торбовидни издувания (целомни, мезодермални торбички), водещи началото си от ендодермални клетки. От тях се злагат разновидности на съединителна и мускулна тъкани. Образуват се най-общо по три начина: *телобластичен*, *ентероцелен* и *солидно клетъчно обрастване* (врастване) (при Vertebrata, от мезодермални торбички, сомити, сегменти).

Органогенеза. Обособяват се тъканите и органите на отделните системи при животните, които започват да функционират. Основните осевидни структури, които определят плана на развитие на тялото при гръбначните животни са: първично черво (архентерон); гръбна струна (chorda dorsalis или notochorda) и нервна тръба (tubus neuralis). *Първичното* черво се структурира най-рано от ендодермата. По-късно се развива в епителните части на храносмилателна система и жлезите ѝ (слюнни жлези, черен дроб, панкреас) и залага органи от дихателната система – трахеята и белите дробове (или хрилете). *Хордата* се разполага над и по дължината на първичното черво, има ендо-мезодермален произход. *Нервна тръба* се образува от ектодермата по епителен път. Затварянето на нервната тръба се нарича *неврулация*. От нервната тръба се образува цялата нервна система.

При повечето гръбначни животни ембриогенезата се подпомага от функционирането на допълнителни зародишни обвивки. *Жълтърна торбичка* като първия хемопоеичен огран за зародиша. *Зародишните обвивки са:* амнион, хорион и алантоис. Те се структурират от извънзародишни слоеве. *Амнионът* е амниотична торбичка с течност, в която се намира зародишът. Има регулаторна роля, осигурява влажна среда, механична защита и др. *Хорионът* е обща външна обвивка на зародиша, със защитна и газообменна функция. При птици, спомага за пренасяне на калциев карбонат от варовитата черупка на яйцето към зародиша, необходим за изграждането на скелета. *Алантоисът*, при влечуги и птици, се образува като сляпо завършващ колбасовиден израстък, който разраства с функция на пикочен мехур, участва и в газообмена. При плацентните бозайници образува съдовете в пъпната връв. В края на ембриогенезата зародишните обвивки се разрушават и загубват функцията си. При плацентни бозайници и човека, се образува и *плацентата*, която осигурява връзката между майчиния организъм и ембриона (плода) и изпълнява газообменна, трофична (хранителна), защитна (барьерна), секреторна, хормонална (човешки хорионгонадотропен хормон, прогестерон, за поддържане на бременността). Структурира се от две части – майчина (лигавицата на матката) и детска (хорион с хориални власинки).

Кратка морфофункционална характеристика на типовете тъкани при животните

Тъканта е съвкупност от клетки и междуклетъчно вещество, представляваща една филогенетично възникнала система с общ произход и посока на диференциация на клетките за усъвършенстване изпълнението на отделни основни жизнени функции. В еволюцията на животните тъканите се усложняват като се обособяват разновидности, които се класифицират въз основа на разнообразие от критерии. Според морфо-функционалната класификация тъканите се разделят на четири основни типа – епителна, съединителна, мускулна и нервна.

Епителна тъкан (Textus epithelialis). През ембриогенезата може да се развие и от трите зародишни листа – ектодерма, ендодерма и мезодерма. Покрива отвън тялото на многоклетъчните животни, постила вътрешната повърхност на кухите и тръбестите органи (храносмилателен тракт, дихателните и пикочопроводни пътища) и на телесните кухини (коремна и гръдна); изгражда почти всички жлези, с изключение на някои отдели на жлезите с вътрешна секреция. *Основните функции* на епителната тъкан са ограничителна и защитна. *Допълнителни функции са:* транспортна – свър-

зана с пренасянето на вещества с помощта на транспортни системи; секреторна – свързана с отделянето на различни по химичен състав вещества, йони и макромолекули; роля в сетивни зони – епителните клетки подпомагат възприемането на дразнения от околната среда.

Епителната тъкан представлява единна система от голям брой клетки в редове или слоеве, малко слепващо, аморфно междуклетъчно вещество (подпомагащо клетъчните комуникации) и базална мембрана (*lamina basalis*), върху която се разполагат всички клетки при еднослойните епителии или само първият ред клетки при многослойните. Базалната мембрана има опорна и защитна функция и изпълнява полупропускливи свойства за дифузионни процеси между подлежащата съединителна тъкан към епителните клетки и обратно. Тъканта се състои основно от три типа клетки: преобладаващи; специализирани (жлезисти) клетки; слабо диференцирани (стволови клетки), които се делят постоянно и са отговорни за регенеративните способности на тъканта. Чрез секретите на жлезисти клетки се образуват допълнителни образувания като косми, пера, люспи, нокти, рогови образувания, кутикула и др. Епителните клетки притежават поляриност. В епителната тъкан не навлизат кръвоносни съдове, но е добре инервирана. Притежава висока способност към регенерация (физиологична – перманентна и циклична и посттравматична). Най-често се използва морфо-функционалната класификация, според която епителната тъкан се разделя на покривен епител и жлезист епител. Покривният епител бива три основни вида – еднослоен (еднореден и многореден), преходен и многослоен (невроговяващ и вроговяващ). Жлезистият епител се изгражда от специализирани жлезисти клетки, които имат способност да отделят специфични продукти наречени секрети. Разделя се на два вида – екзокринен и ендокринен. Екзокринните жлези отделят секрета си директно върху външни или вътрешни повърхности на организма, с помощта на изводни канали. Ендокринните жлези отделят секрети (инкрети, хормони) директно в телесната течност, кръвта или лимфата, без изводни канали.

Съединителна тъкан (*Textus connectivus*). Тази тъкан не контактува пряко с външна среда или вътрешни празнини, а чрез епителната тъкан. През ембриогенезата се залага от мезодермата и най-често се развива от мезенхимни клетки. *Основна функция* на съединителната тъкан е структурно-опорна като участва при изграждане и моделиране тялото на многоклетъчните животни. *Изпълнява* още трофична и защитна функция, както и редица допълнителни функции. Съединителната тъкан се изгражда от два основни компонента: клетки (*cellulae textus connective*) и междуклетъчно вещество (*substantia intercellularis*) или матрикс (т. нар. базова, аморфна субстанция). Клетките са разположени в междуклетъчното вещество по единично или на групички, като са разнообразни по функция и морфология. Не образуват редове (с малки изключения) или слоеве. Могат да бъдат фиксирани или подвижни. Междуклетъчното вещество включва съединителнотъканни извънклетъчни влакна (*fibrae textus conectivi*) (влакнести материали) и основна (базова) субстанция (*substantia fundamentalis*) известна още като аморфно вещество. Основната субстанция на междуклетъчното вещество се изгражда от глюкозоамиоглигани (мукополизахариди) и адхезивни (структурни) гликопротеини. Влакнестите материали се структурират в три вида влакна – колагенови и ретикуларни от белтъка колаген и еластинови от белтъка еластин. Материалите за междуклетъчното вещество се синтезират и отделят от основните клетки на различните разновидности на съединителната тъкан. Съединителната тъкан притежава регенеративни възможности в различни граници, в зависимост от особеностите на разновидностите ѝ. Според хистофизиологичната класификация съединителната тъкан се разделя на три групи: с недиференцирано междуклетъчно вещество (мезенхим, слизеста, хордална, пихтиеста); с влакнесто междуклетъчно вещество (хлабава, мастна, ретикуларна, пигментна, фиброзно-компактна и еластична, кръв); с твърдо междуклетъчно вещество (хрущялна и костна).

Мускулна тъкан (*Textus muscularis*). Клетъчна общност от силно диференцирани и удължени мускулни клетки (миоцити) или мускулни влакна. През ембриогенезата произлиза от мезодермата и се развива от мезенхимните клетки (мезенхима). Само миоепителните клетки имат ектодермален произход. Особеност на тъканта е липсата на собствено междуклетъчно вещество. Тази роля се изпълнява от рехавата съединителна тъкан, която навлиза навътре между клетките и влакната и носи със себе си разклонения на кръвоносни, лимфни съдове и нерви. Според структурната организация на съкратителния апарат тъканта се разделя на три основни вида – гладка, набраздена (косо и напречно набраздена) и миоепителни клетки. Напречно набраздената бива скелетна и сърдечна (съкратителна, типична и импулсопроводна, нетипична). Основната структурна единица на скелетната мускулна тъкан е мускулното влакно – миофибра, на сърдечната – мускулната клетка кардиомиоцит, а на гладката е мускулната клетка – лейомиоцит. Запазвайки

клетъчните си ограничения кардиомиоцитите се нареждат едно до друго и образуват мускулни влакна, като контактуват чрез т. нар. интеркаларни дискове. В миофибрите или кардиомиоцитите на набраздената мускулна тъкан има специфични клетъчни органели – *миофибрили*, които са многобройни тънки тръбички по дългата ос на влакното. По дължината на всяка миофибрила се забелязват тъмни и светли зони (ивици), където по специфичен начин са подредени молекулите на съкратителните белтъци – актин, заедно с тропомиозин и тропонин, и миозин. Пълното съвпадение на светлите и тъмни зони във всички миофибрили на една миофибра определя напречното ѝ набраздяване. По средата на светлите зони, напречно на дългата ос, се разполагат молекулите на белтъците дезмин и α актин. Те изграждат т. нар. Z дискове. Разположението на молекулите на съкратителните белтъци се повтаря между два Z-диска. Разстоянието между два Z диска се нарича *саркомер* – основната функционална единица на набраздената мускулна тъкан. Скелетната мускулна тъкан се съкращава волево, под действието на централната нервна система, докато сърдечната и гладката мускулни тъкани се съкращават неволево, под действие на вегетативната нервна система. Регенерацията на тъканта е ограничена. Възстановяването често е за сметка на рехавна съединителна тъкан.

Нервна тъкан (Nervous tissue). Комплекс от високо специализирани нервни клетки – неврони (невроцити) и спомагателни глиеви клетки – невроглия. Невроните са основни клетки с функция да: възприемат дразненията от околната среда и различните части на тялото; анализират, интегрират, трансформират информацията и да изработват съответни нервни импулси; препращат нервните импулси в посока към други неврони или органи от организма за подходяща реакция на организма (мускули или жлези). През ембриогенезата на гръбначните животни се развива от ектодермата, чрез процеса неврулация (затваряне на нервната тръба). Невроните са високо специализирани клетки. Изградени са от клетъчно тяло (перикарион – метаболитен център на клетката) и израстъци, които са: дендрити – къси, дървовидно разклоняващи се и един дълъг израстък – аксон. Дендритите възприемат и насочват получената информация в посока към перикариона. В аксона се генерират и провеждат нервните импулси към реагиращите клетки или други неврони. Невроните имат и специфични клетъчни органели – *тигроидни тела и неврофибрили*. Тигроидните тела са големи комплекси от рибозоми и гранулиран ендоплазмен ретикулум. Показател са за интензивен синтез на структурни и транспортни белтъци. Неврофибрилите оформят цитоскелета на клетката, поддържат клетъчната форма и усигоряват транспортирането на различни субстанции и органели в израстъците. Невроглията има спомагателна функция в тъканта – хранителна, секреторна, възстановителна (репаративна), опорна, защитна, регулаторна. Невроглията бива: епендимна глия (епителиподобни клетки, изграждат стената на празнини, напр. гръбначномозъчен канал); макроглия (астроцити – фиброзни и протоплазмени и олигодендроцити); микроглия (микроглиеви клетки със защитна функция, единствени имат мезодермален произход). Астроцитите имат основно регулаторна функция. Протоплазмените астроцити са с многобройни израстъци и участват в изграждането на сивото мозъчно вещество, докато влакнестите астроцити са с по-малко израстъци и участват в изграждането на бялото мозъчно вещество. Олигодендроцитите са многобройни, с малки размери, като в ЦНС участват в образуването на миелиновата обвивка на миелиновите нервни влакна, в ПНС тази функция изпълняват т. нар. Шванови клетки. Регенеративните процеси в нервната тъкан са ограничени като те се отнасят основно за възможности на различните видове глиеви клетки.

Изменчивостта на живите организми създава огромното многообразие в природата. Причините за нея са различни. Когато се променят фенотипни белези без да е променен генотипа, тези изменения не се предават в потомството и съществуват само през живота на организма, в който са възникнали или докато са валидни условията, които са ги предизвикали (**фенотипна, модификационна изменчивост**). Когато измененията се дължат на промяна в генетичния апарат на клетката (гени, хромозоми), те се предават по наследство (**генотипна изменчивост**). Те могат да са в резултат от: независимо и случайно прекомбиниране на гени според законите на Мендел и кросинговърови рекомбинации, не се появяват нови алелни състояния на гените, а се прекомбинират съществуващите алели (**рекомбинативна изменчивост**); или поява на нови алелни състояния на даден ген или други промени в генотипа (**мутационна изменчивост**).

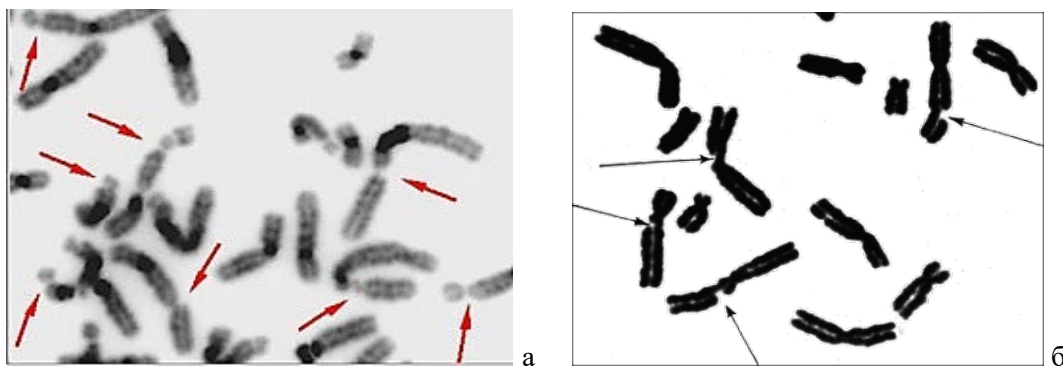
Терминът **мутация** е въведен през 1903 г. от Хуго де Фриз за обозначаване на скокообразно изменение на даден признак („Мутационна теория за еволюцията на организмите“). Мутациите могат да засягат наследствения материал в ядрото на клетката (**кариогенни мутации**) или в цитоплазмени органели (**плазмогенни мутации** – **пластидни** или **митохондриални**, унаследяват се по майчина линия с цитоплазмата на яйцеклетката). Според засегнатия генетичен материал мутациите биват: **генни** (промяна в химичната структура на ДНК в рамките на ген), **хромозомни** (промяна в нормалната структура или брой на хромозомите) или **геномни** (промяна в генома като цяло).

Факторите, които провокират мутационни изменения (**мутагенни фактори**), според своята природа може да бъдат **химични** (иприт, формалдехид, етилметансулфонат, нитрозамини, ароматни въглеводородни съединения, пестициди, флавоноиди, фурани и др.), **физични** (йонизираща радиация, ултравиолетови лъчи, електромагнитно поле и др.) или **биологични мутагени** (вируси, бактериални токсини, стероидни хормони, автоимунни процеси и др.).

Хромозомните мутации са промени в броя (геномни мутации) или структурата на хромозомите в кариотипа. Те може да бъдат констатирани при наблюдение със светлинен микроскоп.

Структурните хромозомни мутации (**хромозомни аберации, хромозомни преустройства**) са резултат от разкъсвания (разриви) в хромозомата. Откъснатите **фрагменти** могат да бъдат **центрични** (ако имат центромер) или **ацентрични** (без центромер).

Ако разрывът настъпи по време на интерфаза преди авторепликацията на ДНК, разкъсването ще засегне и двете хроматиди на хромозомата (**хромозомен тип разрыв**, Фиг. 1а), а ако е в по-късен етап, той ще е само в едната хроматида, а другата хроматида на същата хромозома ще е цяла (**хроматиден тип разрыв**, Фиг. 1б).



Фигура 1. Хромозомни (а) и хроматидни (б) разриви.

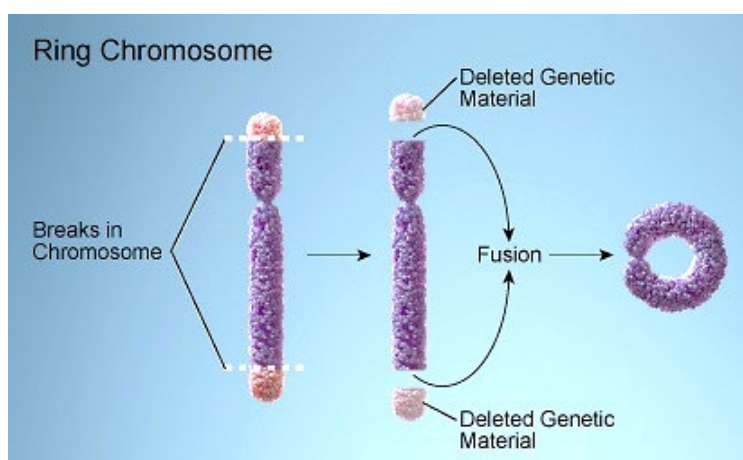
След разкъсване на хромозомата следва процес на възстановяване на увредения участък (**репарация**). Мутации възникват при неправилно присъединяване на фрагмент към хромозомата, от която е произлязъл или към друга хромозома, или в резултат от отпадането му.

Поради факта, че всяка хромозома е еволюирала като балансирана система с определен състав, локация и ред на гените в нея, всяка промяна на структурата ѝ ще се отрази на свойствата

на клетките и на организма. Обикновено хромозомните аберации са свързани с проява на наследствен фенотипен ефект.

Хромозомните аберации, засягащи структурата на една хромозома (**вътрехромозомни аберации**) могат да бъдат: отпадане на част от хромозомата (**дефишънс** или **делеция**), удвояване на участък от хромозомата (**дупликация**), завъртане на част от хромозомата (**инверсия**) или вмъкване на фрагмент в хромозома (**инсерция**).

Дефишънс и делеция. Отпадането на крайни (терминални) фрагменти от хромозомата (**дефишънс**) може да засегне едното хромозомно рамо (**единичен дефишънс**) или и двете рамене (**двоен дефишънс**). Поради отпадане на теломерите в абериалото хромозомно рамо може да се слепят хроматидите и да се формира хромозома с бримка (при единичен дефишънс), хромозома тип осморка или пръстеновидна хромозома (при двоен дефишънс, Фиг.2). Откъснатите крайни фрагменти (и съответно гените в тях), отпадат през следващото клетъчно делене, защото нямат центромер и не може да се свържат за нишките на делителното вретено (първична загуба на гени), а слепените хроматиди на хромозомата формират анафазен/телофазен мост (Фиг.3а,б). При неговото скъсване може да се откъснат допълнителни фрагменти (вторична загуба на гени).



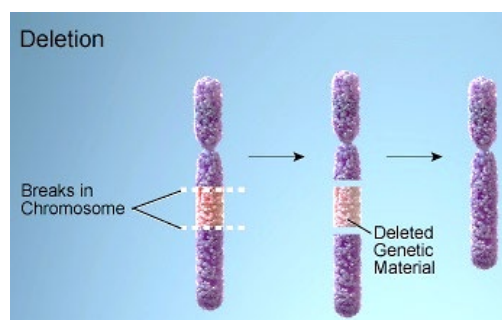
Фигура 2. Пръстеновидна хромозома след двоен дефишънс.



Фигура 3. Анафазен (а) и телофазен мост (б), ацентрични фрагменти (в).

При отпадане на вътрешен фрагмент (**делеция**, Фиг. 4) се променя морфологичния тип на хромозомата. Например, ако делеция настъпи в равнораменна (метацентрична) хромозома, тя ще се превърне в разнораменна субметацентрична или субтелоцентрична в зависимост от дължината на отпадналия фрагмент. Ако фрагментът е ацентричен, това ще доведе до загуба на гени (Фиг. 3в).

Когато отпадат малки по размери фрагменти (отделни хромери или части от хромери) този тип аберации се означават като **микродефишънси** или **микроделеции**. Обикновено те се запазват в хомозиготно състояние (когато аберацията е засегнала и двете хромозоми от хомоложната хромозомна двойка). Понякога се проявяват фено-



Фигура 4. Делеция.

типно, имитирайки генни мутации, но се отличават от тях по липсата на обратно мутиране (липсва реверсия към изходното състояние на гена). Обикновено мащабните дефишънси и делеции имат летален ефект в хомозиготно състояние и са жизнеспособни само в хетерозиготно състояние (когато едната хромозома от хомоложната хромозомна двойка е претърпяла аберацията, а другата е нормална). Определяните от тях мутации се проявяват като доминантни. Понякога в резултат от дефишънс или делеция отпада доминантен алел на ген и тогава при хетерозиготни индивиди фенотипно се проявява рецесивния алел на гена. Това явление се нарича **псевдодоминиране**.

При човека делеция в късото рамо на 4-хромозома е причина за Синдром на Волф-Хиршхорн. Около 1/3 от случаите не преживяват периода на новороденото. Характерни са аномалии в развитието на редица органи и тежко умствено изоставане.

Синдромът на котешкото мяукане (дефишънс в късото рамо на 5-хромозома) най-често засяга женския пол. Поради недоразвитие на ларинкса и неговата мускулатура плачът на новороденото напомня котешко мяукане, което в по-късна възраст изчезва. Наблюдават се тежко умствено изоставане и физическо недоразвитие.

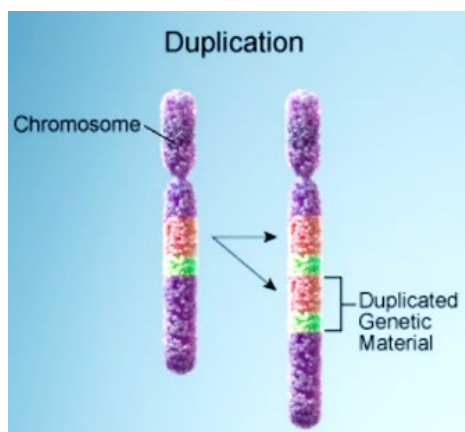
Делеция в дългото рамо на 18-хромозома води до микроцефалия, характерна форма на устата („уста на шаран“), деформация на очите, умствена изостаналост, затруднения в говора и др.

Пръстеновидна хромозома 20 се характеризира с късно започващи и прогресиращи неврологични нарушения. До 10 – 11-годишна възраст децата се развиват нормално или леко забавено. Първи симптоми са епилептични припадъци към 5 – 6-та година. Обикновено се проявява деградация на интелекта и характера на индивида.

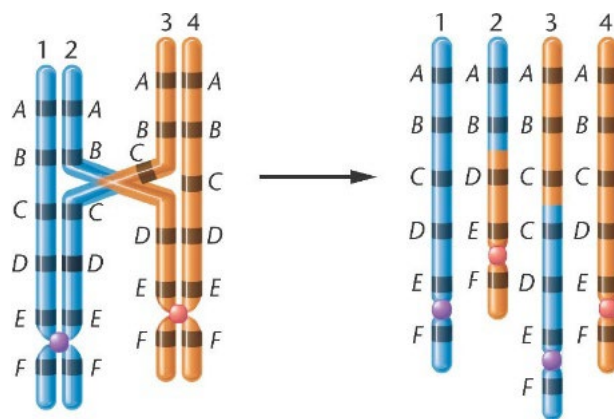
Пръстеновидна хромозома 21 се характеризира с изоставане в ръста и умственото развитие, големи ушни миди, малка уста, полови аномалии.

Децата с пръстеновидна хромозома 22 имат нормално физическо развитие, но тежко умствено изоставане, прогресиращо с възрастта. Характерни белези са големи бадемовидни очи, сключени вежди и топчест нос при малките деца.

Дупликация. Това са повторения (умножавания) на участъци от хромозомите и респективно на гените в тях. Дуплицираният регион може да обхваща един ген или да е по-мащабен и да включва няколко гена. Повторените участъци може да са разположени непосредствено до оригиналния регион в хромозомата (**последователни дупликации**, Фиг. 5) или да се намират в отдалечена позиция от него (**преместени дупликации**). Един от механизмите, които водят до възникване на дупликации е неравният кросинговър (Фиг. 6).



Фигура 5. Последователни дупликации.



Фигура 6. Неравен кросинговър.

В резултат от дупликация се променя функционирането на повторените гени и на гените в съседство с тях. Стъртевант нарича това явление „ефект от генната среда“, според него действието на даден ген зависи от това кои са съседните му гени, т.е. от генната среда, в която се намира. Хромозомата е стриктно подредена и балансирана система от линейно разположени гени, в която всеки ген заема точно определено място (генен локус), и всяка промяна в структурата на хромозомата може да се отрази на функционирането на гените в нея.

Инверсия. Това е физическо завъртане на хромозомен участък на 180°, предшествано от двойна фрагментация по дължината на хромозомата. В резултат се обръща редът на гените в този

регион и се променя генната среда, което се отразява върху експресията на гените в зоната на инверсия и на тези в съседство. Центромерът на хромозомата може да е извън инверсията (**парацентрична инверсия**) или да е в абериралия регион (**перицентрична инверсия**) (Фиг. 7). В резултат от перицентрична инверсия може да се промени морфологичния тип на хромозомата, когато разрывите в двете рамена на хромозомата са на различно разстояние от центромера.

В хромозомата може да има един инвертирал сегмент (**проста инверсия**) или повече от един (**сложна инверсия**). При сложни инверсии засегнатите участъци може да са разположени един след друг (**последователни, тандемни инверсии**) или да се препокриват (**препокриващи се инверсии**, например един и същи сегмент от хромозомата да участва в две инверсии).

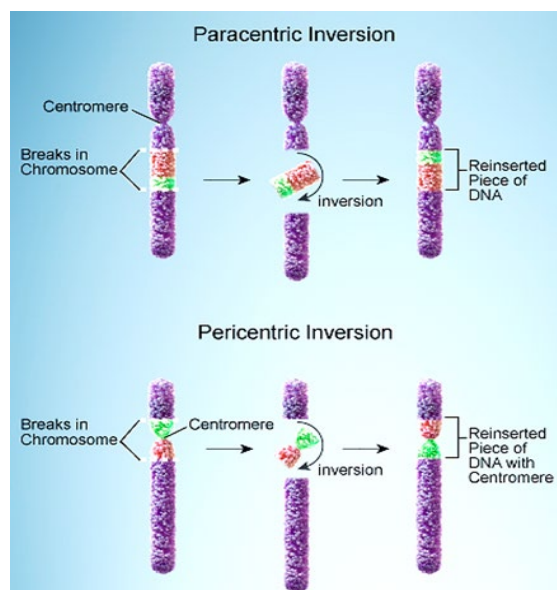
Обикновено инверсиите имат рецесивен летален ефект (хомозиготните по инверсии индивиди умират) и затова най-често се откриват в хетерозиготни индивиди.

При хетерозиготни по парацентрична инверсия индивиди, по време на мейозата, след протежъл кросинговъров обмен в зоната на инвертирания участък, се формират два аберантни типа хромозоми – ацентрична (без центромер) и дицентрична (с два центромера). През следващото клетъчно делене ацентричната хромозома не се свързва за нишките на делителното вретено и изостава в екваториалната зона на делящата се клетка през анафаза (първична загуба на генетичен материал). Дицентричната хромозома образува анафазен (телофазен) мост, който може да се скъса и да се откъснат допълнителни фрагменти (вторична загуба на гени). Формираните гамети най-често са нежизнеспособни.

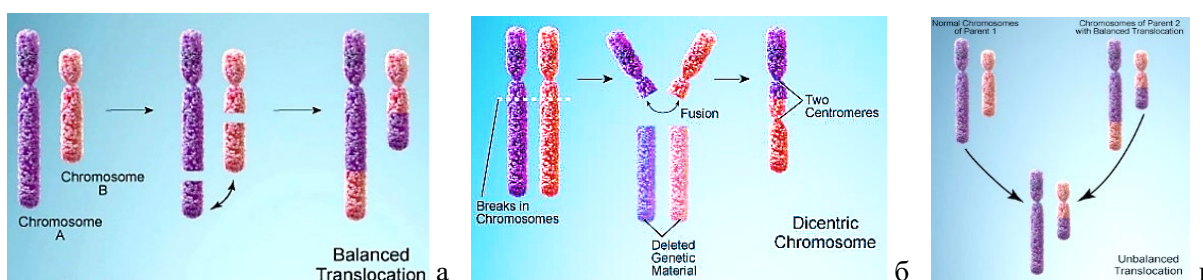
Инсерция. При този тип аберации става преместване на сегмент от едно място на друго място в хромозомата без да настъпва обръщане на 180° . Това води до ново съчетание на гените и може да промени първоначалните им свойства.

При **междухромозомните аберации** структурните промени засягат едновременно повече от една хромозоми. **Транслокация** е аберация с размяна на фрагменти между нехомоложни хромозоми, при което генетичният материал се преразпределя между тях, променят се генният състав и групите на скачване. Когато след размяната на участъци всяка хромозома има по един центромер, транслокацията е **симетрична (еуцентрична, Фиг.8а)**, а когато възникват ацентрична и дицентрична хромозоми, транслокацията е **несиметрична (анеуцентрична, Фиг.8б)**. Симетричните транслокации може да преминат през етапите на мейоза и митоза, и се предават в голям брой поколения, докато несиметричните транслокации имат летален изход.

Транслокацията е **реципрочна (балансирана, Фиг.8а)**, когато при размяната всяка хромозома дава и приема участък или **небалансирана**, когато само едната хромозома има транслоциран фрагмент (Фиг. 8в). При **Робертсоновите транслокации** става сливане на хромозоми в центромерните региони (Фиг. 9). Обикновено този тип аберация засяга акроцентрични хромозоми.



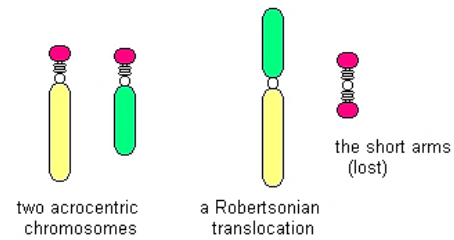
Фигура 7. Парацентрична и перицентрична инверсии.



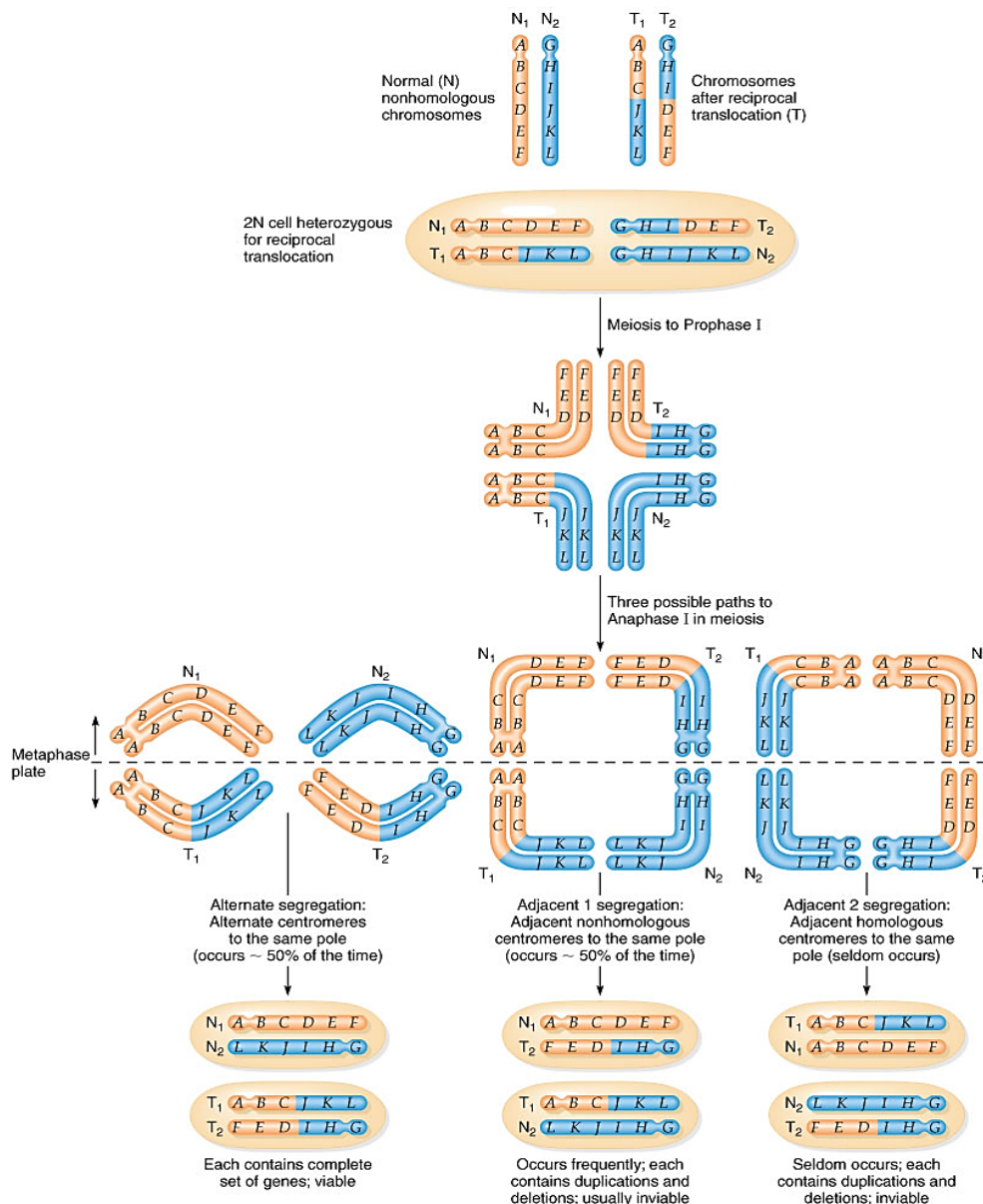
Фигура 8. Симетрична балансирана (а), несиметрична (б), небалансирана (в) транслокации.

Транслокациите променят групите на скачване и това води до дисбаланс в генотипа. Обикновено хетерозиготните транслокации (едната хромозома от хомоложната двойка е транслоцирана, а другата е нормална) са жизнеспособни, а хомозиготните транслокации (двете хромозоми от хомоложната двойка са транслоцирани) често имат летален ефект.

При хетерозиготни по транслокация индивиди през мейоза (зиготен, профазал) транслоцираните хромозоми конюгира по специфичен начин. В четирите хромозоми има хомоложни генни участъци, които конюгира помежду си и се формира кръстообразна структура (тетравалент, Фиг.10). През диакинез, при терминализация на хиазмите, хромозомите от тетравалента с еднаква вероятност образуват структура, подобна на пръстен или структура, подобна на числото 8. При пръстеновидната конфигурация на хромозомите, през следващата анафаза към всеки от полюсите на делителното вретено се придвижат по една нормална и една транслоцирана хромозоми. В резултат се образуват гамети, в чиито ядра едни гени са дуплицирани, а други липсват. Такива гамети са нежизнеспособни или ако участват в оплождане не се формира жизнеспособна зигота (стерилни гамети).



Фигура 9. Робертсонова транслокация.



Фигура 10. Поведение на хромозомите през мейоза при хетерозиготна транслокация.

При осморковидна конфигурация на хромозомите, през анафаза двете нормални хромозоми се придвижат към единния полюс на делителното вретено, а двете транслоцирани хромозоми – към другия полюс. В резултат всяка гамета има пълния набор гени и при оплождане се формира жизнеспособна зигота (фертилни гамети). Това е причината при хетерозиготни по транслокация индивиди да се наблюдава полустерилност (или понижена фертилност).

Хромозомните мутации нарушават генния баланс, което води до възникването на хромозомни болести. Най-голямо медицинско значение имат делециите. Обикновено в хомозиготно състояние делециите имат летален ефект или са свързани с развитието на тежки физически и психически увреждания.

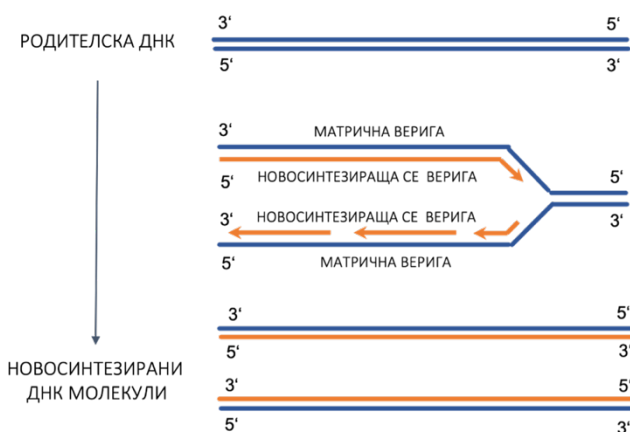
Репликацията на ДНК е процес на самовъзпроизвеждане на ДНК, при който в клетката се образуват две идентични копия на една ДНК молекула преди клетъчното делене, като гарантира, че всяка дъщерна клетка получава точно копие на генетичния материал. Този процес е от съществено значение за растежа, възстановяването и възпроизводството на живите организми.

1. Полуконсервативен механизъм

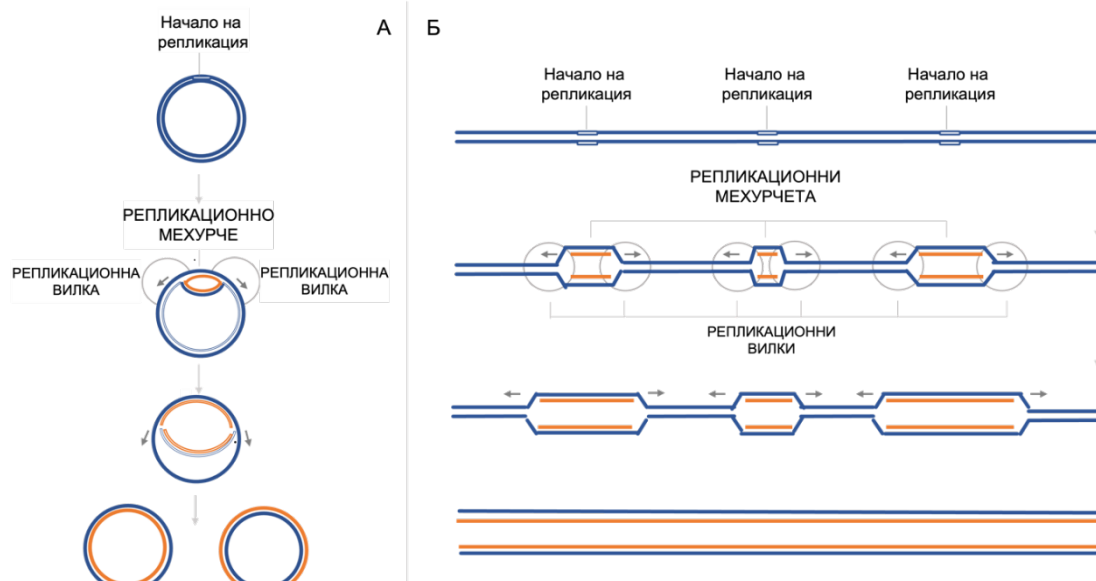
Репликацията на ДНК се извършва чрез **полуконсервативен механизъм**, при който всяка от двете вериги на двойната спирала на родителската ДНК молекула служи като матрица (шаблон) за синтеза на нова дъщерна ДНК верига (Фигура 1). В резултат на това се образуват две напълно идентични дъщерни ДНК молекули – всяка молекула съдържа една родителска верига и една дъщерна новосинтезирана верига.

2. Репликон

Репликонът е област на ДНК, в която се извършва един акт на репликация. Основен регулаторен елемент на репликацията е уникална секвенция наречена **начало на репликация**, в която се инициира самия процес. Бактериалната хромозома съдържа едно начало на репликация и следователно цялата бактериална хромозома представлява един репликон (Фигура 2). Хромозомите на археи и еукариоти могат да имат множество начала на репликация и така техните хромозоми могат да се състоят от множество репликони.



Фигура 1. Полуконсервативен механизъм на репликация



Фигура 2. Репликон. А. Бактериалната хромозома има едно начало на репликация и един репликон (тита-модел на репликация). Б. Еукариотните хромозоми имат множество начала на репликация и репликони.

В сравнение с прокариоти, еукариотните репликони са по-къси и скоростта на репликация е много по-бавна. Не всички репликони започват репликация по едно и също време, но иницирането на репликация в различни репликони се извършва по регулиран начин през S фазата на клетъчния цикъл. Точката, в която веригите на родителската ДНК се разделят локално и се извършва репликация (добавят се нови нуклеотиди), се нарича **репликационна вилка**.

Репликацията на ДНК може да бъде **еднопосочна или двупосочна**, в зависимост от това дали репликацията продължава от началото на репликация само в една посока или в двете посоки. При двупосочната репликация се формират две репликационни вилки, които се движат в противоположна посока. По този начин се извършва репликацията в бактериалните и еукариотните репликони. При еднопосочната репликация се формира една репликационна вилка, която се движи еднопосочно. Пример за еднопосочна репликация е тази на митохондриалната ДНК (мтДНК) при гръбначни животни, където две трети от митохондриалната ДНК се реплицира еднопосочно.

3. ДНК полимерази

ДНК-зависимите ДНК-полимерази са мултисубединични ензими, които катализират синтеза на нова ДНК, използвайки съществуваща ДНК верига като матрица. Всички ДНК-полимерази използват четирите дезоксирибонуклеозидтрифосфата – дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ като субстрати и вграждат дезоксирибонуклеозидмонофосфати – дАМФ, дГМФ, дЦМФ и дТМФ в нарастващата ДНК верига. Синтезът изисква едноверижна ДНК матрица, която определя последователността на новосинтезираната верига съгласно правилото за комплементарност на базите (А–Т и Г–С).

ДНК синтезът се извършва чрез удължаване на 3'-края на новосинтезиращата се веригата. Синтезът на ДНК се извършва в посока от 5'-края към 3'-края чрез присъединяване на дНМФ към 3'-края на новосинтезиращата се веригата. 3'-ОН групата на растящата верига действа като нуклеофил, който атакува α -фосфата на входящия дНТФ, което води до образуването на фосфодиестерна връзка и освобождаването на пирофосфат – **5'-3' синтетична активност**.

ДНК-полимеразите не могат да инициират синтеза *de novo*, а удължават предварително съществуващ **РНК праймер**, който осигурява свободна 3'-хидроксилна (3'-ОН) група. Каталитичният механизъм на ДНК-полимеразата се изразява в образуване на фосфодиестерна връзка между 3'-ОН групата на последния нуклеотид от растящата верига и α -фосфатната група на постъпващия дНТР. 3'-ОН групата действа като нуклеофил и атакува α -фосфата, при което се освобождава пирофосфат. В резултат удължаването на ДНК става единствено в 3'-края на веригата и синтезът протича в посока 5'→3'.

Много ДНК-полимерази притежават и 3'→5' екзонуклеазна коригираща активност, чрез която отстраняват неправилно вградените нуклеотиди. Тази активност повишава точността на репликацията и значително намалява честотата на грешки в новосинтезираната ДНК.

При бактериите са описани пет различни ДНК полимерази, всяка със специализирани функции. ДНК полимеразата III е основният ензим, отговорен за репликацията на хромозомата, осигурявайки висока процесивност и корекция на грешки, необходими за точната репликация на генома. ДНК полимеразата I основно премахва РНК праймерите и запълва получените празнини, докато останалите полимерази (II, IV и V) участват главно в поправка на ДНК и транслезионна синтеза, позволявайки на клетката да се справя с увреждания на ДНК.

При еукариотите ситуацията е по-сложна, като са идентифицирани поне 14 различни ДНК полимерази. Сред тях ДНК полимерази α , δ и ϵ са основни за репликацията на ядрена ДНК: полимеразата α започва репликацията чрез синтезиране на кратък РНК-ДНК праймер, полимеразата ДНК полимеразата δ и ДНК полимеразата ϵ участват в синтеза на новите вериги. Другите еукариотни полимерази са специализирани за поправка на ДНК, транслезионна синтеза, митохондриална репликация и рекомбинация, което подчертава разделението на функциите и специализацията, необходими за поддържането на стабилността на генома при по-големи и по-сложни организми.

4. Основни етапи на репликацията

4.1. Инициация

Включва разпознаване на репликационното начало от комплекс от протеини, разделяне на родителските вериги и стабилизирането им в едноверижно състояние, при което се създава репликационно мехурче.

При прокариоти, репликацията започва от едно начало на репликация (*oriC* при *E. coli*). Инициаторни протеини като DnaA се свързват с тази област и разплитат ДНК, образувайки репликационно мехурче. Хеликазата допълнително развива ДНК, създавайки репликационна вилка. Протеини, които стабилизират единичните вериги, защитават разплетената ДНК. Праймазата синтезира кратки РНК праймери, които служат за начало на синтеза на ДНК.

При еукариоти, репликацията започва на множество места (множество начала) по линейните хромооми, за да се ускори процесът. Иницирането е по-сложно и е свързано към клетъчния цикъл. Преди репликация хроматиновата структура се разопакова, за да може ензимите да имат достъп. Синтезът на ДНК веригите се стартира от комплекс на ДНК полимеразата α и праймазна субединица (Полимераза α /Праймаза). Праймазната субединица синтезира РНК секвенция с дължина около 7 нт, към която ДНК полимеразата прибавя 20-25 нт, образувайки т. нар инициаторна ДНК (иДНК). Инициаторната реакция е рискова тъй като ДНК полимеразата α не притежава редактираща активност за поправка на грешни нуклеотиди. РНК праймерът и по-голяма част от иДНК се подменят на по-късен етап.

Основният **контрол на ДНК репликацията** се осъществява на етапа на инициация, когато началата на репликация се активират само веднъж за клетъчен цикъл.

В прокариотите ДНК метилирането играе важна роля в контрола на ДНК репликацията, като осигурява времева информация за новосинтезираната ДНК. След репликацията родителската ДНК верига остава метилирана, докато новосинтезираната дъщерна верига първоначално е неметилирана, което води до хемиметилирано състояние. Това хемиметилиране не е случайно, а служи като регулаторен сигнал в клетката. В началото на репликацията, например в *oriC* при *E. coli*, хемиметилираната ДНК се разпознава от специфични протеини, които временно блокират повторното инициране на репликацията. Това забавяне гарантира, че репликацията започва само веднъж за всеки клетъчен цикъл, като по този начин се предотвратява свръхрепликация на генома. С течение на времето ДНК-аденин метилтрансферазата (Dam) метилира новосинтезираната верига, възстановявайки пълното метилиране и позволявайки началото да стане компетентно за следващия кръг на репликация. По този начин ДНК метилирането действа като молекулярен времеви механизъм, който помага за координирането на ДНК репликацията с бактериалния клетъчен цикъл и за поддържането на геномната стабилност.

Контролът на ДНК репликацията при еукариотите гарантира, че всяка хромозома се копира само веднъж за всеки клетъчен цикъл. Репликацията започва от множество начала, които преминават през следните етапи:

- **Лицензиране:** Това се случва по време на G1 фазата, когато комплексът за разпознаване на началото на репликацията, Cdc6 и Cdt1 зареждат MCM хеликазата върху ДНК. Тази стъпка на лицензиране е възможна само при ниска активност на циклин-зависимите кинази (CDK). В този момент началото е „лицензирано“, но неактивно – готово за репликация, но самото копиране на ДНК още не е започнало.
- **Активиране на началото:** Това се случва по време на S фазата, когато активността на CDK е висока. Високата CDK активност (заедно с DDK) активира лицензираната хеликаза MCM, като привлича останалите компоненти на репликационния апарат, и започва действителният ДНК синтез.

Повторната репликация се предотвратява чрез CDK-зависимо инхибиране на факторите за лицензиране и чрез инхибитора геминин, който блокира повторното зареждане на MCM комплекса. Допълнителен контрол се осъществява от контролни (checkpoint) пътища, които реагират на увреждания на ДНК или на репликационен стрес.

4.2. Удължаване

Удължаването на новосинтезиращата се ДНК се извършва от друг комплекс от протеини, означаван като – **реплизома**, основен компонент на който е **ДНК полимеразата**. При придвижването на реплизомата по протежение на ДНК, родителските вериги се развиват и дъщерните вериги се синтезират от ДНК полимеразата, която катализира добавянето на нуклеотиди към нарастващите ДНК вериги.

Тъй като родителските вериги са ориентирани в противоположни посоки, репликацията протича по различен начин за всяка от новосинтезираните вериги – едната верига се синтезира непрекъснато, а другата – на части (*Фигура 3*).

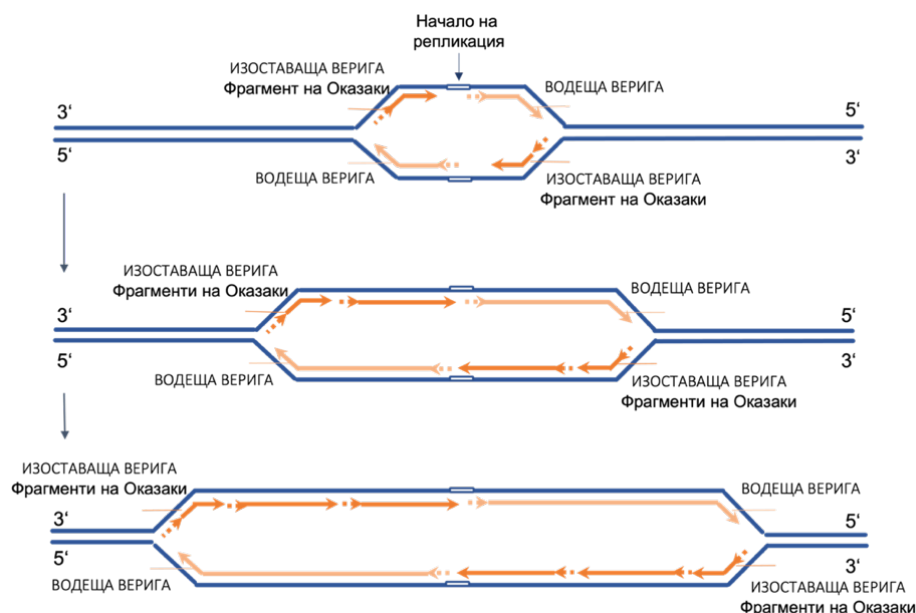
Водеща верига:

- тя се синтезира непрекъснато,
- образува се в същата посока, в която се отваря репликационната вилка,
- необходим е само един РНК праймер,
- ДНК полимеразата следва вилката а и добавя нуклеотиди без прекъсване.

Изооставаща верига:

- тя се синтезира на части (прекъснато).
- образува се в противоположна посока спрямо движението на репликационната вилка.
- необходими са много РНК праймери.
- ДНК се синтезира в къси участъци, наречени фрагменти на Оказаки.

Всеки фрагмент се синтезира в единствено възможната за ДНК полимеразата посока $5' \rightarrow 3'$. Дължината на фрагментите е между 1000 – 2000 нт при прокариоти и 150 – 200 нт при еукариоти. При прокариоти, ДНК полимеразата III синтезира и двете вериги – водещата и изоставащата. При еукариоти, включват се няколко две ДНК полимеразы – ДНК полимеразата ϵ и ДНК полимеразата δ , които удължават съответно водещата и изоставащата верига. Оказаки фрагментите са по-къси, а хроматиновият контекст добавя допълнителна сложност.

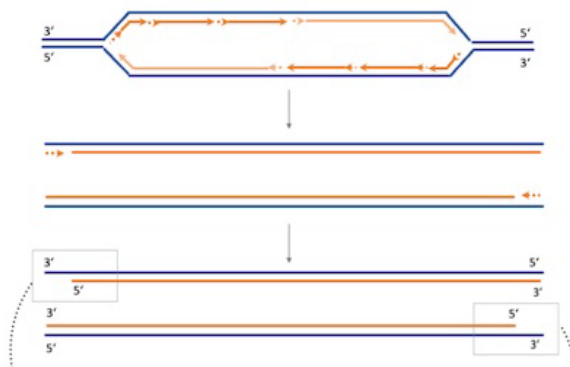


Фигура 3. Синтез на ДНК – непрекъснат и прекъснат синтез. Водещата верига се синтезира непрекъснато, а изоставащата верига се синтезира чрез фрагментите на Оказаки.

4.3. Приключване

При прокариоти, ДНК полимеразата I премахва РНК праймерите чрез своята $5' \rightarrow 3'$ екзонуклеазна активност, като едновременно разгражда праймера и го замества с ДНК нуклеотиди. ДНК лигаза след това запълва прекъсванията, завършвайки присъединяването на Оказаки фрагментите. Когато репликационни вилки се доближат, реплизомата се отделя и се финализира репликацията. При еукариоти, RNase H за премахва РНК праймерите, следва запълване на празнините от ДНК полимеразата δ и свързване на фрагментите от ДНК лигаза I.

При еукариоти, репликационните вилки се срещат и завършват в множество точки по хромозомите. Когато репликацион-



ната вилка се приближи до края на линейната хромозома възниква сериозен проблем: въпреки че водещата верига може да бъде реплицирана чак до края на хромозомата, изоставащата верига не може. Когато последният РНК праймер върху изоставащата верига се отстрани, няма начин той да бъде заменен.

Еукариотите могат да разрешат проблема, тъй като хромозомите завършват в двата края с теломери, съставени от повтарящи се нуклеотидни последователности. При човек, теломерите включват последователността 5'-TTAGGG-3', копията на която в някои човешки клетки могат да достигнат до 1500 – 2000 броя. Ключовият ензим, който предотвратява скъсяването на теломерите, е **теломеразата**. Теломеразите принадлежат към ензимния клас на обратните транскриптази, които създават едноверижна ДНК, използвайки едноверижна РНК като матрица. Ензимът носи къса молекула РНК, комплементарна на повтарящата се последователност в теломерите; тази РНК действа като матрица за синтеза на теломерна ДНК.

Транскрипцията е процес на пренос на генетичната информация от ДНК към РНК, който се извършва чрез синтез на РНК върху матрица ДНК. При прокариотите транскрипцията протича в цитоплазмата и може да се случва едновременно с транслацията. При еукариотите транскрипцията е в ядрото, а транслацията – в цитоплазмата, което пространствено и времево разделя двата процеса.

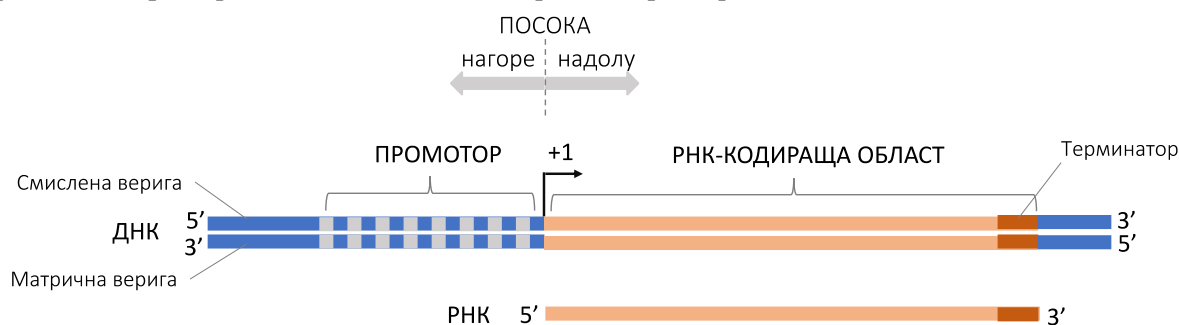
Процесът се катализира от ензима **ДНК-зависима РНК полимераза** (или само РНК полимераза). Ензимът се движи по едната верига на ДНК, която се нарича **матрична верига** и има 3'-5' поляритет, докато ДНК веригата с 5'-3' поляритет се нарича **смислена верига** (или кодираща). Новосинтезираната РНК е идентична със смислената ДНК верига с единствената разлика, че вместо тимин (Т) съдържа урацил (U).

1. Транскрипционна единица

Транскрипционната единица представлява участък от ДНК, който кодира една РНК молекула, заедно с всички последователности, необходими за осъществяване на нейната транскрипция. Тя включва три основни компонента: **регулаторна област (промотор), РНК-кодираща област и терминатор** (Фигура 1).

Нуклеотидът в кодиращата верига на ДНК, от който РНК-полимеразата започва транскрипцията и който съответства на първия нуклеотид на транскрибираната РНК, се нарича **транскрипционно начало** и се означава с +1. В повечето случаи стартовият нуклеотид е пурин (най-често аденин).

Спрямо транскрипционното начало се дефинират посоките в транскрипционната единица: посоката, съвпадаща с движението на РНК-полимеразата, се означава като **надолу по веригата**, а противоположната – като **нагоре по веригата**. При повечето гени промоторът е разположен непосредствено нагоре от транскрипционното начало. Той не се транскрибира, но има ключова регулаторна функция, тъй като към него се свързват РНК-полимеразата и съответните транскрипционни фактори, което води до инициране на транскрипцията.



Фигура 1. Транскрипционна единица

При еукариотите транскрипционната единица обикновено обхваща един ген и води до синтез на **моносистронна РНК**, докато при прокариотите тя често включва няколко гена и продуцира **полицистронна РНК**.

2. РНК полимерази

РНК-полимеразите са многосубединични ензими, които катализират синтеза на РНК, използвайки ДНК верига като матрица. При бактериите една РНК-полимераза осъществява транскрипцията на всички видове РНК, докато при еукариотите съществуват три основни ядрени РНК-полимерази. В растителната клетка се откриват още две РНК полимерази. Транскрипцията в митохондриите и пластидите се извършва от специфични за органелите РНК полимерази.

Всички РНК-полимерази използват четирите рибонуклеозидтрифосфата (АТР, ГТР, СТР и УТР) като **субстрати** и вграждат рибонуклеозидмонофосфати (NMP) в нарастващата РНК верига. Транскрипцията изисква ДНК матрична верига, която определя последователността на РНК съгласно правилата за комплементарност на базите (A-U и G-C).

За разлика от ДНК-полимеразите, РНК-полимеразите **могат да иницирират синтеза *de novo*** и не изискват праймер. По време на инициацията и удължаването РНК-полимеразата локално развива двойната ДНК спирала, като образува транскрипционен балон с размер приблизително 12–14 базови двойки. Само едната ДНК верига служи като матрица, докато нематричната (кодираща) верига е изместена.

Каталитичният механизъм включва образуването на фосфодиестерна връзка между 3'-хидроксилната (3'-ОН) група на нарастващата РНК верига и α -фосфатната група на постъпващия рибонуклеозидтрифосфат. 3'-ОН групата действа като нуклеофил и атакува α -фосфата, при което се освобождава пирогосфат. В резултат синтезът на РНК протича изключително в посока 5'→3'.

РНК-полимеразите не притежават собствена 3'→5' екзонуклеазна коригираща активност, сравнима с тази на ДНК-полимеразите. Поради това транскрипцията е по-малко точна от ДНК репликацията.

2.1. Прокариотна РНК полимераза

Каталитичното ядро на бактериалната РНК полимераза (**кор-ензим**) съдържа четири основни субединици – $\alpha 2\beta\beta'$. Свързването на **σ -фактора** към кор-ензима образува **холоензима** ($\alpha 2\beta\beta'\sigma$), който се насочва специфично към промотора (Таблица 1).

Таблица 1. Субединици на прокариотната РНК полимераза

Субединица	Функция
α	необходим за сглобяване на ензима; взаимодействие с активиращи протеини
β	участва в каталитичната реакция, неспецифично свързване на ДНК
β'	участва в каталитичната реакция, неспецифично свързване на ДНК
ω	помощна функция при сглобяване на ензима
$\sigma 70$	специфично свързване към промотора

Кор-ензимът сам по себе си катализира полимеризацията, но се свързва с ДНК слабо и без да различава последователности. σ -факторът придава специфичност, осигурява стабилно свързване към промотора и локално разплитане на ДНК, така че транскрипцията да започне в началото на гена.

В бактериите съществуват **множество σ -фактори**, които насочват кор-ензима към различни групи гени. В *E. Coli*, $\sigma 70$ е основният σ -фактор в растящи клетки и контролира транскрипцията на повечето гени за основни клетъчни функции и метаболитни пътища.

2.2. Еукариотни РНК полимераз

- **РНК полимераза I** транскрибира гените на рибозомната РНК (28S, 5.8S и 18S рРНК), с изключение на гена на 5S рРНК. 18S, 5.8S и 28S рРНК обикновено са кодирани в една транскрипционна единица). Тази единица се транскрибира от РНК полимераза I и произвежда предшественик на рРНК, която впоследствие се обработва в тези три вида рРНК. Синтезът на рРНК се извършва в ядрцето, което е специализирана област в ядрото на еукариотните клетки. Ядрцето служи като място за транскрипция на рРНК и участва в обработката и сглобяването на рибозомни субединици.
- **РНК полимераза II** транскрибира всички протеин-кодиращи гени, както и множество гени за некодиращи РНК молекули като микроРНК и малки ядрени РНК (участващи в сплайсинга). РНК полимераза II е изключително чувствителна към токсина алфа-аманитин.
- **РНК полимераза III** транскрибира повечето от малките клетъчни РНК, включително тРНК и споменатата по-горе 5S РНК.

Сухоzemните растения притежават две допълнителни полимераз, РНК полимераза IV и РНК полимераза V. РНК полимераза IV произвежда къси интерфериращи РНК с дължина 24 нт, които взаимодействат с транскрипти на РНК полимераза V, за да контролират *de novo* метилирането на ДНК и заглушаването на транскрипцията на подвижните елементи (транспозони) в растителните геноми.

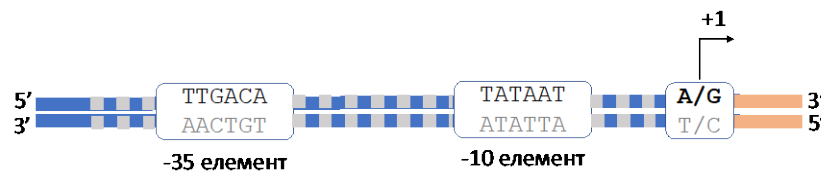
За разлика от прокариотната РНК полимераза, при която σ -факторът разпознава промотора и иницира транскрипцията, при еукариотите специфични **общи транскрипционни фактори** медиатират свързването на всяка РНК полимераза с нейния промотор.

3. Основни етапи на транскрипцията

3.1. Инициация на транскрипцията

Започването на транскрипцията е особено **критичен етап**, тъй като това е основната точка, в която клетката избира кои протеини или РНК да бъдат произведени. За да започне транскрипцията, РНК полимеразата трябва да може да разпознае промотора и да се свърже здраво с ДНК на това място. Създава се **транскрипционното мехурче** чрез локално развиване на ДНК в областта на свързване на РНК полимеразата. Начинът, по който РНК полимеразите разпознават промотора, се различава между прокариоти и еукариоти.

При прокариоти, **типичният бактериален промотор** съдържа два консервативни елемента: **-35 елемент** с консенсусна последователност TTGACA и **-10 елемент** (Pribnow box) с консенсусна последователност TATAAT, разположени приблизително на 35 и 10 нуклеотида нагоре от транскрипционното начало +1 (Фигура 2). Свързването на σ -фактора с промотора осигурява правилното позициониране на ензима и точното начало на транскрипцията.

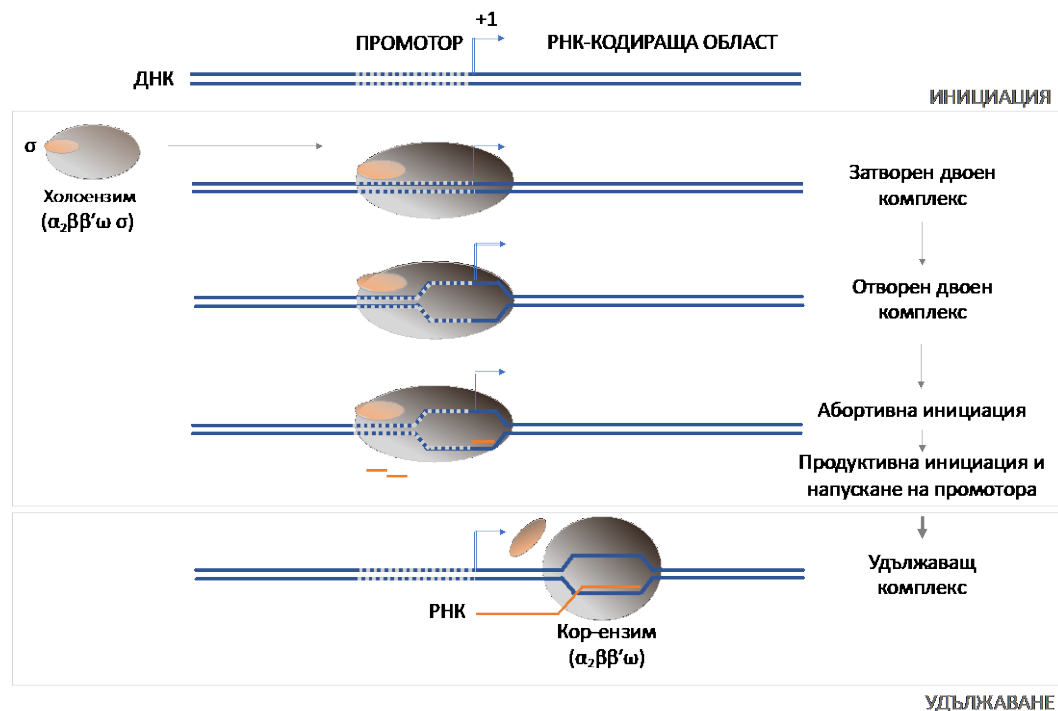


Фигура 2. Бактериален промотор

Транскрипцията започва, когато σ -факторът на РНК полимеразата разпознава промотора и се формира **затворен комплекс** с двойноверижна ДНК (Фигура 3). След локално разплитане на около 15 нуклеотида се образува **отворен комплекс** и **транскрипционно мехурче**, в което едната верига служи като матрица и първите два рибонуклеотида се свързват с фосфодиестерна връзка.

В началото полимеразата многократно започва и прекъсва синтеза, образувайки къси олигонуклеотиди – **абортивна инициация**. Инициацията става **продуктивна**, когато ензимът удължи РНК веригата достатъчно и напусне промотора, като така се осигурява стабилно и правилно ориентирано започване на синтеза на пълния транскрипт.

Дълго време се е смятало, че σ -факторът задължително напуска кор-ензима, след като е иницирал транскрипция. Днес се счита, че σ -факторът променя свързването си с кор-ензима през двата етапа на транскрипция – инициация и удължаване, преминавайки от състояние на здраво свързване по време на инициацията към състояние на хлабаво свързване по време на удължаване.



Фигура 3. Инициация на транскрипцията при прокариоти

При еукариоти, достъпът до ДНК се контролира от хроматиновата структура, затова началото на транскрипцията често изисква **хроматиново ремоделиране**, което „разхлабва“ нуклеозомите и позволява на ензимите да достигнат промотора.

Еукариотните промотори имат модулна организация – съставени са от няколко функционални блока, които заедно определят къде, кога и колко силно ще се транскрибира даден ген:

- Кор-промотор – минимална последователност около транскрипционното начало (често с ТАТА за РНК полимеразата II), която осигурява сглобяване на преинициращия комплекс.
- Проксимални елементи – къси регулаторни мотиви близо до кор-промотора, фино настройващи неговата активност.
- Дистални елементи – усилватели и заглушители, отдалечени от кор-промотора, комуникиращи с него чрез транскрипционни фактори.

Докато бактериалната РНК полимеразата разпознава промотора с помощта на единствен фактор, σ -фактора, еукариотните РНК полимерази не могат да разпознават промотора. При еукариоти и археи няма σ -фактори, вместо тях РНК полимеразите използват множество **главни транскрипционни фактори**, които взаимодействат както помежду си, така и с РНК полимеразата. Ролята на тези фактори е да разпознаят промотора и да иницират транскрипцията като позиционират ензима върху промотора и иницират формирането на **преинициращия комплекс**.

3.2. Удължаване на транскрипта

След успешно включване на първите нуклеотиди РНК полимеразата преминава в етап на удължаване на транскрипта. Ензимът напуска промотора, движи се по ДНК матрицата и последователно добавя правилно подобрени рибонуклеотиди към нарастващата РНК верига чрез образуване на фосфодиестерни връзки. Полимеразата поддържа малко транскрипционно мехурче с разплетена ДНК и кратък РНК-ДНК хибрид, като постоянно развива двойната спирала пред себе си и я възстановява зад себе си. При своето движение по матрицата, РНК полимеразата открива нови области за комплементарно свързване. Така по веригата на ДНК се движи един локално-разплетен хибриден участък, след който двете вериги се затварят.

3.3. Прекратяване на транскрипцията

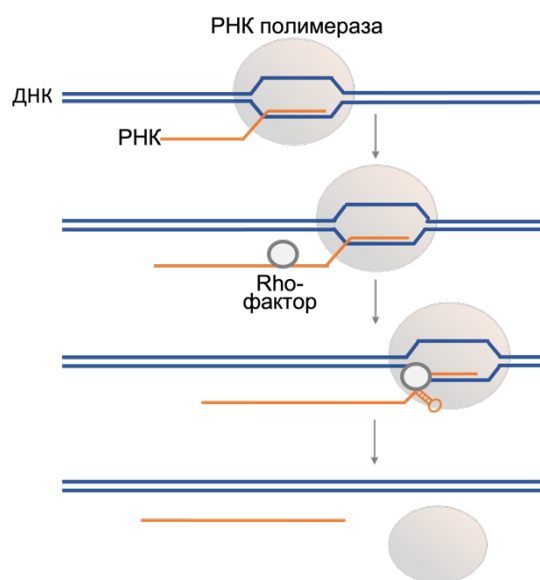
При прокариоти, прекратяването става чрез един от двата добре характеризирани механизма, които изискват образуването на фуркетни структури във вторичната структура на РНК.

При **Rho-зависима терминация**: РНК съдържа участък за свързване на АТФ-зависимата хеликаза **rho-фактор**. След свързването си rho-факторът се придвижва по транскрипта, „преследвайки“ РНК полимеразата. Терминиращото място образува бримка в края на транскрипта, която забавя полимеразата, позволявайки на rho-фактора да развие РНК:ДНК дуплекса, да измести полимеразата и да прекрати транскрипцията.

При **Rho-независима терминация**: Терминаторът съдържа палиндромна последователност и участък, богат на аденини. Транскрибираният палиндром образува стабилна бримка в РНК, последвана от урацилови остатъци, което отслабва взаимодействието с ДНК и полимеразата и предизвиква отделяне на РНК.

При еукариоти, прекратяването на транскрипцията е по-сложно и включва специфични последователности и протеини, които разпознават крайния сигнал.

При прокариоти продуктът на транскрипцията е иРНК, която не се модифицира и бързо се включва в транслацията. При еукариоти първичният транскрипт (пре-иРНК) преминава задължителни **пост-транскрипционни модификации**: **5'-кепиране**, **сплайсинг** (премахване на интрони и свързване на екзони) и **полиаденилиране на 3'-края**, за да се образува зряла иРНК, която напуска ядрото.



Фигура 4. Rho-зависимо прекратяване на транскрипцията при прокариоти

Типове РНК вирусни геноми

Вирусните РНК геноми са едноверижни или двуверижни с размери от 3 – 33 кб и могат да бъдат линейни, сегментирани и рядко пръстеновидни. Класификацията им се базира на способността на геномната РНК да служи като информационна РНК (иРНК). Плюс-сенс РНК (+РНК, Група IV по Baltimore класификацията) са едноверижни геноми, които директно служат като иРНК за транслация (пикорнавируси, коронавируси). Минус-сенс РНК (-РНК, Група V по Baltimore) са едноверижни геноми, които изискват РНК зависима РНК полимераза (RdRp) за транскрипция на иРНК (инфлуенца, бяс). Амбисенс РНК геномите са едноверижни и съдържат участъци, част от които директно служат като иРНК, а други изискват предварителна транскрипция от RdRp (аренавируси). Двуверижните РНК вируси (Група III по Baltimore) транскрибират (-) РНК веригата от РНК дууплекса в иРНК с помощта на RdRp, която се носи вътре в капсида (напр. реовируси), докато ретровирусите (РНК-ОТ, Група VI по Baltimore) превръщат геномната (+) РНК в ДНК чрез обратна транскриптаза (ОТ) (напр. HIV).

Особености на вирусните РНК

РНК вирусните геноми съдържат една или повече отворени рамки на четене (ORF), кодиращи структурни и функционални белтъци, както и регулаторни елементи, които контролират експресията на гените. Основните *cis*-регулаторни последователности се намират в 5' и 3' UTR, където образуват вторични (стъбла-бримки) и третични (псевдовъзли) структури, разпознавани от вирусни и клетъчни ензими. Тези елементи осигуряват координирано превключване между репликация, транскрипция и транслация на вирусната РНК. Някои РНК вируси притежават терминални структури като 5' кеп и поли(А) опашка на 3'-края, подобно на еукариотните иРНК, докато други имат алтернативни модификации на краищата, като ковалентно свързан вирусно-кодирани белтък на 5'-края (Picornaviridae) или tРНК-подобни елементи на 3'-края (Togaviridae), които също повишават стабилността на РНК, улесняват транслацията и участват в инициацията на РНК синтеза. Последователности в интергенните региони също имат регулаторна функция – те съдържат субгеномни промотори със структурни мотиви, разпознавани от вирусната RdRp за синтез на субгеномни РНК. Много линейни РНК геноми имат директни терминални повтори (DTR) или обърнати повтори (IR), които подпомагат стабилността и репликацията.

Механизми на репликация и транскрипция на РНК вирусни геноми

(+) РНК вируси

При много (+) РНК вируси репликацията на генома изисква координирано действие на вирусни ензими като RdRp, хеликази с НТФаза активност, ензими за кепиране на РНК, както и неензимни вирусни белтъци, които подпомагат сглобяването и стабилизирането на репликационния комплекс. Белтъци на клетката гостоприемник често имат ключова роля за ефективната репликация на (+) РНК вируси. В инфектираните с голяма част от тези вируси клетки вътреклетъчните мембрани претърпяват ремоделиране, при което се формират специфични зони за прикрепване на вирусните репликационни комплекси; заедно с натрупващите се вирусни компоненти в тези места се образуват вирусни фабрики (виروплазми). При пикорнавирусите тези мембрани произхождат от ендоплазматичния ретикулум, при тогавирусите – от ендозомални мембрани, а при тобамовирусите – от хлоропластни мембрани. Модифицираните мембрани улесняват сглобяването и функционирането на вирусните репликационни комплекси, защитават вирусните РНК от клетъчния контрол и осигуряват пространствена организация и компартментализация на процесите на репликация и транскрипция, както и координация с транслацията и асемблирането.

RdRp на (+) РНК вирусите притежава характерна структура състояща се от три домена наподобяващи- „пръсти“, „длан“ и „палец“ на „дясна ръка“. Доменът „длан“ включва централен четири-верижан β -лист и пет силно консервативни мотива (A–E). Мотиви A и C, съдържащи мотивите – DxxxxD– и –GDD–, имат ключова роля в координацията на метални йони и в осигуряването на специфичност при вграждането на нуклеотидите по време на каталитичната реакция. Домените

„пръсти“ и „палец“ затварят активния център на ензима. RdRp синтезира новата геномна РНК верига в посока 5' → 3'. Инициацията обикновено протича терминално от 3'-края на матричната РНК.

Механизмите за инициране на репликацията при (+) РНК вирусите са два – праймер-зависим и *de novo* (без праймер). При праймер-зависимия механизъм РНК-зависимата РНК полимераза може да използва РНК фрагмент (рядко срещан при (+) РНК вирусите) или белтъчен праймер. Най-характерният пример за белтъчен праймер е VPg (viral protein, genome-linked). VPg осигурява тирозинова 3'-хидроксилна група за ковалентно свързване на първия нуклеотид и служи като белтъчен праймер за инициация на синтеза на РНК при вируси от семейство *Picornaviridae*, например poliovirus. При *de novo* инициация RdRp започва синтеза на РНК директно чрез стабилизиране на първите нуклеозидтрифосфати в активния си център, без използване на праймер. Инициаторният НТФ, който често е гуанин трифосфат (ГТФ), осигурява 3'-ОН група за следващия нуклеотид. Този механизъм е характерен за вируси от семейства *Flaviviridae*, *Togaviridae* и *Coronaviridae*.

Инициация на РНК синтеза може да се наблюдава и във вътрешни участъци на генома, при което много едноверижни (+) РНК вируси синтезират субгеномни РНК (sgRNA) – по-къси РНК вериги, производни на генома, които служат като матрици за транслация на вътрешни рамки на четене, най-често кодиращи структурни белтъци. Субгеномните РНК се произвеждат чрез различни механизми. Първият е вътрешна инициация на транскрипция върху минус-вериги, която изисква специфични вътрешни промотори. Вторият механизъм е преждевременно прекъсване на синтеза на минус-веригата, при което РНК полимеразата отпада, синтезът е частичен и води до образуване на по-къси РНК молекули. Третият механизъм е прекъснат синтез, при който полимеразата превключва позиции и образува химерни транскрипти с лидерна последователност.

По време на репликацията на (+) РНК вируси са изолирани два основни типа РНК структури: 1) Първият тип структура е репликативната форма (RF) – напълно сдвоена двойноверижна РНК, която се формира, когато RdRp синтезира комплементарна (–) РНК върху геномната (+) РНК. Вторият тип е репликативният интермедиат (RI) – частично двойноверижни структури, при които (–) веригата служи като матрица за синтез на няколко нарастващи (+) вериги.

RdRp на РНК вирусите нямат коригираща нуклеазна активност, което води до висока честота на мутации (1 на $10^3 - 10^7$ нуклеотида) и формиране на популации от подобни но не идентични вирусни геномни варианти – „квазивидове“.

(–) РНК вируси

РНК (–) вирусните геноми са плътно опаковани с нуклеопротеин, формирайки рибонуклеопротеинов комплекс (РНП/нуклеокапсид), който служи като матрица за вирусната РНК репликация и транскрипция. Някои представители притежават липидна обвивка, която придобиват от гостоприемника, докато други са без обвивка. Съставът на репликационния апарат се различава при сегментираните и несегментираните (–) РНК вируси, което определя и различните механизми на регулация на транскрипция и репликация при двата типа вируси.

Сегментирани (–) РНК вируси

Геномът на вируса на инфлуенца А е сегментиран и се състои от осем РНК молекули, всяка от които формира вирионен РНП комплекс, включващ едноверижна РНК, нуклеопротеин и хетеротримерна РНК-зависима РНК полимераза, съставена от субединиците PB1, PB2 и PA със строго специализирани каталитични функции. Този РНП комплекс функционира като матрица както за транскрипцията, така и за репликацията на вирусния геном.

За инициацията на синтеза на вирусни иРНК RdRp използва като праймер къс кепиран РНК фрагмент (10 – 15 нуклеотида), произхождащ от клетъчни иРНК, генериран чрез вградената ендонуклеазна активност на една от субединиците на полимеразния комплекс. Този механизъм на присвояване на кеп структурата „cap-snatching механизъм“ осигурява на вирусните транскрипти кеп, който им позволява да се конкурират за транслационни ресурси на гостоприемника. При завършване на транскрипцията, RdRp достига последователност от няколко урацила (U) близо до 3' края на РНК матрицата и „засяда“ многократно копирайки U, при което синтезира поли (А) опашката на иРНК. Този „stuttering“ механизъм обяснява синтеза на поли (А) опашка, която гарантира стабилност и транслационна ефективност на вирусните иРНК.

При репликацията RdRp синтезира новите геномни РНК без праймери чрез *de novo* инициация. За да предотврати преждевременното спиране и полиаденилиране по време на геномната РНК синтеза, вирусът използва нуклеопротеина като регулатор. Свободният нуклеопротеин е

критичен за ефективната репликация на вирусната РНК, вероятно защото (1) взаимодейства с полимеразата и модифицира нейния режим на действие, и/или (2) защитава новообразуваната комплементарна (+) РНК от деградация чрез формиране на РНП структури. Смята се, че вирусната транскрипция се катализира предимно от полимеразата, асоциирана с първоначалния вирусен РНП комплекс, докато репликацията се осъществява основно от новосинтезираните полимеразни молекули. Специфичното свързване на полимеразата с 5'-края на новообразуваните вирусни РНК улеснява сглобяването на допълнителни молекули нуклеопротеин и така осигурява селективното опаковане на вирусна РНК.

Някои сегментирани (-) сенс РНК геноми използват амбисенс кодираща стратегия като носят в един и същ РНК сегмент две отворени рамки на четене (ORF) в противоположна ориентация, разделени от интергенен регион. Генът, разположен върху (-) веригата, се транскрибира директно в иРНК от геномната РНК, докато генът върху (+) веригата се експресира от иРНК, синтезирана върху комплементарната (антигеномна) РНК. Тази амбисенс стратегия позволява два гена да бъдат кодирани в един сегмент и така увеличава кодиращ капацитет на вирусния геном.

Несегментирани (-) РНК вируси

Вируса на везикуларен стоматит (Vesicular stomatitis virus- VSV, *Rhabdoviridae*) е типичен представител на несегментираните РНК (-) вируси. Неговият геном е линеен и носи пет гена в посока от 3' към 5' края на геномната (-) РНК. Репликацията и транскрипцията на този вирус зависят от прецизно взаимодействие между три основни компонента: нуклеопротеин (N), който обвива геномната РНК; полимеразния ензим (L); и фосфопротеин (P), който доставя L-полимеразата до РНП комплекса и подпомага нейното функциониране. При VSV полимеразният ензим съдържа всички необходими ензимни активности за транскрипция и репликация на генома. Транскрипцията започва от 3' края на генома. L-полимеразата транскрибира първия ген, след което спира в интергенния сигнал (съставен от терминаращ сигнал, нетранслируем динуклеотид и старт сигнал). Следва освобождаване на синтезираната РНК и полимеразата може или да отпадне, или да започне транскрипция на следващия ген. Този „старт-стоп“ механизъм създава градиент на експресия: гени, разположени близо до 3' края, се транскрибират по-често, докато гените в 5'-края са по-малко експресирани. Това позволява на вируса да регулира количеството на всеки протеин спрямо неговата роля в жизнения цикъл и процесите на вирусно сглобяване. Превключването от транскрипция към репликация зависи от нивото на свободния N протеин. Когато има достатъчно N, той се свързва с новосинтезираните РНК и предотвратява преждевременното спиране на полимеразата. В този случай L продължава синтеза на пълната геномна РНК без прекъсване, използвайки *de novo* инициация (без праймер). Ако N е недостатъчен, полимеразата следва „старт-стоп“ сигналите и произвежда отделни информационни РНК за всеки ген.

Двуверижни РНК вируси

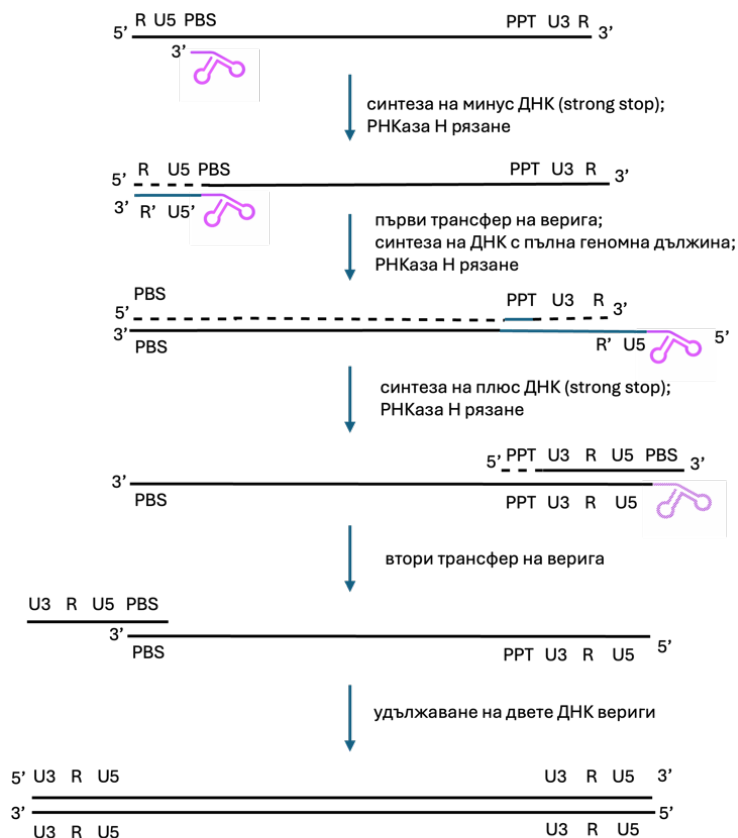
Броят на геномните сегменти при двуверижните РНК вируси варира от един до 12 в зависимост от вируса. При реовирусите геномът се състои от 10 – 12 двуверижни сегменти, всеки асоцииран с един RdRp комплекс, позволявайки паралелна транскрипция на всички сегменти във вириона. След проникване в клетката, външните капсидни слоеве се отстраняват и остава вътрешна „core“ частица, която защитава двуверижните РНК геноми и RdRp. Вътре в „core“ частицата, RdRp използва (-) веригата на всеки двуверижен РНК сегмент като матрица за синтеза на иРНК. Тази иРНК е кепирана на 5' края, което ѝ позволява след излизане през специфични канали във вириона да се транслира във вирусни белтъци. Новосинтезираната иРНК служи и като матрица за RdRp да синтезира нова (-) верига, образувайки нов двуверижен РНК геном. Новообразуваните двуверижни РНК молекули се пакетират с други вирусни компоненти образувайки зрели вириони в клетката гостоприемник.

Ретровируси

РНК генома на ретровирусите навлиза в цитоплазмата под формата на РНП комплекс, съдържащ вирусни белтъци и ензими. В този комплекс протича процесът на обратна транскрипция, при който вирусната РНК служи като матрица за синтез на линейна двуверижна ДНК. Синтезът на ретровирусната ДНК зависи от двете ключови ензимни активности на обратната транскриптаза (RT): ДНК полимеразна активност, способна да копира както РНК, така и ДНК матрици, и РНКаз

Н активност, която разгражда РНК веригата в РНК:ДНК хибрида. Както всички ДНК полимерази, RT се нуждае от праймер, който да осигури свободен 3'-ОН край за удължаване на веригата. Праймер за синтеза на минус ДНК верига, комплементарна на геномната РНК, е клетъчна тРНК (фигура 1). Тя се свързва с вирусния геном чрез сдвояване на своите 3'-крайни нуклеотида с комплементарна последователност- праймер свързващо място (primer binding site- PBS), локализирана близо до 5'-края на вирусната РНК. Геномната РНК съдържа къса повторена последователност R, разположена както в 5'-края ѝ, така и в близост до 3'-края преди поли(А) опашката; между R и PBS лежи участък U5, а непосредствено до 3' R региона – участък U3. Синтезът на минус ДНК верига започва от 3'-края на частично разплетената тРНК, хибридиизирана към PBS, и продължава до достигане на 5'-края на геномната РНК, като се формира междинен фрагмент с дължина (около 100 – 150 нуклеотида) –

„strong-stop“ минус ДНК верига. Частичното разграждане на РНК веригата в РНК: ДНК хибрида от РНКаза Н, позволява (–) ДНК фрагмента да се прехвърли и хибридизира към 3'-края на вирусната геномна РНК, което се отбелязва като първи трансфер на веригата. Този процес е възможен благодарение на идентичните повторени (R) последователности, присъстващи в двата края на РНК генома. След прехвърлянето на (–) ДНК фрагмента към R последователността на 3' края на вирусната РНК синтезът на минус ДНК веригата продължава, съпроводен от допълнителна, но непълна деградация на РНК матрицата от РНКаза Н. В геномната РНК остава къс полипуринов тракт (PPT), относително устойчив на РНКаза Н разграждане, който служи като праймер за синтеза на плюс ДНК верига. Тази синтеза се прекъсва след обратното транскрибиране на част от тРНК праймер и води до формиране на „strong-stop“ плюс ДНК верига. РНКаза Н отстранява тРНК праймер и освобождава (+) ДНК фрагмент, комплементарен на праймер свързващото място близо до 3'-края на минус ДНК веригата. Хибридизирането между праймер свързващите участъци в плюс ДНК и минус ДНК веригата представлява втория „strand transfer“, след което двете вериги се удължават, като всяка служи като шаблон за другата. Получената двуверижна ДНК съответства на РНК матрицата, но включва допълнителни повторени крайни участъци – дълги терминални повтори (Long Terminal Repeats – LTR), отсъстващи във вирусната РНК. Образуването на LTR изисква двата специфични прехода на полимеразата между различни участъци на матрицата (strand transfer). Това позволява правилното копиране на краищата на ДНК и създава сигналите, нужни на клетката, за да започне вирусната транскрипция. Синтезираната линейна двуверижна ДНК впоследствие се транспортира в клетъчното ядро, където краищата на LTR се свързват ковалентно с клетъчната ДНК на една от многобройните възможни интеграционни позиции под действието на вирусната интеграза. Интегрираният ДНК фрагмент (провирус) служи като матрица за синтез на вирусна РНК, идентична с геномната от РНК полимераза II на гостоприемника. Транскрипцията се регулира от клетъчни транскрипционни фактори, свързващи се с регулаторните елементи в 5' LTR. Вирусните РНК се експортират в цитоплазмата, където сплайсваните и несплайсваните транскрипти функционират като иРНК за синтез на вирусни белтъци, които се сглобяват с геномната РНК и напускат клетката чрез пъпкуване като нови вириони. След интеграцията провирусът не може да бъде изрязан от клетъчния геном и остава стабилно включен през целия жизнен цикъл на клетката.



Фиг. 1 Обратна транскрипция при ретровируси

Стратегии за генната експресия при РНК вирусите

Репликацията на РНК вирусите е тясно свързана с експресията на техните геноми. Много РНК вируси кодират множество гени върху единична геномна РНК. Поради ограниченията на еукариотната транслационна система, която транслира основно 5'-терминално разположена отворена рамка за четене (ORF), вирусите са развили различни стратегии за експресия на вътрешни ORF.

Една от тези стратегии е протеолитичното разрязване, при което един голям полипротеин се разгражда ко- и посттранскрипционно от вирус-кодирани протеази, генерирайки отделни функционални белтъци. Това води до почти равни количества от всеки белтък, като излишните могат да се натрупват като неразтворими агрегати или да се експортират в ядрото за регулаторни функции.

За да експресират вътрешни ORF, някои вируси използват механизми като прочитане на стоп кодони (readthrough) и смяна на рамката на четене (frameshift). При прочитане на стоп кодона благодарение на супресорни tРНК, рибозомата продължава транслацията, което води до синтез на белтъци с еднакъв N-край, но различен C-край, осигуряващи допълнителна функционалност. Промяната в рамката на четене (Frameshifting) позволява синтеза на сляти „fusion“ белтъци от препокриващи се рамки на четене.

Вирусите могат да регулират транслационната инициация и чрез „leaky scanning“ механизъм, при който 40S рибозомни субединици сканират 5' края на РНК, но могат да пропуснат първия старт кодон, ако той е в неподходящ контекст, и да започват транслация в по-надолу разположени ORF. Освен това, подобно на някои клетъчни РНК вирусите притежават вътрешни места за свързване на рибозомите – „internal ribosome entry sites“ (IRES), които представляват комплексни РНК структури, осигуряващи кеп-независима инициация на транслация. IRES структурите взаимодействат с транслационни фактори и РНК-свързващи протеини, които насочват транслационната машина за ефективен синтез на вирусни белтъци, включително в случаи когато кеп-зависимата транслация е инхибирана. Чрез комбинация от тези стратегии вирусите постигат ефективна експресия на всички ORF и строг контрол на нивата на белтъците през целия си жизнен цикъл.

ФЕРМЕНТАЦИИ

Ферментациите са анаеробни процеси на разграждане на субстратите, при които АТР се синтезира само чрез фосфорилиране на ниво субстрат и акцептор на водорода, отделен при биологичното окисление на субстратите е органично съединение. Микроорганизмите, осъществяващи ферментации са факултативни или облигатни анаероби. Факултативните анаероби, като ентеробактериите, в присъствие на кислород превключват метаболизма си на дишане. Облигатните анаероби не могат да синтезират компоненти на дихателна верига, свързана с кислород. Много от тях не понасят присъствието му – строги анаероби.

Микроорганизмите осъществяват няколко вида ферментация; класифицирането им се прави на базата на получените крайни продукти.

АЛКОХОЛНА ФЕРМЕНТАЦИЯ

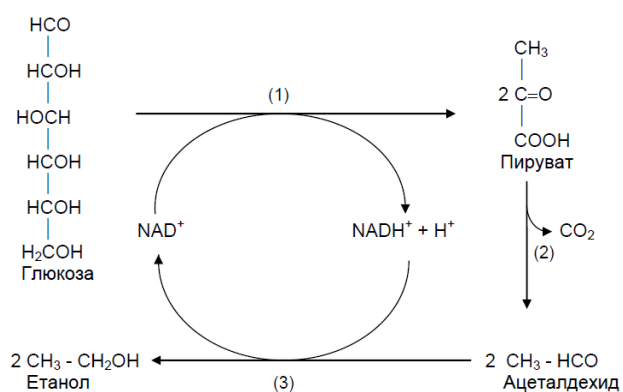
Редица гъби, някои бактерии, водорасли и протозои ферментират захарите до етанол и CO_2 в процес наречен алкохолна ферментация. Дрождите (*Saccharomycе*) разграждат глюкозата (и други захари) в гликолитичния обменен път. Полученият пируват се декарбоксилира до ацеталдехид от ензима *пируват декарбоксилаза*. Ензимът е ключов за ферментационния процес и съдържа тиаминпирофосфат. Ацеталдехидът се редуцира до етанол от *алкохолдехидрогеназа* и по този начин водородният баланс остава постоянен (Фиг. 1). В анаеробни условия ферментацията на глюкоза е много интензивна, но дрождите почти не растат. При аерация, ферментацията отслабва и започва дишане. Този феномен е известен като **ефект на Пастър**. Аерацията понижава консумацията на глюкоза и образуването на етанол; стимулира се растежа на дрождите. В ефекта на Пастър участват няколко регулаторни механизма. Един от тях се проявява на нивото на процесите на фосфорилиране. В основата му е **конкуренцията за ADP и P_i** . Окислението на глицералдехид-3-фосфата в гликолитичния път се нуждае от ADP и P_i . В аеробни условия дихателната верига и окислението на глицералдехид-3-фосфата се конкурират за ADP.

Вторият регулаторен механизъм е **алостеричния контрол на активността на фосфофруктокиназата**. Този ензим алостерично се инхибира от АТР. В присъствие на АТР се увеличава сигмоидалността на кривата на насищане на ензима със субстрат. АМР действа като положителен ефектор и елиминира подтискащия ефект на АТР.

Освен глюкоза, дрождите могат да ферментират и пируват. Междинен продукт е ацеталдехид и това се доказва чрез прибавяне на NaHSO_3 . Той се свързва с ацеталдехида (образува се ацеталдехидсулфит), който не може да акцептира водорода от редуцирания NAD. Тази функция се поема от дихидроксиацетонфосфат, който се редуцира до глицерол-3-фосфат и дефосфорилира до глицерол. Тази модифицирана ферментация Нойберг нарича **втора форма** на алкохолната ферментация. Използва се за получаване на глицерол.

Прибавянето на NaHCO_3 или Na_2HPO_4 към ферментиращия разтвор също води до образуване на глицерол, тъй като ацеталдехида се превръща в етанол и ацетат в резултат на реакция дисмутация. Това е **третата форма** на алкохолната ферментация по Нойберг. Класическата алкохолна ферментация Нойберг нарича **първа форма**.

Съществуват няколко вида бактерии, които осъществяват алкохолна ферментация. *Zymomonas mobilis* (изолиран от ферментиращия сок на мексиканския кактус *Agave mexicana*) и *Zymomonas anaerobica* превръщат глюкозата в пируват по пътя на Ентнер-Дудороф. Тези бакте-



Фиг. 1. Алкохолна ферментация при дрожди.

(1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват декарбоксилаза; (3) алкохол дехидрогеназа

ри съдържат ензима *пируват декарбоксилаза*. Продукти на ферментацията са етанол, CO_2 и големи количества лактат. *Sarcina ventriculi* и *Ervinia amylovora* ферментират глюкозата до пируват по гликолитичния път. Пируватът се превръща в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и CO_2 с ензимите *пируват декарбоксилаза* и *алкохол дехидрогеназа*. *Sarcina ventriculi* образува като странични продукти ацетат и молекулен водород, а *E. amylovora* – лактат.

При бактериите сравнително рядко се среща ензимът *пируватдекарбоксилаза*. Много млечнокисели бактерии, ентеробактерии и *Clostridium spp.* образуват значителни количества етанол, но при тях отсъства пируват декарбоксилаза. Ацеталдехид се образува при редукция на ацетил-CoA в реакция, катализирана от *ацеталдехид дехидрогеназа*.

МЛЕЧНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

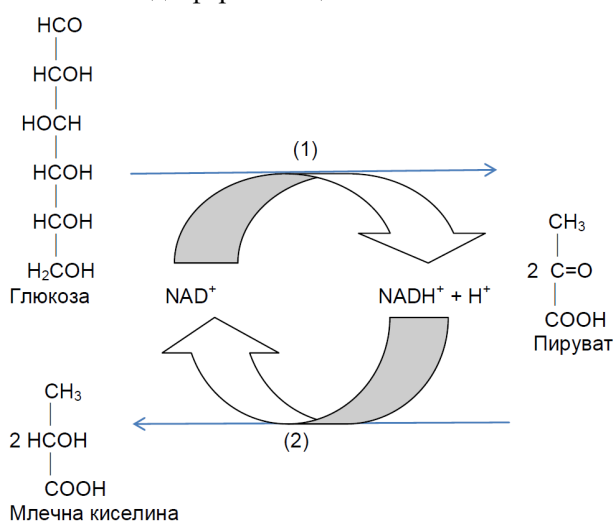
Млечната киселина (лактат) е широко разпространен краен продукт на ферментационните процеси, а няколко рода бактерии, наречени млечнокисели, продуцират млечна киселина в големи количества. Млечнокиселите бактерии от родове *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* се отнасят към **Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. Те са Грам-положителни; пръчковидни и кълбовидни; неспорообразуващи, предимно неподвижни. Аеротолерантни анаероби с ферментативен метаболизъм; не съдържат хемопротеини, като цитохроми и каталаза. Всички млечнокисели бактерии се отличават с висока захаролитична активност и отсъствие на повечето анаболитни пътища, което обуславя голяма високостепенност към хранителните субстрати. Тези микроорганизми се развиват в растителни тъкани и разлагащи се растителни остатъци (*Lactobacillus plantarum*, *L. delbrückii*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*), мляко и млечни продукти (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*), чревния тракт и слизестите обвивки на човек и животните (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus faecalis*, *S. salivarius*, *S. bovis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*).

Род *Bifidobacterium* се отнася към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Всички представители на род *Bifidobacterium* са строги анаероби; те не понасят кислород; за развитието им е необходима атмосфера, съдържаща 10% CO_2 . *Bifidobacterium bifidum* е с V- или Y-образна форма, откъдето е получил името си (лат. *bifidus* – раздвоен). Преобладава в чревния тракт на кърмачета (бифидобактерии се откриват и в дебелото черво на възрастни хора), тъй като се нуждае от въглехидрати, съдържащи N-ацетилглюкозамин, който се съдържа в човешката кърма (но не в кравето мляко).

Млечнокиселите бактерии осъществяват няколко вида ферментация.

1. Хомоферментативна млечнокисела ферментация – млечната киселина е преобладаващ продукт (повече от 90% от всички продукти). Глюкоза се превръща в гликолитичния път до пируват, който акцептира водорода от глицералдехид-3-фосфат дехидрогеназната реакция и се редуцира до млечна киселина с ензима *лактат дехидрогеназа* (Фиг. 2). От 1 mol глюкоза се получават 1.8 mol млечна киселина. Енергетичният баланс на ферментацията е 2 mol ATP на 1 mol изразходвана глюкоза.

2. Хетероферментативна млечнокисела ферментация – получават се приблизително 50% млечна киселина и 50% други продукти. Фетероферментативните млечнокисели бактерии не притежават ензимите *алдолаза* и *триозофосфат изомераза*. Глюкозата се превръща в пентозофосфатния път до ксилулозо-5-фосфат, който в реакция, катализирана от *пентозофосфокетолаза* се разпада до глицералдехид-3-фосфат и ацетилфосфат. Глицералдехид-3-фосфатът се превръща в лактат, а ацетилфосфатът през ацетил-CoA и ацеталдехид в етанол. Други млечнокисели бактерии (*Lactobacillus brevis*) превръщат ацетилфосфата изцяло или частично в ацетат, при което макроергичната връзка се пренася върху



Фиг. 2. Хомоферментативна млечнокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) лактат дехидрогеназа.

ADP – синтезира се АТР. Излишъкът от водород се поема от глюкоза, която се редуцира до манитол. Балансът на хетероферментативната млечнокисела ферментация е 1 mol АТР на всеки mol изразходвана глюкоза.

МРАВЧЕНОКИСЕЛА (СМЕСЕНА) ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРИ ЕНТЕРОБАКТЕРИИ

Представителите на разред *Enterobacteriales* се отнасят към **Група 2 – Протеобактерии, γ-Протеобактерии**. Те са Грам-отрицателни, неспорообразуващи пръчици; хемоорганотрофи. Факултативни анаероби. Условно-патогенни микроорганизми.

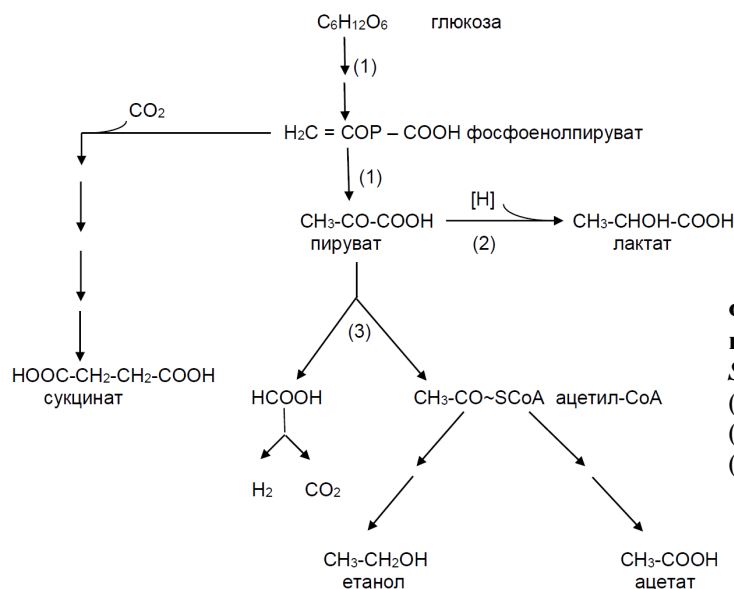
Род *Escherichia* – къси пръчици; неподвижни и подвижни; подвижните форми са перитрихи. *Escherichia coli* населява чревния тракт на животните и човек няколко часа след раждането и е нормален коменсиал. При определени условия може да предизвика заболявания – уринарни, интестинални инфекции, менингити, вътреболнични инфекции. Запазва известно време жизнеспособност и извън стомашно-чревния тракт, поради което лесно се изолира. Използва се като тест-микроорганизъм за установяване на фекалното замърсяване на питейна вода.

Род *Enterobacter* – подвижни пръчици (перитрихи), разпространени в почва, вода, интестиналният тракт на човек и животни. Ферментират захарите с отделяне на газ. Могат да причинят, макар и рядко менингити, сепсиси, раневни инфекции, вътреболнични инфекции.

В отсъствие на кислород ентеробактериите осъществяват два вида смесена ферментация.

1. Родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* ферментират захарите до млечна, оцетна, мравчена, янтьрна киселини, неголеми количества C_2H_5OH , CO_2 и H_2 .

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път. На ниво фосфоенолпируват (ФЕП) се отделя разклонението за синтез на янтьрна киселина. Останалата част от ФЕП се превръща в пируват. Значителна част от него се редуцира до млечна киселина; бактериите от родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* продуцират значителни количества млечна киселина. От пируват с ензимния комплекс *пируват:формиат лиаза* (ключов за ферментацията) се получава ацетил-СоА и мравчена киселина. Мравчената киселина е краен продукт, но част от нея се разпада до CO_2 . Ацетил-СоА се превръща в етанол и в оцетна киселина (Фиг. 3).



Фиг. 3. Смесена ферментация при *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

(1) ензими на гликолитичния път;
(2) лактат дехидрогеназа
(3) пируват:формиат лиаза.

2. Родове *Enterobacter* и *Erwinia* за сметка на киселините образуват значителни количества C_2H_5OH , CO_2 и 2,3-бутандиол – **бутандиолова ферментация**.

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път до пируват (няма разклонение на ниво ФЕП, т.к. не се получава сукцинат). Малка част от пирувата се редуцира до млечна киселина. От пируват, с ензима *пируват:формиат лиаза* се получават формиат и ацетил-СоА. Част от формиата се разпада до CO_2 и H_2 , а ацетил-СоА изцяло се превръща в етанол. От пирувата се получава 2,3-бутандиол – специфичен продукт, който дава име на ферментацията. Двата вида ферментация се разграничават чрез реакция с метилрот (MR) и реакция на Фогес-Проскауер (VP).

МАСЛЕНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

През 1861 г. Луи Пастър открива ферментация на захари, при която се получава бутират. Съществува се от облигатни анаероби, представители главно на 4 рода: *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*.

Видовете *Clostridium* поглъщат захарите с фосфотрансферазна система; хексозите се разграждат до пируват в гликолитичния обменен път; пируватът се превръща в ацетил-CoA, CO_2 и H_2 под действието на ензима *пируват:ferredоксин оксидоредуктаза*, който е ключов за ферментацията. Двете молекули ацетил-CoA кондензират, при което се формира ацетоацетил-CoA, който постепенно се превръща в маслена киселина (Фиг. 4). Енергетичният баланс на ферментацията е 3 mol ATP на 1 mol глюкоза.

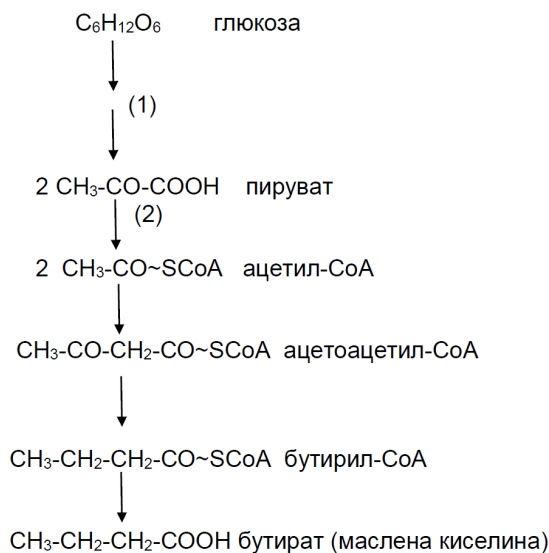
Clostridium acetobutylicum ферментира глюкозата до бутират, бутанол и ацетон. Първоначално се образува бутират, но подкислението на средата активира ензими (като *ацетоацетат декарбоксилаза*), които катализират образуването на бутанол и ацетон. Процесите на синтез на различните продукти са свързани. Декарбоксилирането на част от ацетоацетата води до загуба на част от потенциалния акцептор на водорода от редуцирания NAD, който се прехвърля върху бутирил-CoA – образува се бутанол. В процеса се включва, след активиране, постъпващия от средата бутират. Някои щамове редуцират ацетона до 2-пропанол. Ако pH се поддържа на ниво по-високо от 5.0, образуването на ацетон и бутанол силно се подтиска.

Род *Clostridium* се отнася към Група 3 – **Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. *Clostridium* са Грам-положителни; стари култури могат да се оцветят отрицателно по Грам. Изолят се от почва, оборски тор, замърсени води, храносмилателния тракт на животни и човек. Повечето видове са подвижни перитрихи (срещат се и неподвижни). Образуват терморезистентни спори, които са кръгли или елипсовидни и променят формата на клетката. През определени етапи от развитието си клетките съдържат гранулеза (скорбялоподобно вещество), която се оцветява от йод в синьо. Натрупването на гранулеза се използва като таксономичен белег. *Clostridium* се отличават с изразен ферментативен тип метаболизъм. Анаероби с преходни форми – от строги анаероби (*C. pasteurianum*, *C. kluyveri*) до почти аеротолерантни (*C. histolyticum*, *C. acetobutylicum*). Не съдържат хемопротеини (цитохроми и каталаза). Повечето видове са мезофилни (opt.t 30 – 37°C), но се срещат и термофилни, като *C. thermoaceticum*, *C. thermohydrosulfuricum*. *Clostridium* се различават силно по отношение на субстратите, които могат да ферментират. Захаролитичните видове разграждат предимно полизахариди, а пептолитичните – белтъци и аминокиселини. Оптимално pH за развитието е 6.5 – 7.2. Някои пептолитични *Clostridium* могат да причинят болести при раневи инфекции (газова гангрена и тетанус), а също така хранителни отравяния.

ПРОПИОНОВОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Пропионовокиселите бактерии обитават търбуха и чревния тракт на преживните животни, където превръщат млечната киселина, получена при различни ферментационни процеси в пропионова. Пропионова киселина образуват видовете *Propionibacterium*, *Selenomonas*, *Micromonospora* и *Clostridium propionicum*.

Род *Propionibacterium* се отнася към Група 4 – **Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Плеоморфни пръчици с размери 0.5 – 0.8 x 1.0 – 5.0 μm . Срещат се поединично, по двойки, в къси верижки, в Y или V образни конфигурации. Неспорообразуващи, неподвижни. При неблагоприятни условия формират бухалковидни форми. Не растат на твърди среди при достъп на въздух. Анаероби, но притежават вариабилна аеротолерантност. Притежават цитохроми и каталаза. Оптимална температура за развитие – 30 – 37°C. Хемоорганотрофи. Откриват се главно



Фиг. 4. Масленокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват:ferredоксин оксидоредуктаза

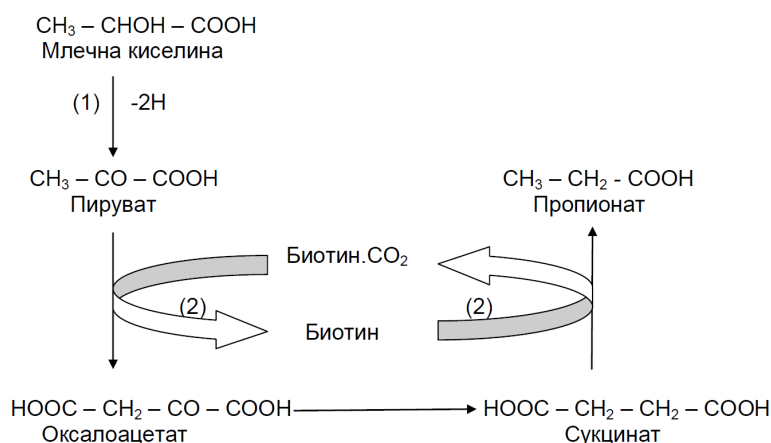
в сирене и млечни продукти и са част от нормалната микрофлора на човешката кожа. Ферментират глюкоза, захароза, лактоза, пентози, малат, глицерол, лактат с образуване на значителни количества пропионат. При ферментацията се получават също ацетат и неголеми количества CO_2 .

Род *Micromonospora*. Проактиномицети; отнасят се към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Притежава добре развит, разклонен, септиран субстратен мицел. Въздушен мицел липсва. Грам-положителни клетки. Стената съдържа *meso*-диаминопимелинова киселина и глицин. Аероби и микроаероби. Хемоорганотрофи. Чувствителни са към pH стойности под 6.0. Растат при температури 20 – 40°C. Обитават почва, води (морски и сладководни), седименти. Няколко вида се откриват в интестиналния тракт на термити и търбуха на овце.

Формирането на пропионата става по два пътя; превръщането на глюкозата се осъществява по гликолитичния обменен път.

1. Сукцинат-пропионатен път. Функционира при повечето пропионовокисели бактерии. Първоначално, пируватът се карбоксилира до оксалоацетат. В реакцията участва биотин, като преносител на CO_2 ; CO_2 се използва циклично. Оксалоацетатът се превръща в сукцинат. Сукцинатът се активира и декарбоксилира до пропионат (Фиг. 5).

2. Акрилоил-СоА път. Функционира при *Clostridium propionicum*. Междинен продукт е акрилоил-СоА. Субстрат може да бъде L-, D- или DL-лактат, които претърпяват взаимни превръщания под действие на ензима *лактат рацемаза*. Част от млечната киселина се окислява до пируват, от който се получава ацетил-СоА, CO_2 и редуцират ферредоксин с ензима *пируват:ферредоксин оксидоредуктаза*. Ацетил-СоА се превръща в оцетна киселина. Останалата част от лактата се превръща в лактил-СоА, от който се получава акрилоил-СоА. Следва редукция до пропионил-СоА и освобождаване на пропионат. Донори на електрони са редуцирания флавопротеин и редуцирания ферредоксин, получени в другото разклонение на пътя. Крайни продукти в този път са пропионова и оцетна киселини и CO_2 .



Фиг. 5. Сукцинат-пропионатен път на пропионовокисела ферментация. (1) лактат дехидрогеназа; (2) транскарбоксилаза

Хемолитотрофните микроорганизми получават енергия и редуциращи еквиваленти при окисление на неорганични съединения или техните йони – NH₄⁺, NO₂⁻, S⁰, S²⁻, S₂O₃²⁻, SO₃²⁻, Fe²⁺, H₂. Акцепторът на електрони обикновено е кислород (аеробно дишане), но някои хемолитотрофи използват нитрат или сулфат (анаеробно дишане). При повечето бактерии CO₂ е единствен или главен източник на въглерод.

При окислението на неорганичните молекули е достъпна по-малко енергия, отколкото при пълното окисление на глюкозата. Причината за това е, че NADH, който отдава електрони към дишателната верига има по-негативен потенциал от повечето неорганични субстрати, които хемолитотрофите използват като електронни донори. Тъй като добивът на АТР е нисък, хемолитотрофите трябва да окислят голямо количество неорганичен субстрат за растеж и възпроизводство. Това е валидно в по-голяма степен за автотрофните хемолитотрофи, които фиксират CO₂. В зависимост от природата на донора и акцептора на електрони се обособяват различни групи хемолитотрофи.

1. Водород-окисляващи бактерии

Водород-окисляващите бактерии използват молекулен водород като електронен донор. Тези бактерии са факултативни хемолитотрофи, с малки изключения. Водород-окисляващите бактерии се изолират от различни местообитания – сладководни водоеми, седименти, почви, активна утайка, горещи извори, хидротермални отвори и изпълняват важна роля в кръговрата на водорода в биосферата.

Молекулен водород се отделя при анаеробното разграждане на субстратите, в анаеробни почвени участъци и водоеми. Голяма част от водорода се окислява от бактерии, които съжителстват с микроорганизмите осъществяващи ферментациите. Окислението на водорода е свързано с редукция на SO₄²⁻ (сулфати) до S²⁻ (сулфиди), или CO₂ до CH₄. Водород се образува също в добре аерирани почви (с бобови растения). Той се отделя в нитрогеназната реакция и дифундира от бактериоидите на грудките в средата.

Аеробните водород-окисляващи бактерии са хетерогенна група, включваща представители на родове *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Aquaspirillum*, *Xanthobacter* (Грам-отрицателни), *Nocardia*, *Bacillus*, *Mycobacterium* (Грам-положителни). Окислението на молекуления водород осигурява енергия за фиксацията на CO₂:



Водородните бактерии са факултативни хемолитотрофи, тъй като могат да използват и органични субстрати. Ако в средата присъстват неорганични (CO₂ и H₂) и органични субстрати, водородните бактерии се отнасят като **миксотрофи**, т.е. асимилират органичните съединения за синтез на клетъчни компоненти, а енергия получават при окислението на водорода. Факултативната хемолитоавтотрофна бактерия *Ralstonia eutropha* (предишно наименование *Alcaligenes eutrophus*) може да използва H₂ като единствен източник на енергия.

Водородните бактерии усвояват амоняк под формата на урея, нитрати, нитрити, аминокиселини и азотни бази; някои видове могат да фиксират молекулен азот.

Анаеробни водород-окисляващи бактерии, които използват H₂ + CO₂ осъществяват **анаеробно дишане**.

Молекуленият водород се включва в метаболитните процеси с ензима *хидрогеназа*. Установени са два типа хидрогенази.

Мембранно-свързана, която предава електрони в електрон-транспортна верига, включваща различни хинони и цитохроми. Установена е при повечето водородни бактерии, като *Pseudomonas facilis*, *Paracoccus denitrificans*, *Xanthobacter flavus*, *Hydrogenobacter thermophilus*, *Rhizobium japonicum*.

Разтворима, която редуцира NAD – H₂:NAD *оксидоредуктаза*. Открита е при *Alcaligenes denitrificans*, *Nocardia autotrophica*, *Rhodococcus opacus*. Редуцираният NAD може да участва в биосинтетични реакции.

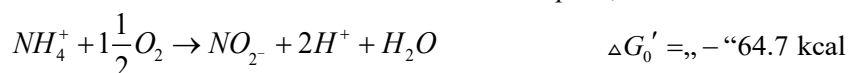
Някои водород-окисляващи бактерии, като *Pelomonas saccharophila* (предишно наименование *Pseudomonas saccharophila*) и *Ralstonia eutropha* съдържат и двата типа хидрогенази. От всички хемолитоавтотрофи само водородните бактерии с разтворима хидрогеназа могат пряко да редуцират NAD при окислението на неорганичния субстрат.

Въглеродният диоксид се асимилира автотрофно в цикъла на Калвин. Облигатния хемолитотроф *Hydrogenobacter thermophilus* включва CO₂ чрез редуктивен цикъл на трикарбоновите киселини.

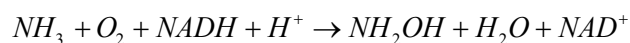
2. Нитрифициращи бактерии

Нитрификацията е процес на генериране на енергия при окисление на амоняка до нитрати. Осъществява се на два етапа от две групи бактерии, които са предимно облигатни хемолитотрофи.

Бактерии, окисляващи амоняк до нитрити. Включва представители на родове *Nitrosococcus*, *Nitrosomonas*, *Nitrosolobus*, *Nitrosospina*, които окисляват амоняка до нитрит:

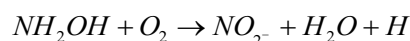


Процесът се осъществява на етапи. Първоначално амонякът се окислява до хидроксиламин с ензима *амоняк монооксигеназа*. Ензимът катализира присъединяване на единия атом на молекулния кислород към молекулата на амоняка; вторият кислороден атом се редуцира до вода:



Този етап е ендергоничен, т.к. се консумира енергия.

Следва окисление на хидроксиламина до нитрит с *хидроксиламин оксидоредуктаза*:



Като междинен продукт се образува нитроксил:



Електроните постъпват в дихателна верига на нивото на цитохром *c* или цитохром *a*, след което с терминална *оксидаза* се прехвърлят върху крайния акцептор – молекулния кислород. Транспортът на електрони по електрон-транспортната верига, разположена в цитоплазмената мембрана е съпроводен от преноса на два протона през мембраната. Това води до възникване на протонен градиент и синтез на АТР.

Бактерии, окисляващи нитрити до нитрати

Окислението на нитрита до нитрат се осъществява от молибден-съдържаща *нитрит оксидаза*:



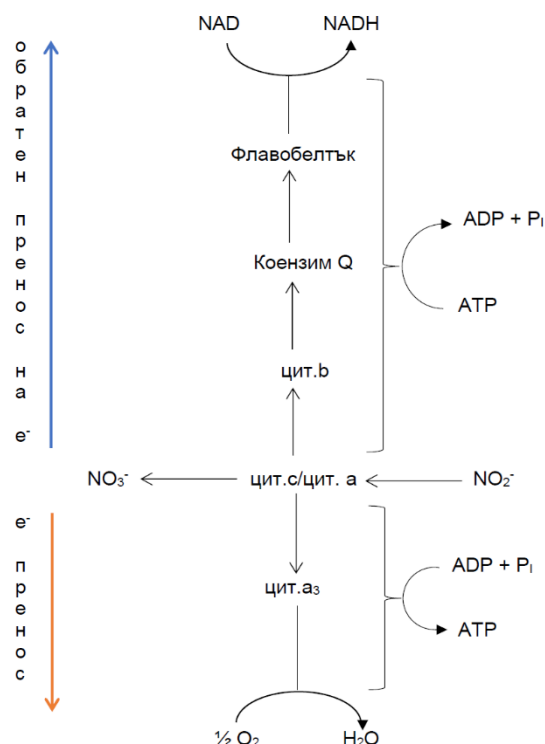
Електроните се поемат от цитохром *a*₁ и чрез цитохром *c* се прехвърлят на терминална цитохром *aa*₃ *оксидаза*, където се акцептират от молекулния кислород.

Към втората група нитрифициращи бактерии се отнасят родове *Nitrococcus*, *Nitrobacter*, *Nitrospira*. Бактериите, окисляващи амоняк осигуряват субстрат за бактериите, окисляващи нитрити.

Нитрифициращите бактерии са разнородна група и се отнасят към различни таксономични групи: род *Nitrobacter* – към семейство *Bradyrhizobiaceae* на α-протеобактериите; родове *Nitrosomonas* и *Nitrosospira* към семейство *Nitrosomonadaceae* на β-протеобактериите; *Nitrococcus* и *Nitrosococcus* към γ-протеобактериите. Нитрифициращите бактерии са Грам-отрицателни, с различна форма и размери. Подвижни, с полярно или перитрихално разположени флагелуми или неподвижни; често съдържат в цитоплазмата мембранны комплекси; не образуват ендоспори. Нитрифициращите бактерии са облигатни аероби; повечето и облигатни автотрофи, чийто растеж се инхибира от органични съединения в концентрации, типични за хетеротрофните прокариоти. Фиксират CO₂ в цикъла на Калвин. Оптимални условия за растеж са температура 25-30°C и pH 7.5 – 8.0. Обитават морски и сладководни водоеми, почви, канализационни системи.

Двете групи нитрифициращи бактерии, както и редица бактерии, окисляващи водород, съединения на сярата и Fe(II) се намират в неизгодно енергетично положение, т.к. субстратите, които усвояват имат положителен редукционен потенциал (E_0' на двойката $\text{NH}_4^+/\text{NO}_2^-$ е $+0.44\text{ V}$, а на двойката $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ е $+0.42\text{ V}$). Окислението на тези субстрати не може да бъде свързано с редукция на NAD, който обаче е необходим за фиксация на CO_2 в цикъла на Калвин. Електроните, отделящи се при окислението на тези субстрати се включват в дихателната верига на ниво на цит. c или цит. a, което води до синтез на неговолямо количество АТР. Фосфорилиране се осъществява само в един етап на окислението.

Част от синтезираната енергия се изразходва за „обратен пренос на електрони“ – пренос на електрони „назад“ по електрон-транспортната верига, от компоненти с положителен към компоненти с отрицателен E_0' , до нивото на пиридин-нуклеотидите и редукцията им (Фиг. 1). Преносът на $2e^-$ от NO_2^- до NO_3^- води до синтез на 1 молекула АТР. Значителна част от енергията се изразходва за редукция на NAD. Поради това, *Nitrobacter* расте бавно с разход на голямо количество субстрат.



Фиг. 1. Обратен пренос на e^- при *Nitrobacter*.

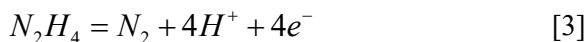
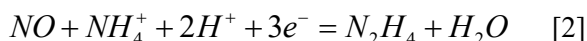
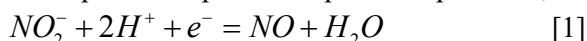
3. Анамокс бактерии

Анамокс е съкращение за анаеробно окисление на амониак, което е важен етап от биогеохимичния цикъл на азота. В тази реакция, хемолитотрофите използват амониевия йон като донор на електрони, а нитритът като акцептор.



Превръщането на субстрата протича през две токсични междинни съединения – азотен оксид (NO) и хидразин (N_2H_4).

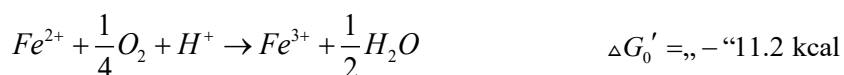
Анаеробното окисление на амониак включва три етапа, които протичат в анамоксозомата и създават протонен градиент през мембраната ѝ, което може да се използва за синтез на АТР.



Анамокс-бактериите са облигатни анаероби и принадлежат към пет рода: *Brocadia*, *Kuenenia*, *Anammoxoglobus*, *Jettenia* (сладководни видове) и *Scalindua* (морски видове). Отнасят се към разред *Brocadiales*, отдел *Planctomycetes*, Група 5 от определителя на бактериите. Анамокс-бактериите са кълбовидни клетки с диаметър приблизително 800 – 1100 nm. Клетъчната им стена е белтъчна, без пептидогликан и външна мембрана, по което се различават както от Грам-положителните, така и от Грам-отрицателните бактерии. Притежават анамоксозома – мембранно-свързан участък в цитоплазмата, в който се осъществява анаеробното окисление на амониак. Съставът на техните мембранни липиди е специфичен, тъй като присъстват мастни киселини, свързани както с естерни така и с естерни връзки. Бактериите притежават мембранни липиди, наречени ладерани със структури, които не се срещат при други прокариоти. Тези специални липиди правят клетъчните мембрани по-плътни и по-твърди, намалявайки пропускливостта и нежеланата загуба на метаболити.

4. Желязо-окисляващи бактерии

Желязо-окисляващите бактерии са хемотрофи, способни да окисляват Fe(II) до Fe(III), като начин за генериране на биологически използвана енергия:



Желязо-окисляващите бактерии са три групи. Едните са ацидофили, като *Thiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* и архебактерията *Ferroplasma*. Тези микроорганизми окисляват желязото в среди с много ниско рН, като киселинните минни дренажи.

Втората група микроорганизми окислява желязото при неутрално рН. Тези бактерии, като *Gallionella ferruginea* и *Leptothrix ochracea* са микроаерофили.

Третият вид са анаеробни фототрофни бактерии, като *Rhodospseudomonas*, които използват Fe(II) за редуция на NAD, необходим за автотрофната фиксация на въглеродния диоксид.

От биохимична гледна точка, аеробното окисление на Fe(II) е енергетично много слаб процес. Образването на редуциран NAD или NADP, необходим за фиксацията на въглероден диоксид, се осъществява чрез обратен пренос на електрони (Фиг. 1). Електрон-транспортната верига съдържа всички видове преносители, но участъкът свързан с получаването на енергия е много къс. Повечето щамове са облигатни хемолитоавтотрофи, които асимилират CO₂, като единствен източник на въглерод.

Бактериите от вида *Thiobacillus ferrooxidans* са способни да окисляват не само Fe(II), но и редуцирани серни съединения. *Gallionella ferruginea* е типичен хемолитоавтотроф. Донор на електрони е единствено Fe(II), а източник на въглерод е CO₂. Бактериите обитават бикарбонатни среди, най-често хладни води, с неутрални рН стойности и микроаерофилни условия. Във водопроводните тръби, бактериите образуват отлагания, които замърсяват питейната вода и повреждат съоръженията. Екстремно термофилната архебактерия *Sulfolobus acidocaldarius* расте хемолитотрофно, използвайки сулфид и Fe(II) като електронни донори. *Sulfolobus acidocaldarius* е факултативен хемолитотроф. Освен Fe(II), различни прокариоти могат да се използват като донори на електрони As(III) и U(IV).

5. Бактерии, окисляващи съединения на сярата

Редица прокариоти, наречени **серни бактерии**, могат да използват неорганични серни съединения, включително сулфид (S²⁻), елементарна сяра (S⁰), тиосулфат (S₂O₃²⁻), като енергиен източник. Серните бактерии проявяват висока метаболитна адаптивност. Повечето видове са мезофилни с оптимална температура за растежа около 30°C, но са описани и термофилни. Някои серни бактерии са ацидофилни.

Род *Thiobacillus* се отнася към β-протеобактериите. Включва Грам-отрицателни, пръчковидни бактерии, неподвижни или с полярно разположени флагелуми. Бактериите растат аеробно чрез окисление на различни серни съединения. АТФ се синтезира чрез комбинация от окислително фосфорилиране и фосфорилиране на ниво субстрат. Обикновено използват CO₂ като основен въглероден източник. *Thiobacillus thiooxidans*, *T. thioautotrophicus*, *T. denitrificans*, са облигатни хемолитоавтотрофи, фиксиращи CO₂. Видовете *T. novellus* и *T. intermedius* могат да растат и хемохетеротрофно. *Thiobacillus thiooxidans* могат да се развиват в силно кисела среда. Растат при рН 0.5; оптимална рН стойност за растежа им е около 2.0; при рН 6.0, растежът е невъзможен. *Thiobacillus ferrooxidans* може да окислява Fe(II) като електронен донор.

Безцветните серни бактерии, които при окислението на сулфид натрупват сяра в клетките са две групи – нишковидни (*Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca*) и едноклетъчни (*Achromatium*, *Macromonas*, *Thiovulum*, *Thiospira*, *Thiobacterium*). Някои серни бактерии са алкалофили и се развиват в алкални езера – *Thioalkalimicrobium* и *Thioalkalivibrio*. Видовете *Sulfolobus* (отнасят се към отдел *Crenarchaeota* на архебактериите) са Грам-отрицателни, със сферична форма. Термоацидофили с оптимална температура 70 – 80°C и рН оптимум 2 – 3. Растат хемолитотрофно върху серни гранули в горещи, кисели извори и почви. Освен редуцирани серни съединения, могат да окисляват Fe(II) до Fe(III), като електронен донор. Източници на въглерод и енергия могат да бъдат захари и аминокисели, като глутамат.

Серните бактерии окисляват сяра (S⁰), сулфид (S²⁻), тиосулфат (S₂O₃²⁻) и други серни съединения до сулфат като краен продукт. Окислението на сулфид до сулфат е свързано със загуба на 8 електрона, които постъпват в електрон-транспортна верига; образуват се елементарна сяра и сулфит като междинни продукти. При електронния пренос възниква протондвижеща сила, която генерира енергия за синтеза на АТФ. АТФ се синтезира чрез окислително фосфорилиране и фосфорилиране на ниво субстрат. Бактериите притежават две ензимни системи, окисляващи

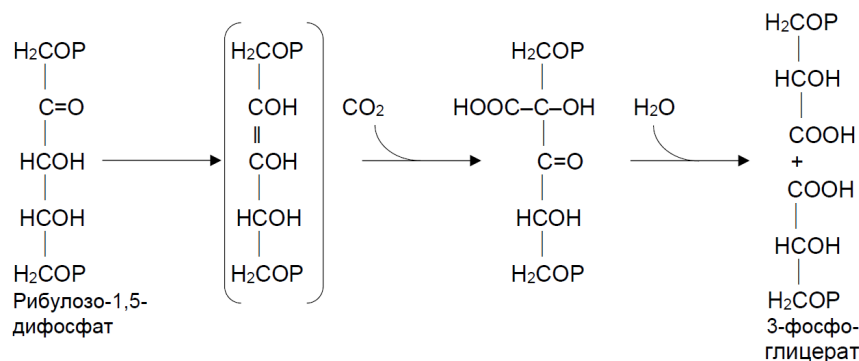
SO_3^{2-} до SO_4^{2-} : (1) сулфитоксидаза; (2) APS редуктаза + ADP сулфурилаза. Във втория случай се осъществява субстратно фосфорилиране.

АВТОТРОФНА ФИКСАЦИЯ НА CO_2

1. Цикъл на Калвин. Цикълът на Калвин (рибулозодифосфатен) е най-общия механизъм за фиксация на CO_2 сред автотрофите. Това е единствения механизъм при еукариотите, който се осъществява също от цианобактериите, пурпурните фототрофни бактерии и хемолитотрофите. Зелените фототрофни бактерии и метаногените, които не синтезират ензима *рибулозодифосфат карбоксилаза* имат алтернативен механизъм за автотрофна фиксация на CO_2 .

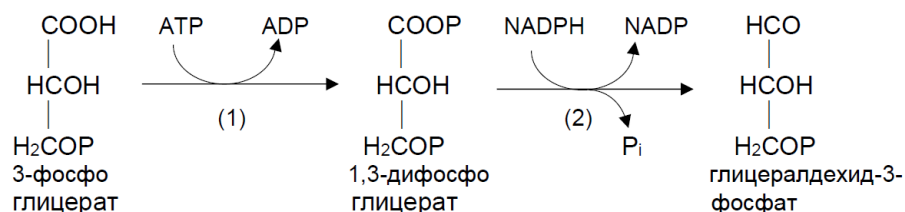
В цикъла на Калвин могат да се обособят три етапа:

(1) **фиксация на CO_2** – осъществява в рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазна реакция:



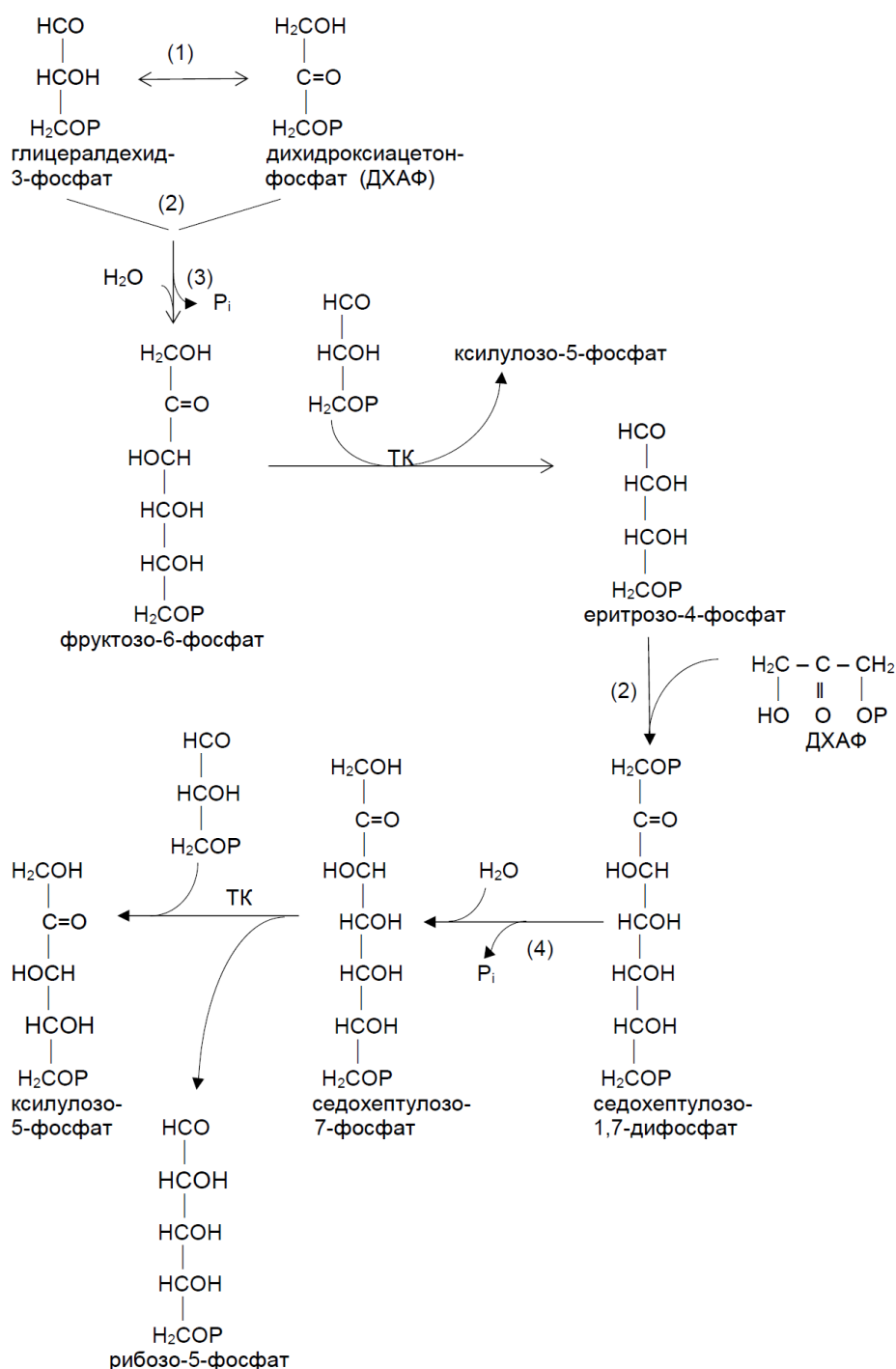
Рибулозодифосфат карбоксилазата е един от ключовите ензими в цикъла. Ензимът използва рибулоза и CO_2 като субстрати. CO_2 се фиксира, като се присъединява към рибулозодифосфата, който веднага се разцепва на две молекули 3-фосфоглицерат.

(2) **редукция на образуваните 3-фосфоглицерат до глицералдехид-3-фосфат** протича в две последователни реакции, катализирани от ензимите *фосфоглицераткиназа* (1) и *глицералдехид-3-фосфат дехидрогеназа*:



(3) **регенерацията на акцептора на CO_2** – рибулозо-1,5-дифосфата се осъществява в поредица от реакции с участието на ензима *транскетолаза*. Глицералдехид-3-фосфатът (ГАФ) се намира в равновесие с дихидроксиацетонфосфат (ДХАФ) и двете триози в *алдолазна* и *фосфатазна* реакции образуват фруктозо-6-фосфат. В реакции на хексозната молекула с две молекули глицералдехид-3-фосфат и една молекула дихидроксиацетон-фосфат се получават две молекули ксилулозо-5-фосфат и една рибулозо-5-фосфат (Фиг. 3).

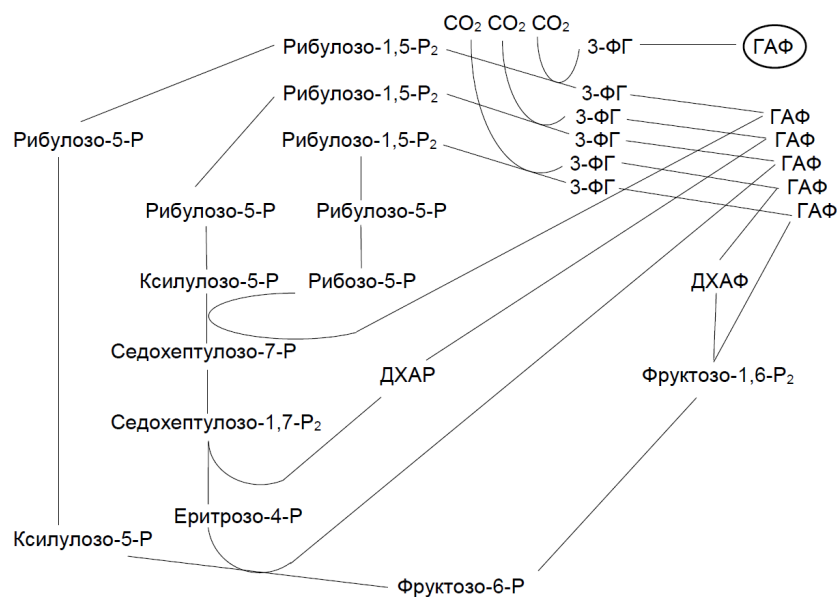
Пентозофосфатните молекули се превръщат в 3 молекули рибулозо-5-фосфат с ензимите *рибулозофосфат епимераза* (1) и *рибозофосфат изомераза* (2). Трите молекули рибулозо-5-фосфат след фосфорилиране с *фосфорибуккиназа* (3) възстановяват трите молекули рибулозо-1,5-дифосфат, които акцептират CO_2 в първия етап.



Фиг. 3. Регенерация на рибулозо-1,5-дифосфат. (1) триозофосфат изомераза; (2) алдолаза; (3) фруктозодифосфатаза (алостерично се стимулира от фруктозо-1,6- P_2); (4) седохептулозодифосфатаза

Цикълът на Калвин се различава от пентозофосфатния път по замяна на обратимата алдолазна реакция на синтез на седохептулозо-7-фосфат с обратима седохептулозо-1,7-дифосфат алдолазна и необратима фосфатазна реакции (Фиг. 4). Това обезпечава едностранно превръщане на субстрата в пентозофосфати, които след изомеразна и епимеразна реакции се фосфорилират, регенерирайки акцептора на CO_2 . *Фосфорибулокиназата* е втория ключов ензим в обменния път.

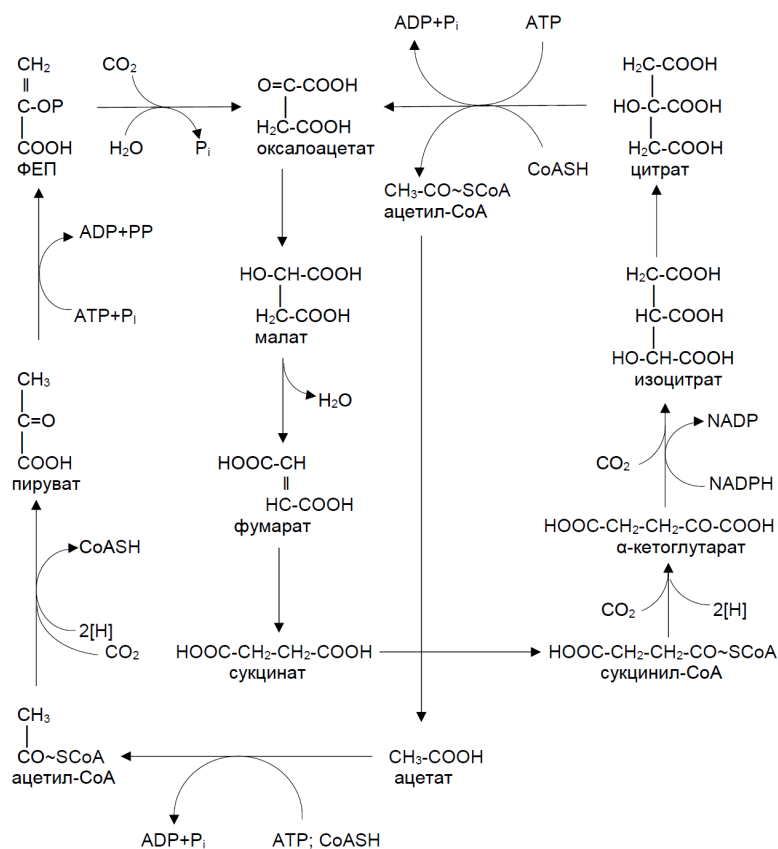
Функцията на цикъла на Калвин се свежда до осигуряване на органични предшественици за биосинтез на клетъчен материал. Фиксацията на CO_2 до нивото на глюкоза изисква 18 молекули АТФ и 12 редуциран NADP.



Фиг. 4. Цикъл на Калвин. 3-ФГ – 3-фосфоглицерат; ГАФ – глицералдехид-3-фосфат; ДХАФ – дихидроксиацетонфосфат.

2. Редуктивен цикъл на трикарбоновите киселини.

Присъства при редица фототрофни и хемолитотрофни бактерии (ЦТК); нарича се още редуктивен C_4 цикъл (Фиг. 5). Фиксацията на CO_2 се осъществява с ензимите α -кетоглутарат дехидрогеназа и NADP-зависима изоцитрат дехидрогеназа. В хода на редуктивния ЦТК, цитратът се преобразува в оксалоацетат и ацетил-CoA. Ацетил-CoA взаимодейства със сукцинат, в резултат на което се получава сукцинил-CoA. Цикълът се допълва от анаплеротични реакции, чрез които се образуват ацетил-CoA, пируват и фосфоенолпируват. Всички микроорганизми, осъществяващи редуктивния цикъл притежават ензима *пируват:ортофосфат дикиназа*, с който синтезират фосфоенолпируват от пируват. От фосфоенолпируват, с *ФЕП карбоксилаза* се получава оксалоацетат. Ключеви ензими за цикъла са също *малат дехидрогеназа* и *сукцинат дехидрогеназа*.



Фиг. 5. Редуктивен цикъл на трикарбоновите киселини.

Редуктивният ЦТК е обратим цикъл, в който *пируват дехидрогеназата* и α -кетоглутарат дехидрогеназата системи са заменени от ферредоксин-зависима *пируват синтетаза* и α -кетоглутарат синтетаза. Тези ензими катализират реакции на редукция на ацетил-CoA до пируват и на сукцинил-CoA до α -кетоглутарат.

Редуктивният ЦТК е единственият цикличен път за асимилация на CO_2 при някои фототрофни бактерии, като *Chlorobium*.

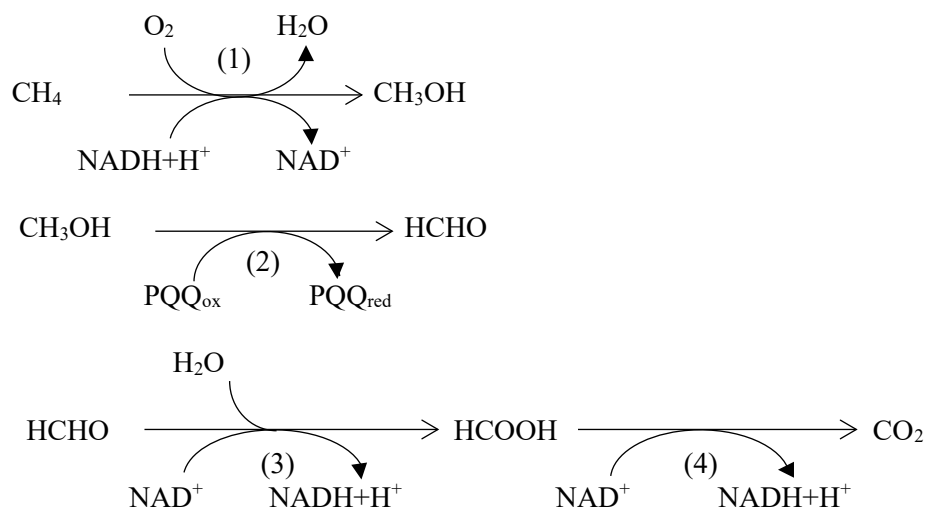
Метанът, метанолът и метиламините са естествено достъпни в големи количества. Някои бактерии и дрожди ги усвояват като единствен източник на въглерод и енергия. Тези организми се наричат **метилотрофи** и превръщат C_1 съединенията по специфични пътища. Много от тях не могат да усвояват т.нар. „сложни“ органични съединения, напр. захари.

Метилотрофите се отнасят към различни систематични групи – α -протеобактерии (*Methylobacterium*, *Methylocystis*, *Methylosinus*, *Hyphomicrobium*), β -протеобактерии (*Methylobacillus*, *Methylophilus*), γ -протеобактериите (*Methylobacter*, *Methylomonas*, *Methylococcus*). Биват облигатни и факултативни метилотрофи.

Облигатните метилотрофи (*Methylomonas methanica*, *Methylomonas methanooxidans*, *Methanococcus capsulatus*, *Methylosinus trichosporium*) се развиват само на среди с C_1 -съединения – метан, метанол, метиламин и др. Не могат да използват т. нар. сложни органични съединения, поради наличието на специфични метаболитни пътища. Наричат се още **метанотрофи**. Метанотрофите са Грам-отрицателни и имат обширни вътреклетъчни мембранни структури (както и нитрифициращите бактерии), които се използват при класификацията им.

Факултативните метилотрофи (*Methylobacterium organophilum*, *Methylophilus spp.*, *Paracoccus denitrificans*, *Hyphomicrobium spp.*, *Methylotenera spp.*) използват за растежа си освен C_1 съединения и по-сложни органични съединения. Не могат да окисляват метан.

Окислението на метана до метанол се осъществява с ензима *метан монооксигеназа*, който използва NADH като коензим (Фиг. 1). Следва окисление на метанола до формалдехид, а електроните от окислението се насочват към електрон-транспортна система за синтез на АТФ. *Метанол дехидрогеназата* редуцира пиролохинолин хинон (PQQ). Пиролохинолин хинонът, с редокс потенциал $E_0 = +0.12 \text{ V}$ участва като коензим на ензимите *глюкоза дехидрогеназа* при *Pseudomonas putida* и *алкохол дехидрогеназа* при оцетнокиселите бактерии. Формалдехидът може да се асимилира в клетъчен материал или да се окисли до мравчена киселина с ензима *формалдехид дехидрогеназа*. В последния етап, с ензима *формиатдехидрогеназа* се регенерира редуцирания NAD (NADH) от първия етап на окислението.



Фиг. 1. Окисление на метан. (1) монооксигеназа; (2) метанол дехидрогеназа; (3) формалдехид дехидрогеназа; (4) формиат дехидрогеназа.

При култивиране на бактериите на среда с метан се натрупва повече биомаса, отколкото на среда с метанол, въпреки че, при окислението на последния се получават повече редуциращи еквиваленти и би следвало да се синтезира по-голямо количество АТФ. Вероятно, това несъответствие е свързано с по-високия разход на енергия при транспортирането на метанола в клетката.

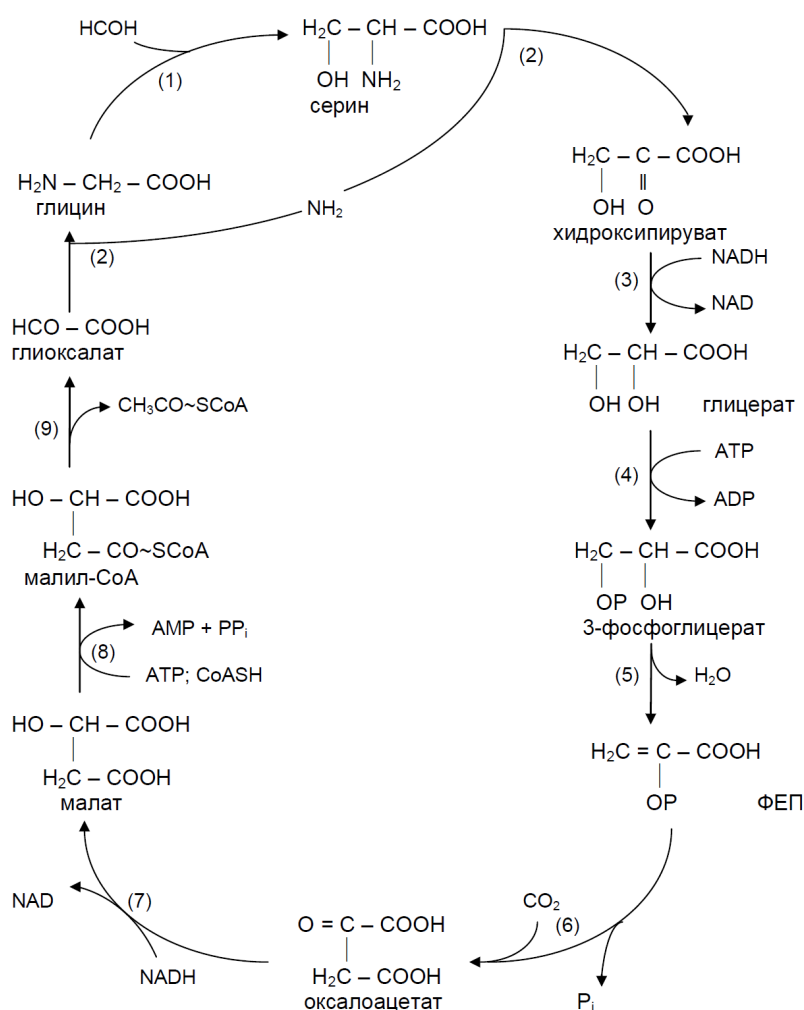
Methylosinus trichosporium синтезира разтворима и мембранно-свързана *метан монооксигеназа*. Разтворимият ензим има ниска субстратна специфичност, може да окисли чрез **комета-**

болизъм редица ксенобиотици като, трихлоретен, хлороформ, бензен, толуен, стирен, крезол, нафтаген, винилхлорид.

Анаболитният метаболизъм на метилотрофите се разграничава от енергийния на ниво формалдехид. Метилотрофите провеждат два пътя на фиксация на формалдехид.

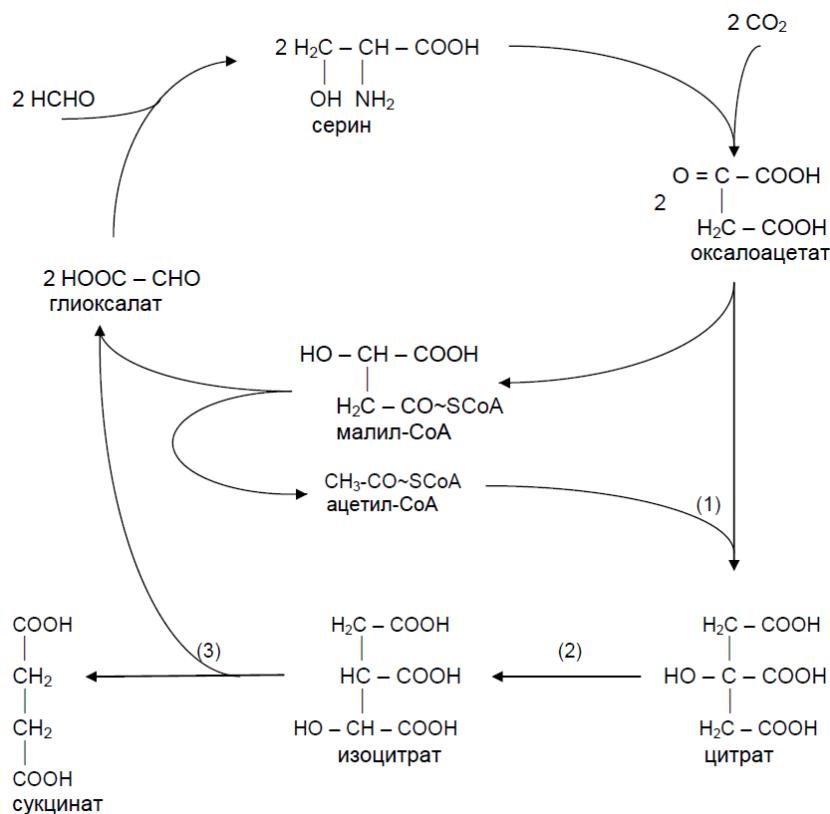
1. Серин-изоцитрат лиазен път

В **сериновия път** се образува ацетил-CoA от формалдехид и CO₂ (Фиг. 2). Акцептор на формалдехида е глицин, а серинът, който се образува под действието на ензима *хидроксиметиллаза* се превръща в съответната α-кетокиселина (хидроксипируват) в резултат на *трансаминазна* реакция. Хидроксипируватът през глицерат и 3-фосфоглицерат се превръща във фосфоенолпируват. Последният се карбоксилира до оксалоацетат (анаплеротична реакция). Следва редукция на оксалоацетата до малат, който се активира, превръщайки се в съответния CoA естер – малил-CoA. Последният се разпада до ацетил-CoA и глиоксалат, който в *трансаминазна реакция* регенерира акцепторната молекула на глицина. Ключови ензими в сериновия път са *малил-CoA* лиаза, *серин-глиоксалат трансаминаза* и *хидроксипируват редуктаза*.



Фиг. 2. Серинов път. (1) серинхидроксиметилаза; (2) серин:глиоксалат трансаминаза; (3) хидроксипируват редуктаза; (4) глицераткиназа; (5) фосфоглицеромутаза + енолаза; (6) фосфоенолпируват карбоксилаза; (7) малат дехидрогеназа; (8) малаттиокиназа; (9) малил-CoA лиаза

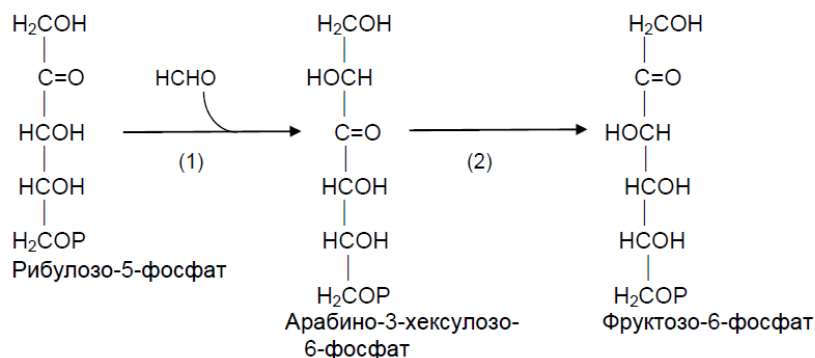
Ацетил-CoA, образуван в сериновия път не е достатъчен за обезпечаване на нуждите на клетката от молекули-предшественици. Съчетаването на сериновия път с реакции, катализирани от ензимите *цитрат синтаза*, *cis-аконитаза* и *изоцитрат лиаза* води до пряко образуване на сукцинат от две молекули CO₂ и две молекули HCHO. Тази метаболитна последователност е известна като **серин-изоцитрат лиазен път** (Фиг. 3). Функционира при *Methylosinus*, *Methylocystis* и редица факултативни метилотрофи.



Фиг. 3. Серин-изоцитрат лиазен път. (1) цитратсинтаза; (2) *cis*-аконитаза; (3) изоцитрат лиаза

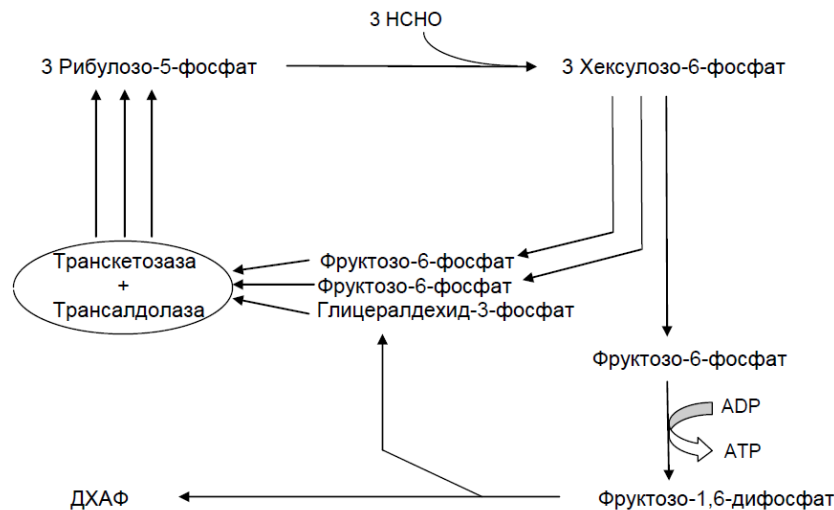
2. Рибулозомонофосфатен път

В този път НСНО кондензира с рибулозо-5-фосфат под действието на ензима *хексулозо-6-фосфат синтаза* и продукта изомеризира във *фруктозо-6-фосфат* (Фиг. 4).



Фиг. 4. Фиксация на формалдехид. (1) хексолозофосфат синтаза; (2) хексолозофосфат изомераза

Акцепторната молекула – рибулозо-5-фосфат се регенерира в *трансалдолазна* и *транске-толазна* реакции. Включването на три молекули НСНО в цикъла води до синтеза на молекула дихидроксиацетонфосфат (ДХАФ), който може да се използва за синтез на по-сложни органични съединения (Фиг. 5). Рибулозомонофосфатният цикъл функционира при представителите на родове *Methylococcus* и *Methylomonas*.



Фиг. 5. Рибулозомонофосфатен път. ДХАФ – дихидроксиацетонфосфат

Облигатни метилотрофи

Род *Methylococcus*. Клетките са сферични, обикновено се срещат по двойки. Неподвижни, Грам-отрицателни. Използват CH_4 , CH_3OH , CHON като единствени източници на въглерод и енергия. Не се нуждаят от органични растежни фактори.

Типов вид: *Methylococcus capsulatus*. Коки с диаметър $d = 1.0 \mu\text{m}$; развиват се при температура $30 - 50^\circ\text{C}$; оптимална температура 37°C ; Асимилират въглерод чрез рибулозомонофосфатния път. Синтезират рибулозодифосфат карбоксилаза, т.е. способни са да фиксират автотрофно CO_2 . Нитрогеназната активност е вариабелен признак.

Род *Methylomonas*. Прави, разклонени или извити пръчици с размери $0.5 - 1.0 \mu\text{m} \times 1.0 - 4.0 \mu\text{m}$; Грам-отрицателни. Източници на въглерод и енергия са CH_4 , CH_3OH , CHON . Не се нуждаят от органични растежни фактори. Развиват се при температура $20 - 35^\circ\text{C}$.

Типов вид: *Methylomonas methanica*.

Факултативни метилотрофи

Род *Methylobacterium*. Пръчици с размери $0.8 - 1.0 \times 1.0 - 8.0 \mu\text{m}$; Грам-отрицателни или Грам-вариабилни. Клетките често съдържат суданофилни или волутинови гранули.

Повечето щамове растат бавно или не растат на хранителен агар. Способността за усвояване на CH_4 като единствен източник на въглерод и енергия се губи, ако щамовете не се поддържат на неорганична среда, в метанова атмосфера. Оптимална температура – $25 - 30^\circ\text{C}$.

Типов вид: *Methylobacterium organophilum*

Род *Methylophaga*. Използват C_1 съединения (метанол и метиламин) и фруктоза. Не растат на среда с метан. Изолират се от морски води.

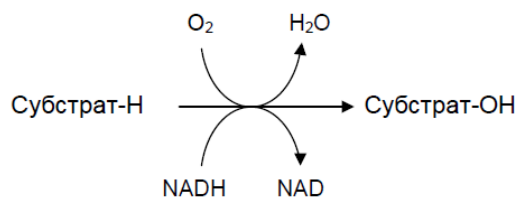
Типов вид: *Methylophaga marina*

Метаболизъм на алифатни въглеводороди, различни от метан

Неголям брой представители на *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Flavobacterium* окисляват етан, пропан, бутан.

С удължаване на веригата на въглеводородите нараства броя на видовете способни да ги усвояват – *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Nocardia petroleophila*, *Candida lipolitica*, *Corynebacterium glutamicum*, *Arthrobacter simplex*, *Cephalosporium roseum*. Предвид неразтворимостта на тези съединения, посочените микроорганизми очевидно притежават ефективна система за транспорт. Част от тази система са гликолипидите, локализирани на външната страна на клетъчната стена, които формират микроемулсия от въглеводороди, преминаваща през клетъчната мембрана.

Разграждането на въглеводородите започва с окисление на терминалната метилова група до алкохолна, катализирано от монооксигеназа:

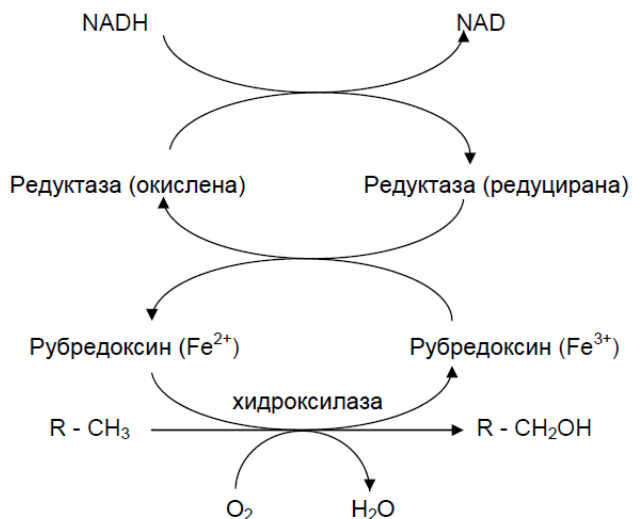


Монооксигеназата (хидроксилаза) въвежда единия атом на молекулния кислород в молекулата на субстрата; вторият кислороден атом се редуцира до вода.

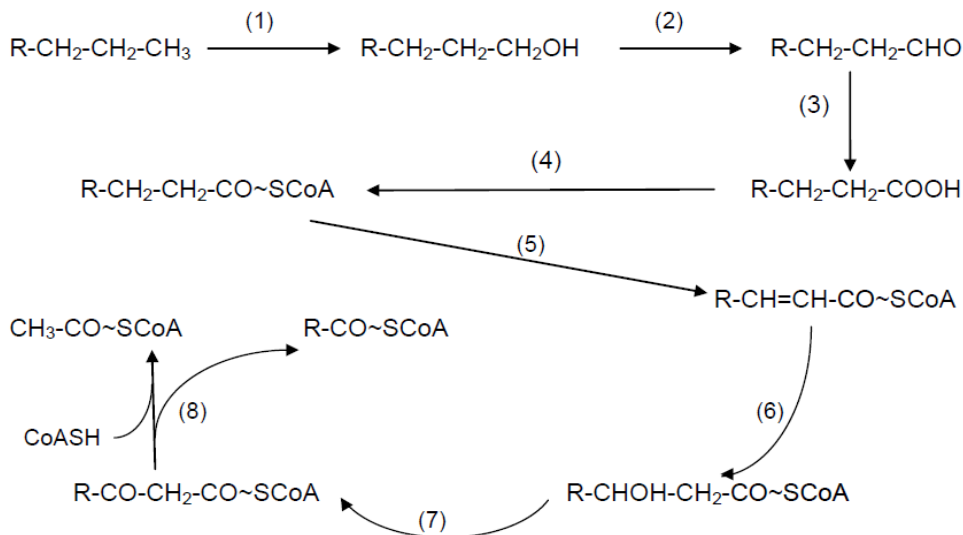
Pseudomonas putida осъществява окислението с три белтъка – рубредоксин, NADH-оксидоредуктаза и алкан-1-хидроксилаза (фиг. 6). Рубредоксинът се редуцира за сметка на NADH и осигурява електрони за монооксигеназата, окисляваща въглеродородата.

Образуваните се първичен алкохол се окислява първоначално до алдехид, а след това с NAD-зависима дехидрогеназа – до съответната мастна киселина. По-нататъшното окисление на мастната киселина се осъществява по пътя на β -окислението (Фиг. 7).

Характерът на продуктите зависи от природата на субстрата и съответния микроорганизъм. Редица *Pseudomonas* окисляват въглеродородите напълно, без да натрупват междинни продукти; *Acinetobacter calcoaceticus* отделя продуктите на окислението в средата, а *Nocardia* – в клетката.

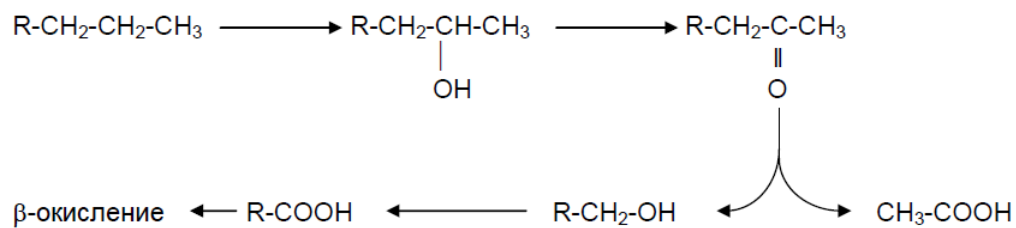


Фиг. 6. Алканхидроксилазна система при *Pseudomonas*.



Фиг. 7. Разграждане на алкани. (1) монооксигеназа (алкан-1-хидроксилаза); (2) алкохолдехидрогеназа; (3) алдехиддехидрогеназа; (4) ацил-CoA синтетаза; (5) ацил-CoA дехидрогеназа; (6) 3-хидроксиацил-CoA хидролизаза; (7) 3-хидроксиацил-CoA дехидрогеназа; (8) β -кетотиолаза

Има данни за субтерминално (β -) окисление на въглеродородите, при което се получават метилкетони. По-нататъшното разграждане на кетоните води до получаване на първичен алкохол, чиято въглеродна верига е с два атома по-къса в сравнение с изходния субстрат:



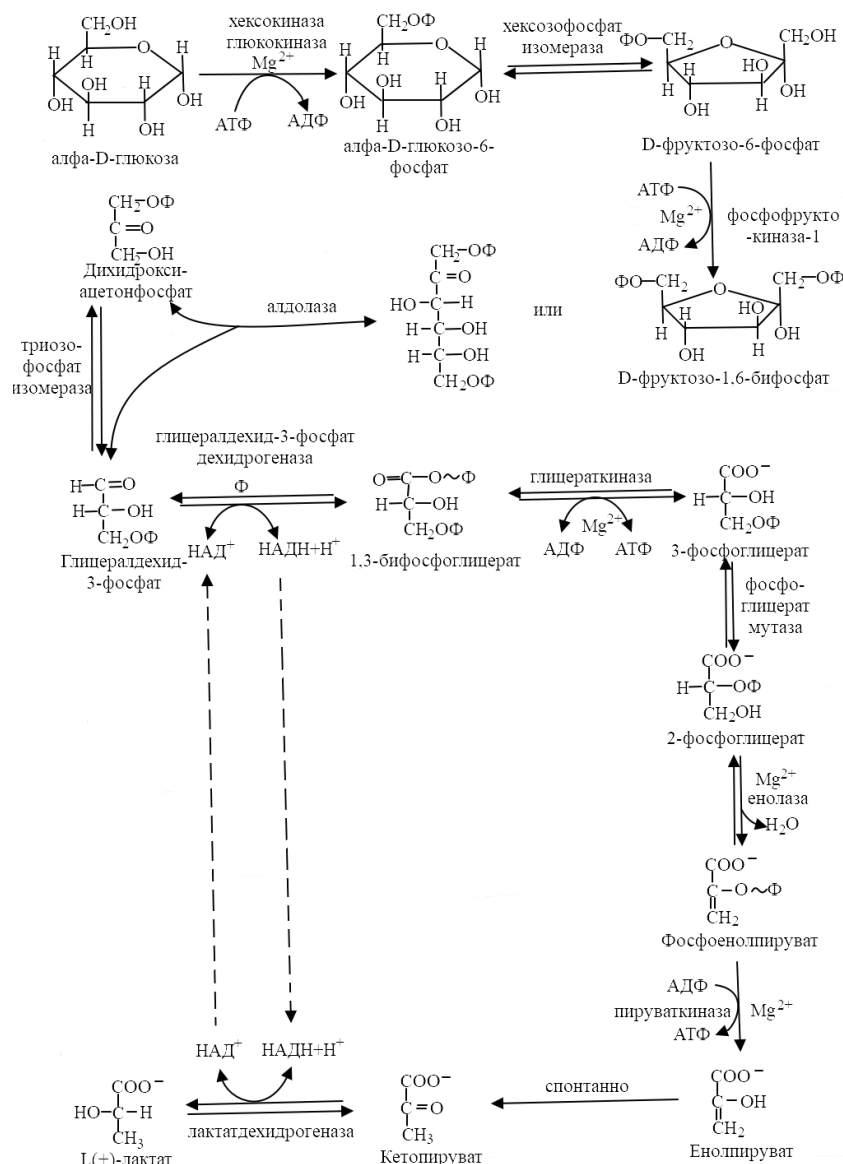
При някои микроорганизми (*Mycobacterium smegmatis*, *Candida lipolytica*) функционират едновременно и двата механизма – окисление в положение C₁ и C₂. *Corynebacterium* осъществяват дитерминално окисление на въглеводородите: образуващата се мастна киселина повторно се хидроксилира до дикарбонова, която се подлага на окисление.

1. Катаболизъм на въглехидрати

Въглехидратите са най-предпочитаният източник за окислително разграждане, в хода на което организмите получават енергия в използвана форма. Разграждането на въглехидратите протича в два етапа: 1) полизахаридите и олигозахаридите се разграждат до монозахариди; 2) монозахаридите се разграждат до CO_2 и H_2O .

1.1. Анаеробно разграждане на глюкоза – гликолитичен обменен път (гликолиза)

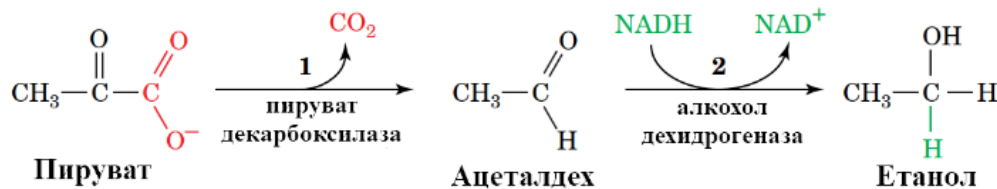
Разграждането на глюкозата (респ. др. монозахариди) в клетката започва в цитоплазмата, при анаеробни условия, по гликолитичния обменен път, наречен гликолиза. В хода на гликолизата, 1 молекула глюкоза се разгражда до 2 молекули пирогроздена киселина (пируват), а отделената енергия се съхранява в макроергични връзки – синтезира се АТФ (Фиг. 1., Г. Косекова – Лекции по биохимия).



Фиг. 1. Реакции в гликолитичната верига.

Разграждането на 1 молекула глюкоза по гликолитичната верига, в анаеробни условия, води до получаване на: 2 молекули пируват + $2\text{H}_2\text{O} + 4\text{ATP}$. От добитата енергия, под формата на АТФ, само 2 молекули АТФ са реален добив, тъй като в подготвителната фаза на гликолизата се изразходват 2 молекули АТФ.

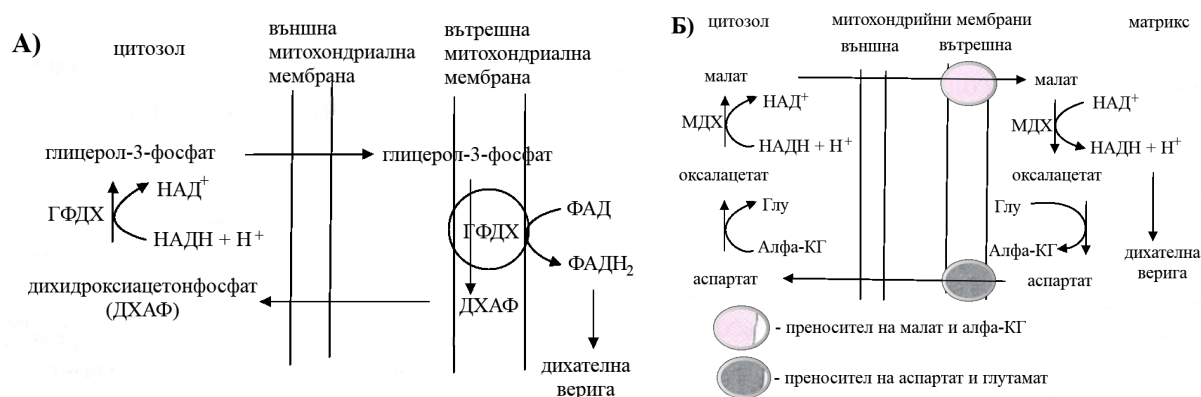
При анаеробни условия, напр. при хлебни дрожди *Saccharomyces cerevisiae*, пируватът се превръща в етанол (алкохолна ферментация) (Фиг. 2. Voet & Voet, 5th Ed.)



Фиг. 2. Анаеробно разграждане на пируват до етанол (алкохолна ферментация).

1.2. Връзки меду гликолиза и дихателни вериги.

Вътрешната митохондриална мембрана е непропусклива за НАДН и НАДФН, които се отделят в хода на окислителните процеси в цитоплазмата (вкл. гликолизата). Установени са 2 совалкови механизма, осъществяващи преноса на водород от цитоплазмата към митохондриите, където се осъществява транспортирането му по дихателните вериги до кислорода: 1) глицеролфосфатна совалка; 2) малатна совалка (Фиг. 3, Г. Косекова – Лекции по биохимия). При разграждане на 1 молекула глюкоза до 2 молекули пируват по гликолизата (2АТФ) и при използване на глицеролфосфатна совалка (4АТФ) или малатна совалка (6АТФ) се синтезират 6 и съответно 8 молекули АТФ. Глицеролфосфатната совалка действа в скелетните мускули и мозъка, а малатната совалка – в сърдечния мускул, черния дроб и мастната тъкан.

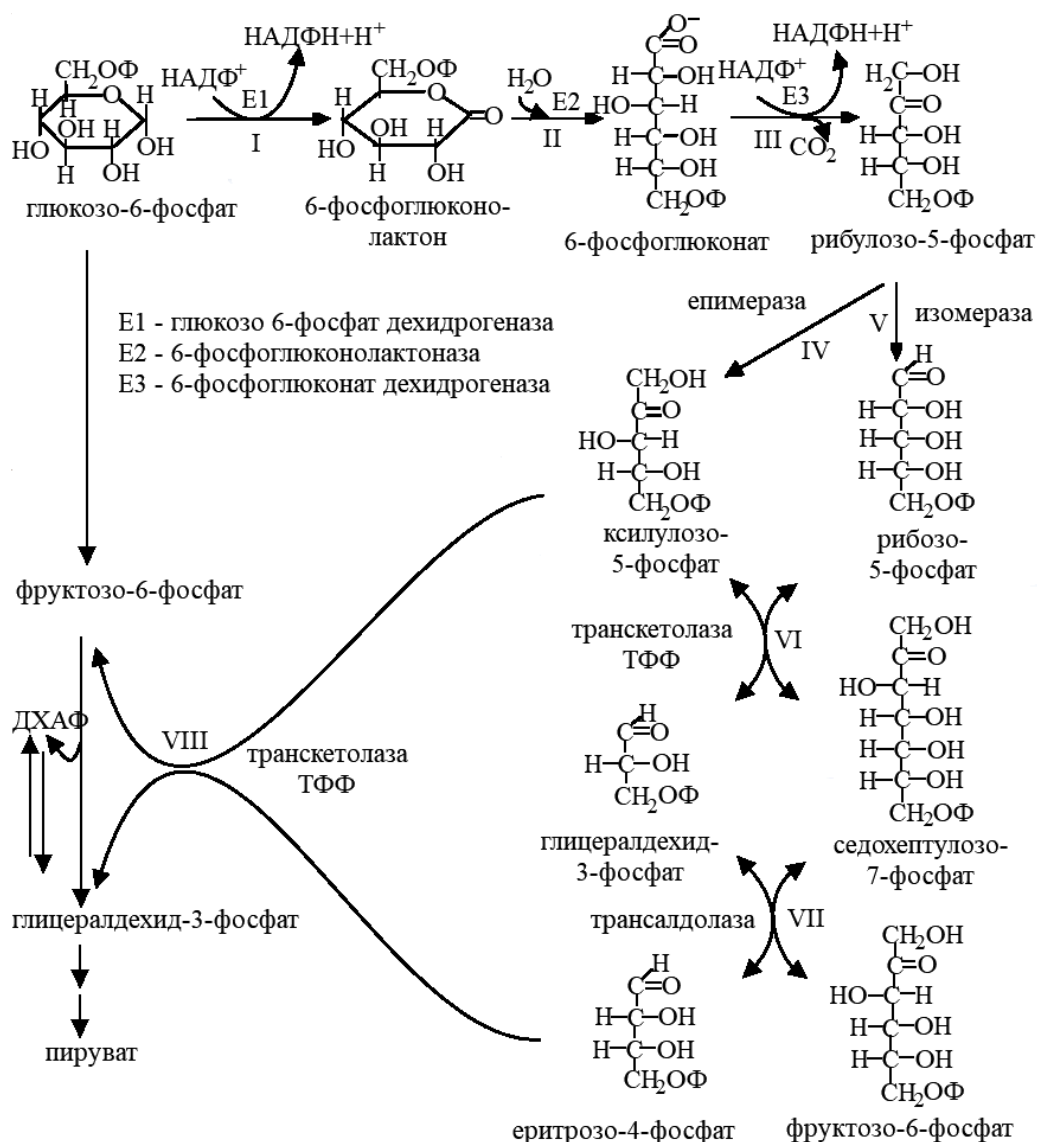


Фиг. 3. Соваков механизми за пренос на водород от цитоплазмата към дихателните вериги в митохондриите. А) Глицеролфосфатна совалка. Б) Малатна совалка. Съкращения: ГФДХ – глицеролфосфат дехидрогеназа; МДХ – малат дехидрогеназа; Глу – глутамат; α -КГ – α -кетоглутарат.

1.3. Други пътища за разграждане на глюкоза

1.3.1. Пентозофосфатен път (ПФП)

ПФП протича в цитоплазмата при анаеробни условия и се отклонява от гликолизата на нивото на глюкозо-6-фосфат. Отново се влива в гликолизата на нивото на фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат. В хода на ПФП се получава НАДФН, който е необходим за синтезните процеси. Получава се рибозо-5-фосфат, който се използва в биосинтеза на нуклеотиди, а от тях и на нуклеинови киселини. Полученият глицералдехид-3-фосфат се използва за получаване на глицерол-3-фосфат в мастна тъкан за синтеза на триацилглицероли (Фиг. 4, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

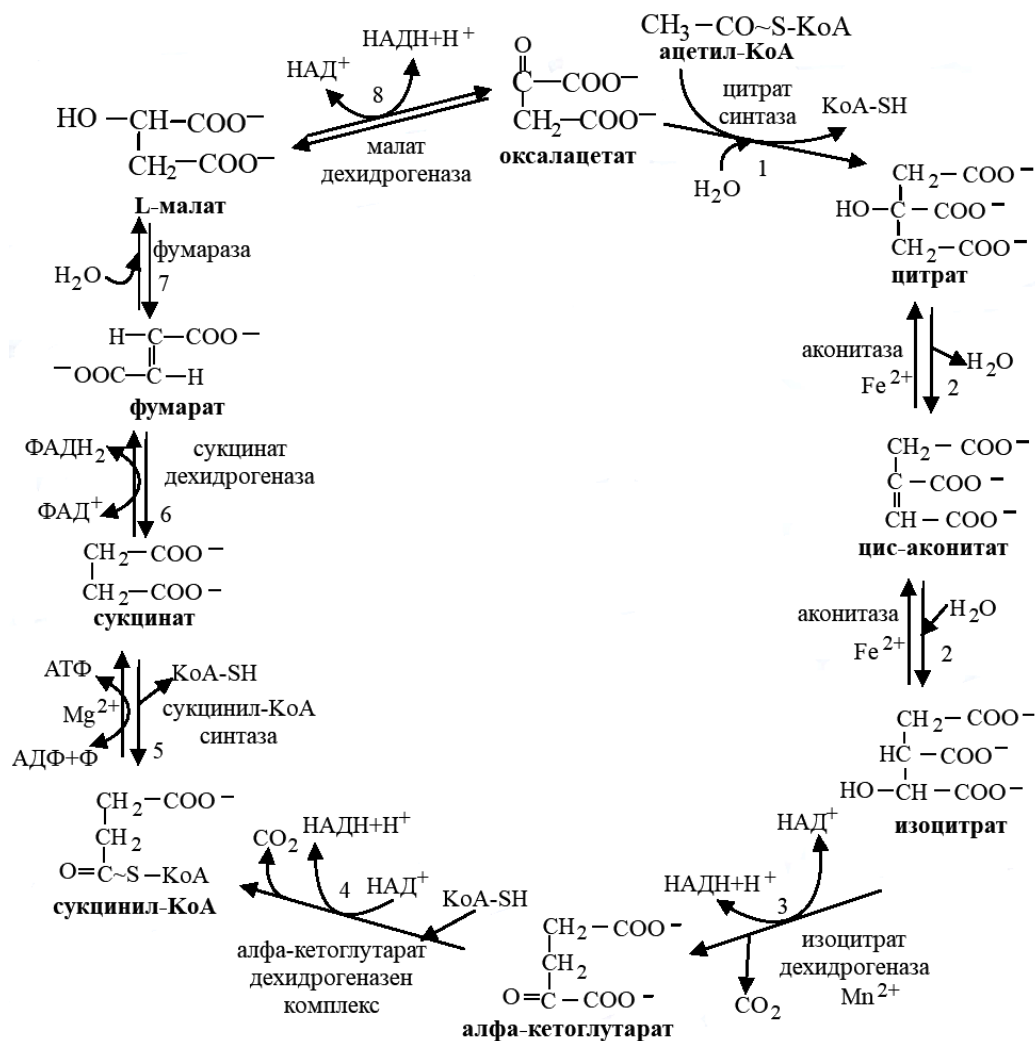


Фиг. 4. Пентозофосфатен път, в който 3 молекули глюкозо-6-фосфат се превръщат в 3 CO_2 , 2 фруктозо-6-фосфат и 1 глицералдеhid-3-фосфат. Вляво вертикално е представена схематично гликолизата. В реакции VI и VIII, катализираните от транскетолаза, се пренасят C_2 -фрагменти. C_3 -фрагмент се пренася от трансалдолазата в реакция VII.

Ензими: I – глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа; II – лактоназа; III – 6-фосфоглюконат дехидрогеназа; IV – еписмераза; V – изомераза; VI – транскетолаза; VII – трансалдолаза; VIII – транскетолаза.

1.2. Цитратен цикъл (цикъл на Кребс)

Серия от реакции, катализираните от осем ензима, които разграждат ацетиловата група на ацетил-КоА до CO_2 и H_2O (Фиг. 5, Г. Косекова – Лекции по биохимия). Протича в митохондриалния матрикс при аеробни условия. Главен източник на АТФ – отделя се водород от отделните метаболити, който се поема от НАД и ФАД и се подава към дихателните вериги – синтезира се АТФ. Главен катаболитен път за разграждане на въглехидрати, мазнини и белтъци. Цикълът на Кребс е тясно свързан и с анаболитните процеси – от негови метаболити започват важни синтезни пътища.



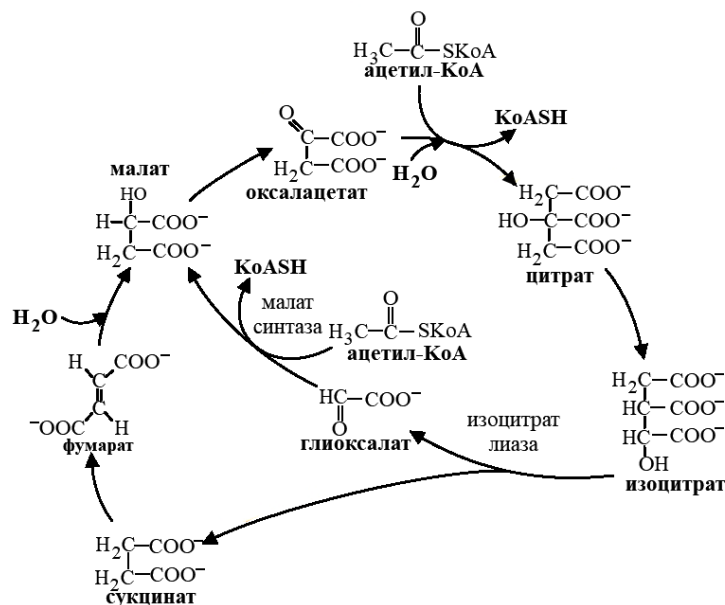
Фиг. 5. Реакции на цитратен цикъл. 1 – Кондензация на оксалацетат и ацетил-КоА до цитрат; 2 – превръщане на цитрат в изоцитрат; 3 – окислително декарбоксилиране на изоцитрат (като β-хидроксикиселина) до α-кетоглутарат; 4 – окислително декарбоксилиране на α-кетоглутарат (като α-кетокиселина) до сукцинил-КоА; 5 – енергията на тиоестерната макроергична връзка на сукцинил-КоА се пренася върху АДФ и се получава сукцинат и АТФ на субстратно ниво; 6 – Дехидрогениране на сукцинат до фумарат; 7 – хидратиране на фумарат до малат; 8 – дехидрогениране на малат до оксалацетат.

Енергиен добив от цитратния цикъл. От разграждането на 1 молекула ацетил-КоА в цикъла на Кребс се получават 12 молекули АТФ. От 1 молекула глюкоза се получават 2 молекули ацетил-КоА, от които се синтезират 24 молекули АТФ в комбинацията цикъл на Кребс + дишателни вериги.

Енергиен добив при анаеробно и аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза до CO₂ и H₂O: гликолиза (2 молекули АТФ) + совалкови механизми за пренос на редуциращи еквиваленти (6/4 молекули АТФ) + окислително декарбоксилиране на пируват до ацетил-КоА (6 молекули АТФ) + цикъл на Кребс (24 молекули АТФ) = 38/36 молекули АТФ.

1.3. Глиоксалатен цикъл

Представлява скъсен вариант на цикъла на Кребс. Характерен за някои микроорганизми и растения. При еукариотните организми е локализиран в специализирани цитоплазмени органели – глиоксизоми. От включени в цикъла 2 молекули ацетил-КоА се синтезира оксалацетат или негов предшественик от цитратния цикъл – малат, фумарат или сукцинат. Не се отделя CO₂ (не се разгражда органично съединение), но има окислителни стъпала – печели се енергия (макар и по-малко). Има синтетично значение – получения оксалацетат респ. малат да се използват за синтез на въглехидрати; да се синтезират аминокиселини. Използва се от микроорганизми и прорастващи растения за превръщане на мазнини във въглехидрати и в аминокиселини (белтъци) (Фиг. 6 Г. Косекова – Лекции по биохимия).



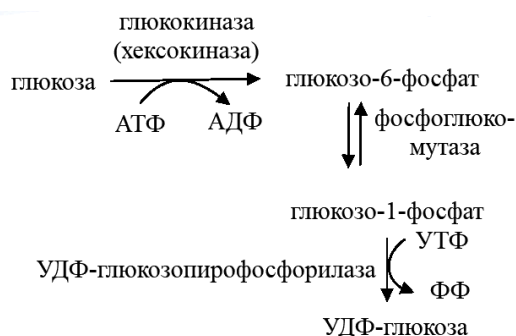
Фиг. 6. Глиоксалатен цикъл

2. Биосинтез на олиго- и полизахариди

Олигозахаридите са най-често междинен продукт от разграждането и/или биосинтезата на полизахаридите. Под действие на α -амилаза, вътрешните α -1,4-гликозидни връзки в хомополизахаридите скорбяла и гликоген биват хидролизирани до получаване на смес от малтоолигозахариди с разклонена структура. Под действие на α -1,6-гликозидаза, биват хидролизирани α -1,6-разклоненията в скорбялата и гликогена.

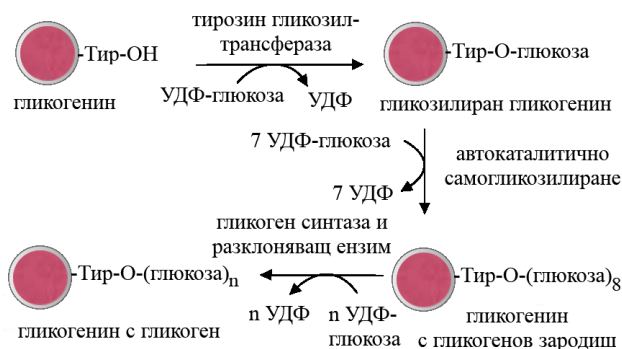
2.1. Биосинтез на гликоген.

Синтезата на гликоген започва с активиране на глюкозата до УДФ-глюкоза. Хексокиназа в мускулите и глюкокиназа в черния дроб фосфорилират глюкозата до глюкозо-6-фосфат (Фиг. 7. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



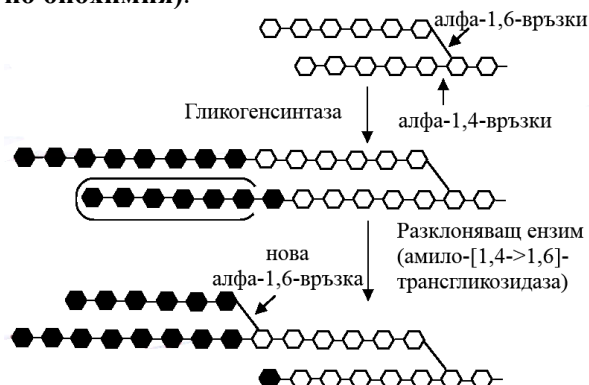
Фиг. 7. Активиране на глюкоза до УДФ-глюкоза при синтеза на гликоген.

За синтеза на гликоген е нужен зародиш от поне 7 глюкозни остатъка, свързани с α -1,4-гликозидни връзки. Той се образува с участието на ензимите тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин (автогликозилиращ се ензим) (Фиг. 8. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



Фиг. 8. Образуване на гликогенов зародиш (праймер), с участието на тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин.

Полученият къс фрагмент е зародишът, необходим за действие на гликоген синтазата. Тя удължава веригата, добавяйки един по един глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, образувайки α -1,4-гликозидни връзки (Фиг. 9. Г. Косекова – Лекции по биохимия).

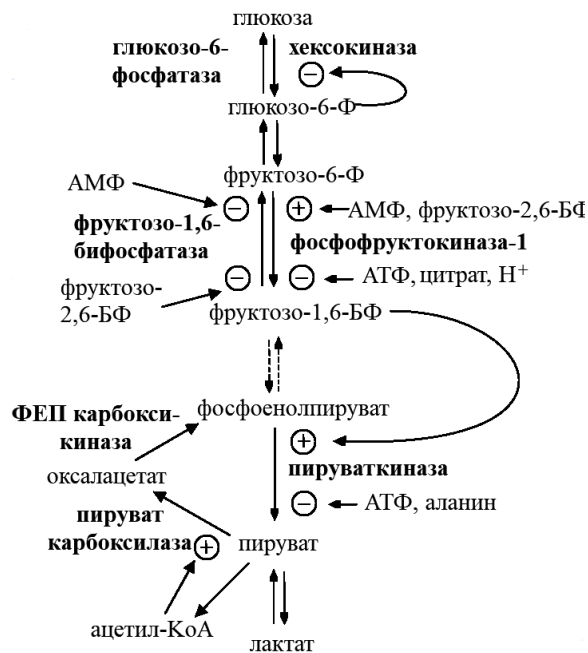


Фиг. 9. Действие на гликоген синтаза за удължаване на веригата и на амило-(1,4 $\rightarrow$ 1,6)-трансгликозидаза за разклоняване на веригата. Синтазата прехвърля глюкозни остатъци (един по един) от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, а разклоняващият ензим прехвърля фрагмент от 7 остатъка от главната верига към -ОН група на 6-о място в глюкозен остатък от същата или друга верига.

3. Регулация на въглехидратния метаболизъм

3.1. Регулация на гликолиза и глюконеогенеза

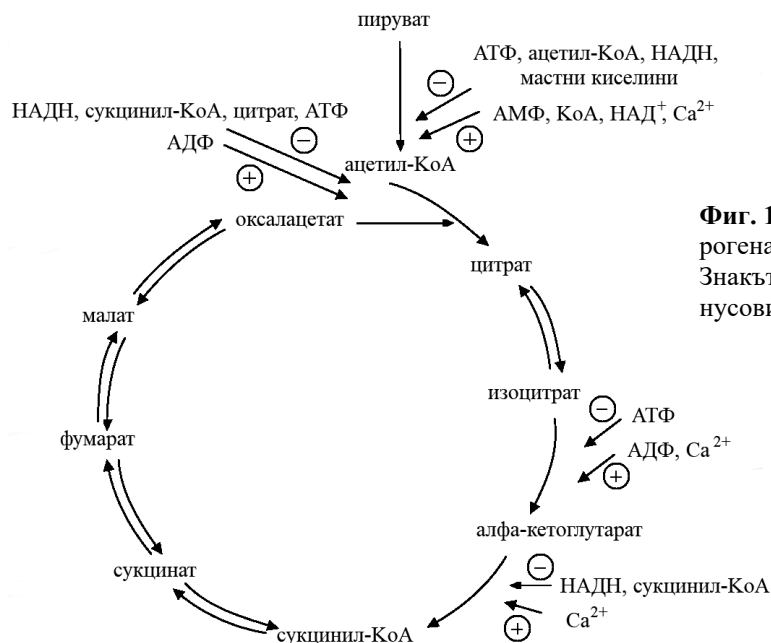
Гликолизата и глюконеогенезата не протичат едновременно, а се регулират реципрочно, в зависимост от нуждите на организма. Регулаторни ензими за глюконеогенезата са: пируват карбоксилаза, ФЕП карбоксикиназа, фруктозо-1,6-бифосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза (Фиг. 10, Г. Косекова – Лекции по биохимия). Катализираните реакции са екзергонични и необратими. Най-важният регулаторен ензим при глюконеогенезата е фруктозо-1,6-бифосфатазата – инхибира се алостерично от фруктозо-2,6-бифосфат, който активира фосфофруктокиназа-1 от гликолизата. Балансът между гликолиза и глюконеогенеза е под хормонален контрол. В черния дроб, при ниско ниво на глюкоза, глюкагонът стимулира образуване на АМФ, който активира протеин киназа А да фосфорилира фосфофруктокиназа-2 (инактивиране) и фруктозо-2,6-бифосфатаза (активиране). Това инактивира фосфофруктокиназа-1 и активира фруктозо-1,6-бифосфатаза. Това измества равновесието в полза на глюконеогенезата. Високо ниво на глюкоза намалява концентрацията на цАМФ, увеличава концентрацията на фруктозо-2,6-бифосфат и това стимулира гликолизата.



Фиг. 10. Регулация на глюконеогенеза и гликолиза.

3.2. Регулация на цикъла на Кребс.

В цикъла на Кребс има 3 регулаторни ензима: цитрат синтаза, изоцитрат дехидрогеназа, α -кетоглутарат дехидрогеназен комплекс. Значение има и пируват дехидрогеназния комплекс (ПДХК), който доставя ацетил-КоА (Фиг. 11, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

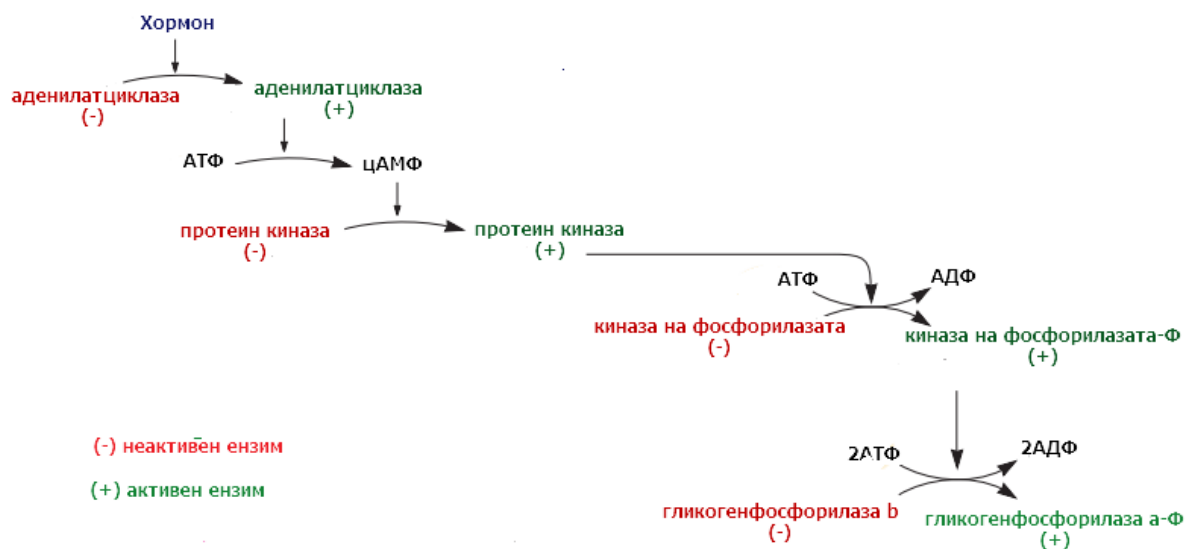


Фиг. 11. Регулация на пируват дехидрогеназен комплекс и цитратен цикъл. Знакът плюс показва активиране, а минусовият знак – инхибиране.

ПДХК се инхибира алостерично от висока концентрация АТФ, НАДН и ацетил-КоА – показател за наличие на енергия и субстрати. АМФ, КоА и НАД⁺ активират алостерично ПДХК. Интезитетът на цитратния цикъл намалява при недостиг на субстратите (оксалацетат и ацетил-КоА) или НАД⁺. Сукцинил-КоА, АТФ и цитрат са алостерични инхибитори на началните реакции на цикъла. Калциевите йони сигнализируют мускулно съкращение и стимулират окислителните реакции, доставящи енергия в използваем вид.

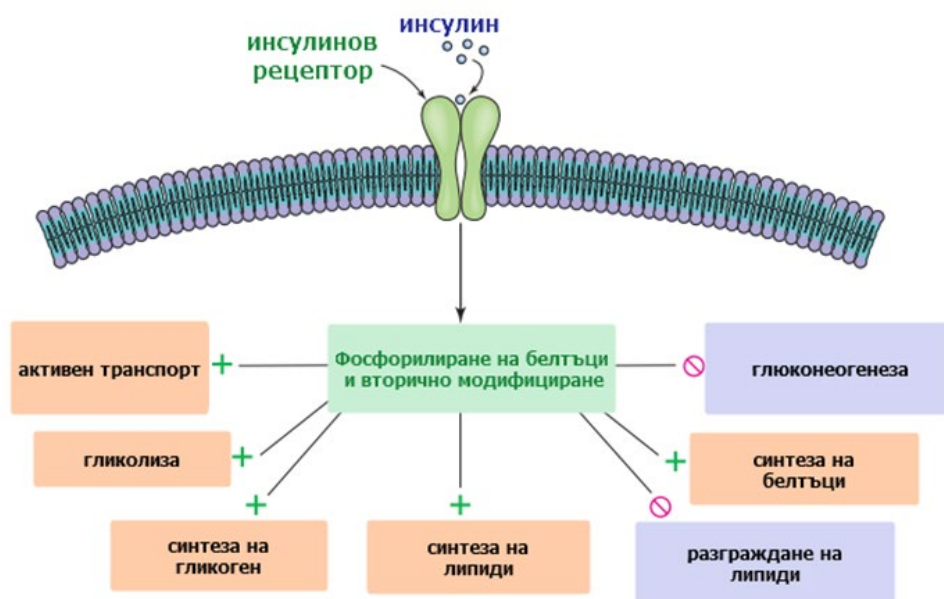
3.3. Регулация на гликогеновия метаболизъм

Глюкагон и епинефрин (адреналин) стимулират разграждането на гликогена (гликогенолиза) – епинефрин активира гликогенолизата в черния дроб и в мускулите. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата, водеща до разграждането на гликогена (**Фиг. 12, Garrett & Grisham, 6th ed.**).



Фиг. 12. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата.

Инсулинът стимулира синтеза на гликоген, чрез активиране на фосфопротеин фосфатаза, която дефосфорилира гликоген синтаза b (неактивна) и я превръща в активна форма (гликоген синтаза a) (**Фиг. 14, Garrett & Grisham, 6th ed.**).



Фиг. 13. Ефекти на инсулина върху гликогеновия метаболизъм и ковалентното модифициране на регулаторни ензими.

Катаболизъм на белтъци и α -аминокиселини. Дезаминиране, трансаминиране, декарбоксилиране. Разграждане на въглеродния скелет. Орнитинов цикъл.

Динамичното състояние на белтъците в организма е свързано с процеси на непрекъснато разграждане. При животните и човека, разграждането на белтъците има и смилателна стойност – постъпващите с храната белтъци се разграждат до α -аминокиселини (АК), които се усвояват от организма. Разграждането на белтъците е хидролитно – извършва се от протеолитични ензими, наречени пептидхидролази (протеази), които хидролизират пептидните връзки, при което се получават по-къси белтъчни фрагменти (пептиди) и свободни аминокиселини. Протеази се синтезират от всички живи организми, като изпълняват разнообразни функции – храносмилателна, защитна, регулаторна и др. Според мястото си на действие в полипептидната верига, протеазите се разделят на две основни групи ендопептидази и екзопептидази. Ендопептидазите хидролизират връзки във вътрешността на полипептидната верига, като повечето от тях проявяват специфичност по отношение на аминокиселините, участващи в образуването на пептидната връзка (трипсин, химотрипсин, пепсин, ренин, тромбин, плазмин, еластаза, колагеназа, кератиназа, протеази с растителен произход, като папаин, химопапаин, фицин, бромелин, както и някои микробни протеази).

Пепсин, трипсин, химотрипсин и ренин са смилателни ендопептидази при животинските организми. Те се отделят извън клетката и действат в средата или в кухината на храносмилателния тракт. Тези ензими се синтезират в клетките в неактивна форма – като преензими или зимогени и се активират извън клетките. Това е защитен акт на организма срещу нежелано вътреклетъчно действие. Активирането се състои в отделяне на части от полипептидната верига, които блокират активния център.

Екзопептидазите хидролизират крайни пептидни връзки в полипептидната верига, което води до освобождаване на аминокиселини и дипептиди. Разделят се на: карбоксипептидази – отделят АК със свободна карбоксилна група от С-края на полипептидната верига и аминопептидази – отделят АК със свободна amino група от N-края на полипептидната верига.

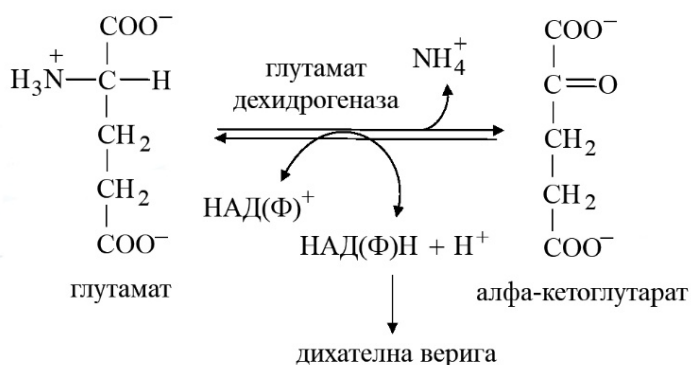
Хидролизното разграждане на белтъците води до получаване на 20 α -АК, които се подлагат на разграждане (катаболизъм).

Разграждането на аминокиселините започва с отделяне на amino групата.

Дезаминиране на АК – отделяне на amino групата от АК като амоняк.

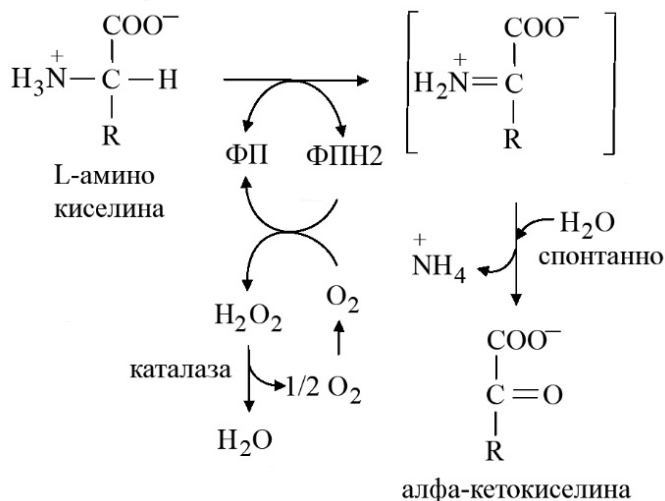
Окислително дезаминиране

Единствено глутаматът се дезаминира окислително с ензима глутамат дехидрогеназа, която пренася отделения водород върху НАД, който се редуцира и по дихателната верига се синтезират теоретично 3 молекули АТФ. Азотът се отделя като амониев йон. (Фиг. 1)



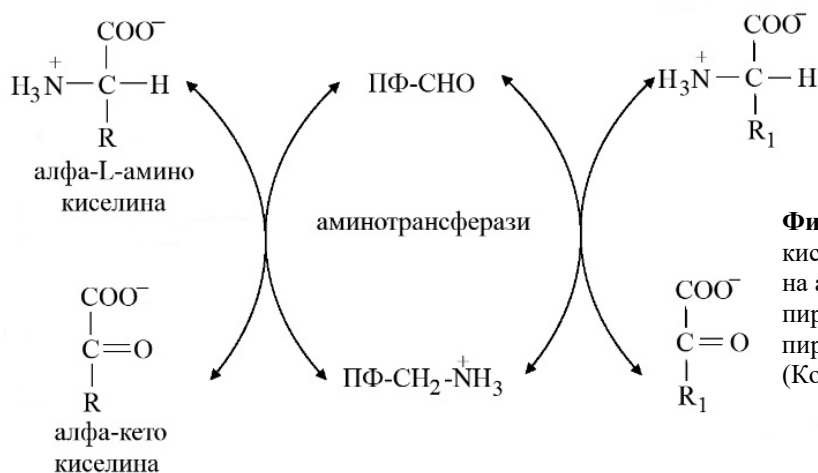
Фигура 1. Окислително дезаминиране на глутамат под действие на ензима глутамат дехидрогеназа. (Косекова Г. и съавт., 2010)

С изключение на глутамат, всички останали АК се дехидрогенират от ензими, свързани с флавинова редокс-система, която е свързана с аеробни дехидрогенази и отдава водорода директно на кислорода с образуване на водороден пероксид H_2O_2 – процес, при който не се печели енергия. Ензимите, които катализират този процес се наричат аминоксидази (Фиг. 2)



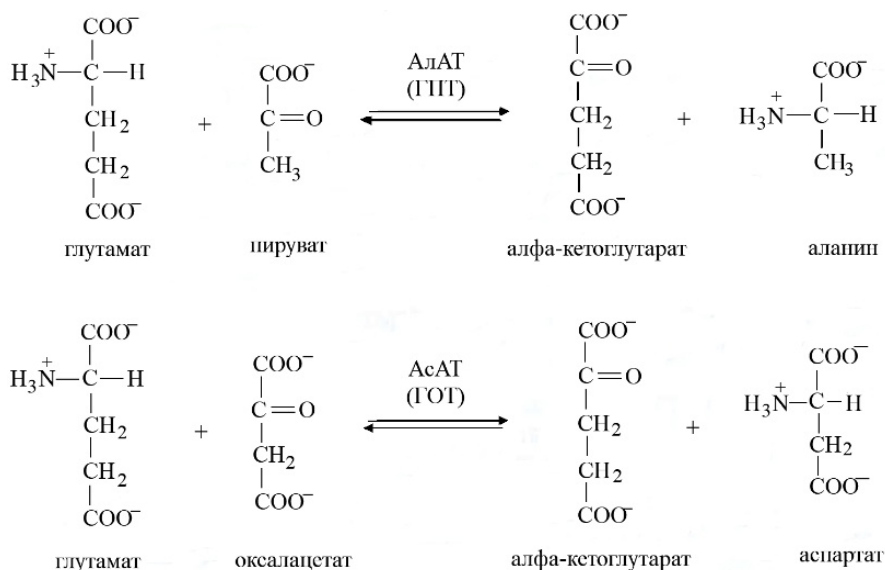
Фигура 2. Окислително дезаминиране на L-аминокиселини. (Косекова Г. и съавт., 2010)

Трансаминиране на АК – прехвърляне на amino група от една АК към кетокиселина, при което АК се превръща в кетокиселина, а кетокиселината в аминокиселина. Широко застъпен процес в животински организми и микроорганизми. Ензимите, които катализират този процес са аминотрансферази, които действат с коензим пиридоксал фосфат (ПФ). (Фиг. 3)



Фигура 3. Трансаминиране на аминокиселина и кетокиселина под действие на аминотрансфери с кофактори пиридоксал фосфат (ПФ-CHO) и пиридоксаминфосфат (ПФ-CH₂-NH₃⁺). (Косекова Г. и съавт., 2010)

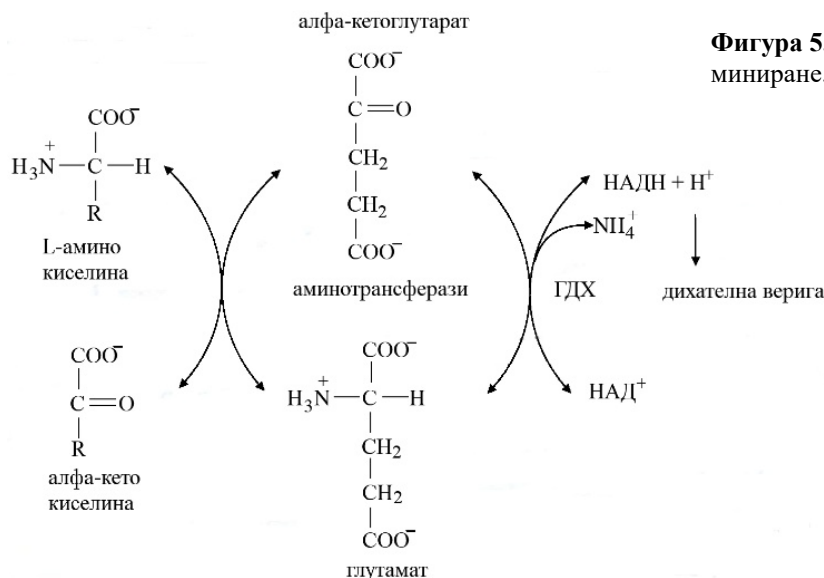
Като примери се представят реакциите, катализирани от аланин аминотрансферазата (АлАТ) и аспартат аминотрансферазата (АсАТ). Аmino групата на глутамата се прехвърля към кетокиселината пируват. При отделяне на amino групата, глутаматът се превръща в α-кетоглутарат. Прехвърлянето на amino групата към пируват води до получаване на аминокиселината аланин. Тази реакция се катализира от аланин аминотрансферазата. Аспартат аминотрансферазата катализира прехвърляне на amino групата от глутамат към кетокиселината оксалацетат, който се превръща в аминокиселината аспартат. (Фиг. 4)



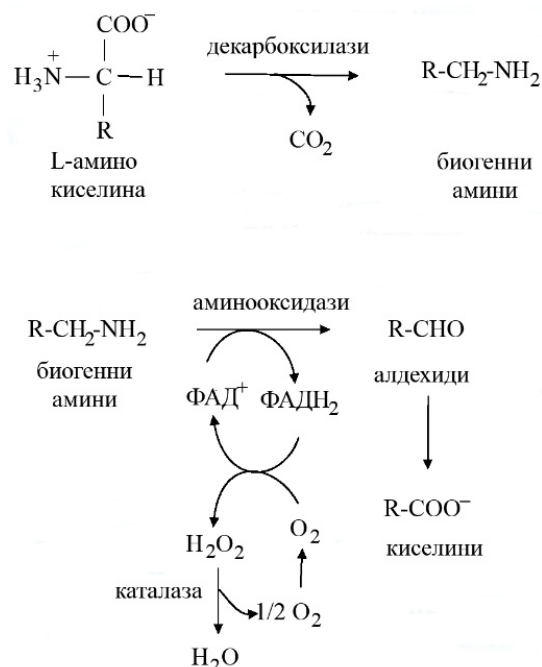
Фигура 4. Реакции, катализирани от аланин аминотрансферазата (АлАТ) и аспартат аминотрансферазата (АсАТ). (Косекова Г. и съавт., 2010)

При трансаминирането amino групите не се отделят като амоняк, но процесът има значение за превръщането на кетокиселините (продукти от въглехидратната обмяна) в АК и обратно т.е. осъществява се връзка между обменните пътища на белтъци и въглехидрати. Чрез трансаминирането се регулира в качествено отношение АК резервоар в клетките в зависимост от нуждите на белтъчната биосинтеза.

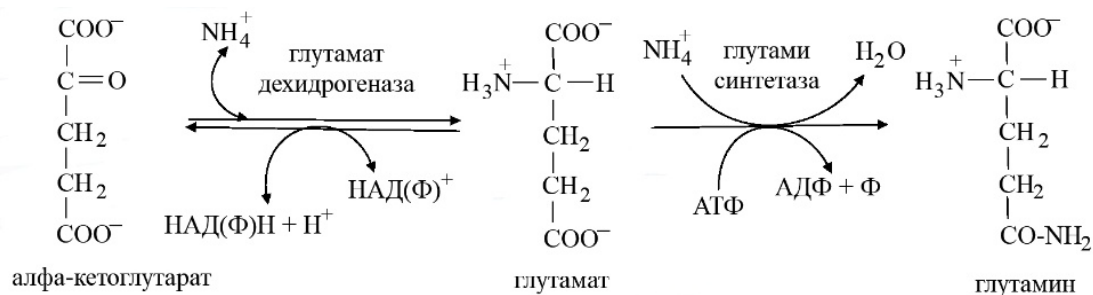
Трансдезаминиране на АК – комбинация между трансаминиране и окислително дезаминиране на глутамат, който е единствената АК, дезаминираща се с енергетичен добив. Ако АК се трансаминира с α-кетоглутарат ще се получат различни кетокиселини и глутамат. Глутаматът се подлага на окислително дезаминиране, отделя се амоняк и отново се превръща в α-кетоглутарат, с което се затваря кръгов процес. Така се осигурява бързо и лесно дезаминиране на всички АК. (Фиг. 5)



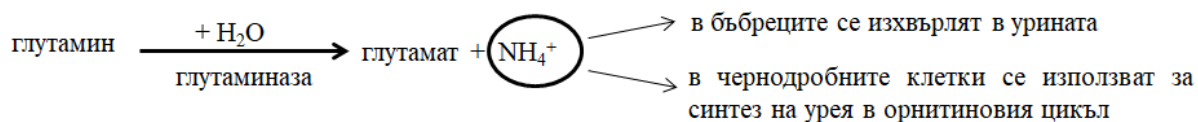
Декарбоксилиране на АК – отделяне на CO_2 от АК. Процесът се катализира от декарбоксилази. Страничен обменен път за АК при растенията и животинските организми. При микроорганизмите декарбоксилирането на АК е широко застъпен процес и обикновено доминира над дезаминирането като главен обменен път. Получават се амини, които в малки количества упражняват физиологични и фармакологични ефекти върху организмите и се наричат биогенни амини. Отстраняването на биогенните амини от клетките включва окислително им дезаминиране до алдехиди. Процесът се катализира от аминоксидази, които действат с ФАД и в резултат на дехидрогенирането се получава H_2O_2 . Получените алдехиди се окисляват до карбоксилни киселини, които се включват в катаболитните пътища на мастните киселини. (Фиг. 6).



Обезвреждане на токсичния амоняк, отделен при разграждане на аминокиселините става чрез свързването му в използваема и нетоксична форма. Това става чрез редуktivно аминиране на α -кетоглутарат и синтез на глутамин (Фиг. 7). Глутаминът се синтезира в мозъка и други тъкани. Тази аминокиселина е транспортна форма на включения в нея амоняк.



Глутаминът лесно преминава през мембрани, тъй като е незареден и е източник на безвреден амоняк, който може да се използва за различни синтези. По кръвен път се пренася до черния дроб, бъбреци и други тъкани. Под действие на ензима глутаминаза, глутамин се разгражда хидролитно до глутамат и амониев йон:



Разграждане въглеродния скелет на аминокиселините

В зависимост от това до какви метаболити се разграждат АК, се разделят на гликогенни, кетогенни и смесени (Фиг. 8).

Гликогенни АК – при разграждане се превръщат в предшественици на глюкозата (пируват, оксалацетат, α -кетоглутарат, фумарат, сукцинил-КоА).

Кетогенни АК – при разграждане се превръщат в ацетоацетат, ацетил-КоА, ацетоацетил-КоА

Смесени АК – при разграждането им може да се получат както предшественици на глюкозата, така и на кетоновите тела.

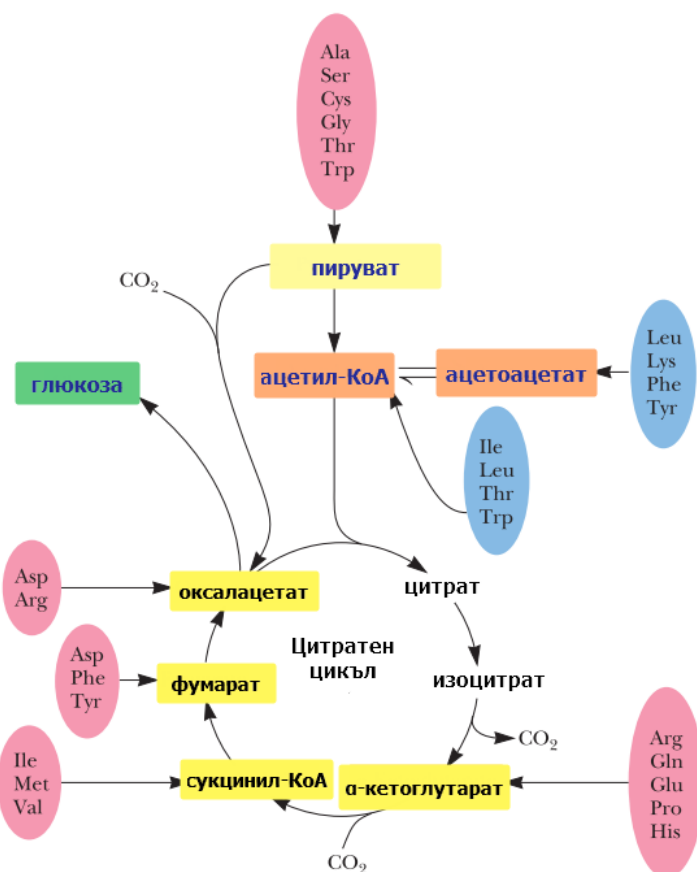
Основни закономерности при разграждане на аминокиселини

Азотът на АК се отделя като амоняк, а при аргинин се отделя като урея (карбамид). Съдържащите сяра АК губят свързаната сяра чрез пренасяне (при метионин), отделяне в неокислена форма (сулфид) или в окислена форма (сулфит). Въглеродните скелети на АК чрез различни реакции се включват в основните катаболитни пътища – гликолиза или цикъл на Кребс.

Някои АК достигат до две от посочените места, защото имат различни пътища на разграждане или при своя път на разграждане дават два различни продукта. Повечето АК дават отклонения от основните пътища за разграждане, което води до различни крайни продукти, някои от които имат специфично биологично действие. При някои от тези отклонения АК се превръщат една в друга. При разграждане на някои АК се отделят едновъглеродни групи: формилни ($-\text{CHO}$), формиминни ($-\text{CH}=\text{NH}$), хидроксиметилни ($-\text{CH}_2\text{OH}$), метилови (CH_3), които чрез трансферни процеси вземат участие в синтеза на важни от биологична гледна точка метаболити. Като преносител на тези групи се явява кофакторът тетрахидрофолиева киселина (ФКН4), която се получава от фолиева киселина (ФК). С ензимния белтък (специфични трансферази) ФКН4 се свързва посредством ковалентна връзка. В образуването на връзката взема участие карбоксилната група на глутаминовата киселина от кофактора.

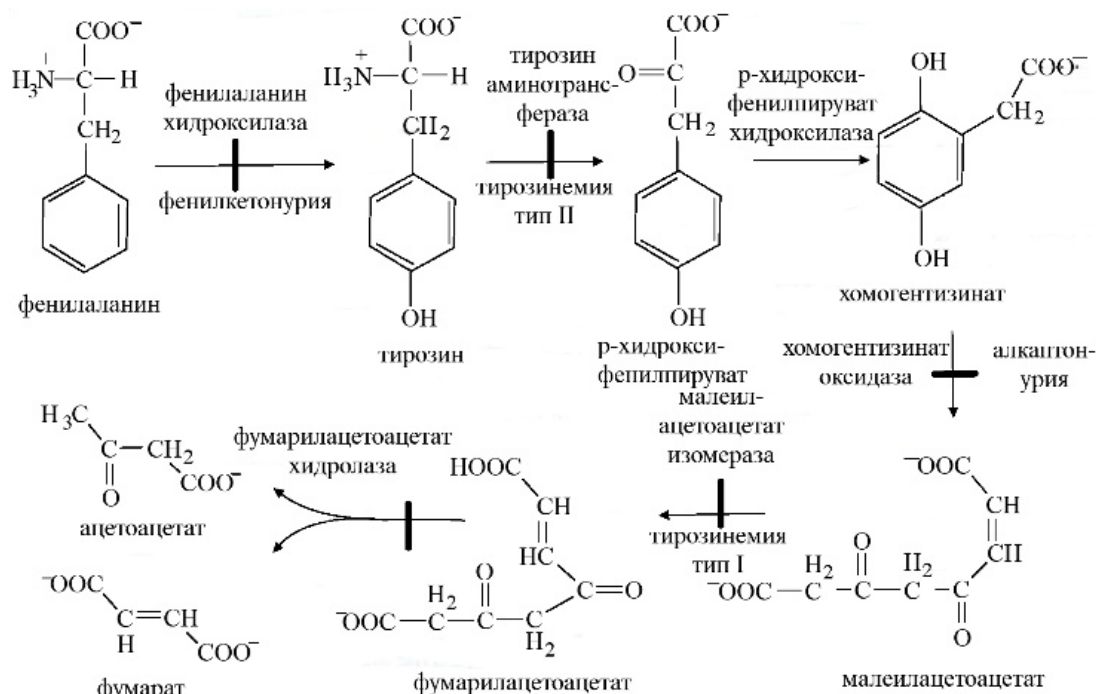
Като пример се представя разграждане на фенилаланин и тирозин.

Нормалният път за разграждане на фенилаланин в тъканите е хидроксилирането му до тирозин – реакцията се катализира от фенилаланин хидроксилаза. (Представя се реакцията, Фиг.8-20, стр. 279) При недостатъчност на някои от ензимите, необходими за разграждането на тези две



Фигура 8. Обобщена схема за разграждане на гликогенни аминокиселини и кетогенни аминокиселини. (R. Garrett & C. Grisham, 2010)

аминокиселини се развиват някои заболявания. При невъзможност да се хидроксилира, фенилаланинът се дезаминира до фенилпируват, който със своите производни фениллактат и фенилацетат се натрупват като крайни продукти – при деца това води до нарушаване на умственото развитие. Тирозинът може да се включи в синтеза на важни от биологична гледна точка съединения: хормони на щитовидната жлеза; хормона на сърцевината на надбъбречните жлези – адреналин; меланин – кожен пигмент или да се декарбоксилира до биогенния амин тирамин. (Фиг. 9)

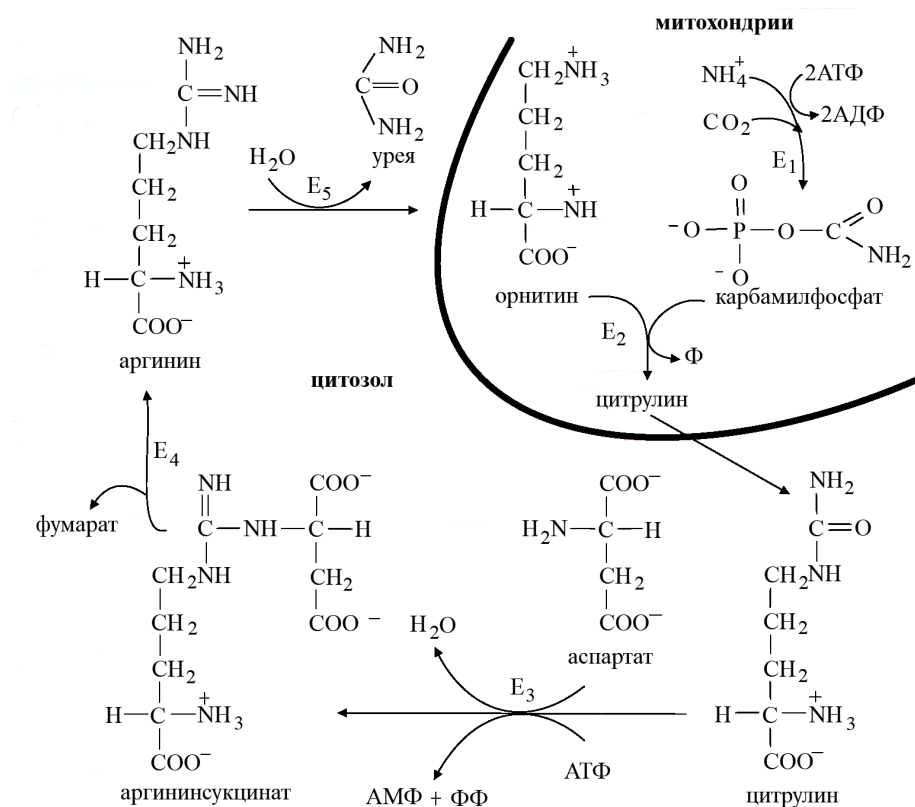


Фигура 9. Разграждане на фенилаланин и тирозин (Косекова Г. и съавт., 2010)

Крайно обезвреждане на амоняка в уреен (орнитинов) цикъл

Орнитиновият цикъл протича в чернодробните клетки – част от реакциите протичат в митохондриите, а друга част в цитозола. В този обменен път се извършва крайно обезвреждане на токсичния амоняк до урея. Уреята се синтезира от амоняк, CO₂ и азота от α-аминогрупата на аспартат. За получаване на 1 молекула безвредна урея в уреиния цикъл се изразходват 3 молекули АТФ. Уреята е крайния продукт на азотния катаболизъм при човека (при човека липсва ензима уреаза, който разгражда уреята до CO₂ и 2NH₃) (Фиг. 10).

Орнитиновият цикъл е свързан с цикъла на Кребс (цитратен цикъл) чрез обмен на метаболити и енергия. Цикълът на Кребс доставя на уреиния цикъл необходимите CO₂ и АТФ. Полученият фумарат в уреиния цикъл, в митохондриите може да се включи в цикъла на Кребс и да се превърне в оксалацетат, който чрез трансаминиране да се превърне в аспартат (необходим за уреиния цикъл).



Фигура 10. Орнитинов (уреев) цикъл. Ензими, катализиращи отделните реакции: E1-карбамилфосфат синтететаза; E2 – орнитин транскарбамилаза; E3 – аргининосукцинат синтететаза; E4 – аргининосукциназа; E5 – аргиназа. (Косекова Г. и съавт., 2010)

Векторите са един от най-важните елементи при клониране и експресия на хетероложни гени. По дефиниция, вектор е всяка ДНК молекула, способна да осъществи насочен пренос на генетична информация, като осигури: репликация чрез *ori* сайт (осигурява размножаване на вектора независимо от генома на клетката-гостоприемник); възможност за клониране на чужда ДНК чрез MCS или други методи (позволява вграждане на целевия ген, Gene of Interest – GOI); и селекция на трансгенни от нетрансгенни организми чрез селективен маркер (дава възможност да се изберат само клетките, приели вектора).

Въз основа на своя произход, векторите се подразделят на плазмидни, вирусни/фагови, фагмиди, космиди и изкуствени хромозоми.

Класификация и основни компоненти на векторите

Векторите се класифицират по редица признаци като произход и капацитет за клониране, поведение в клетката-топология и др. Плазмидните вектори са производни на бактериални плазмиди (кръгови двДНК) и имат капацитет за клониране на чужди фрагменти до 3 – 4 kb. Те се използват за рутинно клониране и експресия на протеини. Фаговите вектори са базирани на вирусни секвенции и могат да клонират фрагменти до 30 – 35 kb (приместителни вектори), което ги прави подходящи за разработване на геномни ДНК библиотеки. Фагмидите са хибридни плазмидни вектори с включен фагов *ori* сайт (напр. *f1 ori*), които запазват капацитета на плазмидите, но позволяват получаване на едноверижна ДНК за секвениране или сонди. Космидите са плазмидни вектори, включващи фаговите *cos* краища на фаг ламбда, и са проектирани да клонират големи фрагменти до 45 kb, използвани също за геномни ДНК библиотеки. Най-голям капацитет имат изкуствените хромозоми (BAC – бактериални и YAC – дрождеви), които се прилагат за картиране на големи геноми, например човешкия. Според предназначението си векторите могат да бъдат подразделени на клониращи и експресионни. Клониращите вектори са предназначени за изолиране, размножаване, субклониране и секвениране на ДНК фрагменти. Те не предполагат задължително експресия на клонирания ген. Типични представители са pBR322, pUC и pBluescript SK⁺/– (следва да се даде кратко описание на един от векторите и да се представи диаграма на организацията му). Експресионните вектори от своя страна са проектирани така, че клонираният ДНК фрагмент да се транскрибира и транслира в белтъчен продукт. Те съдържат промотори, рибозомно-свързващи сайтове, терминатори и често регулаторни елементи за контрол на експресията. Всички те изискват клониране в определена ориентация и спазване на рамката на четене на зададена от промотора. Пример за такъв вектор е pKK233-2 (следва да се даде кратко описание на вектора и да се представи диаграма на организацията му).

Според капацитета си за конюгативен трансфер плазмидните вектори биват конюгативни и неконюгативни. Конюгативните плазмиди притежават способност да се предават от една бактериална клетка на друга чрез бактериална конюгация. Това свойство има значение както за експерименталната ефективност, така и за биобезопасността. Неконюгативните плазмиди не могат самостоятелно да се пренасят между клетки. Поради по-ниския риск от хоризонтален генен трансфер те са предпочитани в лабораторната практика.

Според модела на функциониране векторите могат да бъдат подразделени както следва:

- Автономни вектори – съдържат всички необходими елементи за репликация и функциониране в клетката-гостоприемник.
- Бинарни вектори – изискват допълнителен помощен вектор за правилното си функциониране.
- Коинтегративни вектори – функционират чрез рекомбинация между два различни вектора, които поотделно не са автономни.

Всеки вектор, независимо от типа следва да притежава няколко основни генетични елемента. Първият е началото на репликация (*ori*-сайт), който отговаря за инициране на процеса на репликация и е пряко участва в контрола на броя копия на плазмидите в клетката. Броят копия на плазмидите зависи също и от размера на плазмидната молекула, като зависимостта е обратно пропорционална. Например, pBR322 *ori* осигурява малък до среден брой копия, около 15 – 20,

докато мутираният pMB1 ori (използван в pUC) осигурява голям брой копия, около 500-700. Векторите се делят на такива със слаб контрол (висок брой копия, напр. pUC) и строг контрол (нисък брой копия, напр. pSC101). Вторият компонент е селективен ген, който обикновено кодира устойчивост към антибиотик (AmpR, TetR, KmR и др.) и се използва за селекция на трансгенни от нетрансгенни бактерии. Третият ключов елемент е множественият сайт за клониране (MCS). Това е къса област от вектора, в която са клъстерирани няколко уникални рестрикционни сайта. MCS служи като място за инсертиране на чуждата ДНК и често е локализиран в рамките на втори селективен или репортерен ген, което позволява скрининг на рекомбинанти чрез инсертна инактивация или синьо-бяла селекция.

Плазмидни вектори: Класически примери и механизми

Плазмидните вектори са най-често използвани поради лесната им поддръжка, добив във високи количества и удобство за работа.

Вектор pBR322. Векторът pBR322 е един от първите популярни плазмидни вектори, създаден през 1977 г. Той е с размер 4361 bp и има ori от pBR322 ori, който осигурява малък до среден брой копия. Основна негова характеристика е, че носи два гена за устойчивост: AmpR (ампицилин) и TetR (тетрациклин). Всеки от тези гени може да бъде инактивиран чрез инсерция; например, инсертирането на ДНК фрагмент с *Bam*HI или *Hind*III инактивира TetR гена. Тази характеристика позволява инсертна инактивация за скрининг на рекомбинанти. Недостатъците на pBR322 включват неговата конюгативност (потенциален риск за хоризонтален генен трансфер), ограничени възможности за клониране, поради малкото уникални рестрикционни сактове и сравнително по-нисък добив на ДНК в сравнение с по-новите вектори.

Векторите pUC са с по-малък размер (2686 bp) и са неконюгативни. Те използват pUC ori (мутирал pMB1 ori), който осигурява голям брой копия (около 500 – 700) и висок добив на плазмидна ДНК. За разлика от pBR322, pUC19 има само един селективен ген – AmpR. За скрининг на рекомбинанти се използва синьо-бяла селекция чрез lacZ ген, кодиращ alpha-субединицата на beta-галактозидазата, който е прекъснат от MCS при успешно клониране (При представяна на тази част следва да се представи фигура илюстрираща картата на вектора pUC19).

Фагмиди – вектори pBlueScript II SK+/-

Това са хибриди вектори (фагмиди) с размер 2961 bp, които имат pUC ori и AmpR ген (подобно на pUC) и използват синьо-бяла селекция. Ключов фагов елемент е включването на fl ori-сайт на бактериофага fl. Наличието на този ori позволява, при инфекция с помощен фаг, клонираната двойноверижна ДНК да бъде пакетирана и получена като едноверижна ДНК, което е важно за секвениране или получаване на ДНК сонди. Векторът също така разполага с два фагови промотора (T3 и T7), фланкиращи MCS, които дават възможност за *in vitro* синтез на РНК от клонирания фрагмент.

Фагови вектори и космиди

Фаговите вектори са разработени за клониране на по-големи ДНК фрагменти, необходими при изграждане на геномни библиотеки. Бактериофаг lambda е типичен фаг с „глава и опашка“ и литичен/лизогенен цикъл. Геномът му е 49 kb, линеен, с cos сайтове в краищата. Cos сайтовете са 12 bp едноверижни краища, които са комплементарни и позволяват ковалентно затваряне на ДНК след инжектирането в *E. coli*. Те са и места за нарязване от А протеина (ендонуклеаза), който генерира индивидуални фагови геноми от дългите ДНК вериги по време на пакетирането. Фаг-lambda може да толерира ДНК фрагменти, които са с около 10% по-дълги или по-къси от нормалния му геном. Заместителните вектори (напр. EMBL4) използват концепцията за заместване на ненужен за литичния цикъл фрагмент (stuffer регион) с чужда ДНК, което увеличава капацитета за клониране до 25 kb.

Космидите са хибридни вектори, които съчетават характеристиките на плазмидите и фаговите вектори. По същност те са плазмидни вектори, модифицирани с два cos края на фага lambda. Космидът се държи като плазмид в *E. coli*, но може да бъде пакетирани като фагов геном. Ключовият механизъм е, че фаговият пакетирания механизъм на lambda фага разпознава два cos сайта и пакетира ДНК между тях, което позволява *in vitro* пакетирание на голям ДНК фрагмент. Основното предимство е клониране на фрагменти до 45 kb, което ги прави идеални за създаване на геномни ДНК библиотеки.

Клониране в плазмидни вектори, скрининг и селекция на рекомбинанти

Класическият подход за клониране използва ензимите рестриктази за нарязване и ДНК лигаза за свързване и протича в няколко етапа: подготовка на векторната и чуждата ДНК, лигиране, трансформация, селекция и скрининг.

Селекция на трансформанти. Целта е да се изолират само бактериалните клетки, които са приели ДНК молекула (трансформанти), което се постига чрез селективния ген на вектора (напр. AmpR). Култивирането на твърда среда, съдържаща съответния антибиотик, осигурява прорастването само на клетките, приели плазмидна ДНК (трансгенни).

Скрининг за рекомбинанти. Скринингът е критичната стъпка за различаване на нерекомбинантните плаزمиди (самозатворен вектор) от рекомбинантните плазмиди (вектор с инсертиран GOI).

Инсертна инактивация. Този метод разчита на наличието на втори селективен ген (напр. TetR в pBR322), чиято функция се инактивира (прекъсва) при инсертирането на чуждата ДНК в рамките му. Използва се фактът, че включването на чужда ДНК в рамките на гена за устойчивост към антибиотик (напр. TetR) води до промяна в аминокиселинната последователност на кодиращия протеин, което го прави нефункционален. Процедурата (пример pBR322) започва със селекция, където трансформантите се посяват на среда с ампицилин и всички прорасли колонии са AmpR. Следва скрининг чрез реплика (копиране на coloniите) на втора среда, съдържаща тетрациклин. Нерекомбинантните клонове (празен вектор) са с генотип AmpR, TetR и прорастват и на двете среди, докато рекомбинантните клонове (с инсерт) са с генотип AmpR, TetS и прорастват само на ампицилин. Рекомбинантните клонове са тези, които не са прораснали на тетрациклин, поради инактивацията на TetR гена.

Синьо-бяла селекция. Този метод се използва при вектори като pUC и pBluescript, където клонирането се извършва в MCS, разположен в рамките на lacZ репортерния ген. Принципът се основава на α -комплементация, където векторният lacZ ген кодира α -субединицата на β -галактозидазата, допълвайки дефекта на бактериалния щам гостоприемник. Когато плазмидът е празен, се формира функционален ензим. Инсертирането на чуждата ДНК в MCS прекъсва lacZ рамката на четене, като по този начин деактивира ензима β -галактозидаза.

Процедурата включва посевка на среда, съдържаща селективен антибиотик (Amp), X-gal (безцветен хромогенен субстрат) и IPTG (индуктор). Нерекомбинантните клонове (празен вектор) имат активна β -галактозидаза, която разгражда X-gal, образувайки синьо съединение. Рекомбинантните клонове имат неактивна β -галактозидаза и coloniите остават бели. Белите колонии се избират като вероятни рекомбинанти. Този подход е по-ефективен и бърз от инсертната инактивация, тъй като не изисква пренасяне на coloniите на втора селективна среда (При представяне на тази част следва да се представи фигура илюстрираща синьо-бяла селекция).

Бактериите и археите съществуват в среди, характеризиращи се с изключително висока концентрация на вирусни частици – бактериофаги, които представляват основен фактор, определящ микробната смъртност, еволюция и екологична динамика. Постоянният натиск, упражняван от фаговите популации, е довел до възникването на разнообразен набор от защитни механизми, които позволяват на прокариотните клетки да разпознават, ограничават или напълно елиминират вирусните инфекции. Антивирусната защита при прокариотите се реализира на различни нива – от директно въздействие върху нуклеиновите киселини, през контрол на транскрипцията и трансляцията, до глобални промени в клетъчния метаболизъм и физиологично състояние. Тези механизми могат условно да бъдат разделени на вродени и адаптивни. Вродените системи осигуряват бърз и неспецифичен отговор срещу навлизаща чужда генетична информация, докато адаптивните механизми позволяват придобиване и съхраняване на „имунна памет“, насочена срещу конкретни генетични елементи.

1. Системи за рестрикция и модификация

Системите за рестрикция и модификация (Restriction – Modification, **R–M** системи) представляват основен защитен механизъм при прокариоти и служат като първа линия на защита срещу навлизаща чужда ДНК. Те са широко разпространени при еубактерии и археи. **R–M** системите обединяват две функционално противоположни ензимни активности: рестрикционна ендонуклеаза (**REase**) и ДНК-метилтрансфераза (**MTase**).

Рестрикционните ендонуклеази разпознават специфични ДНК последователности и разрязват чуждата ДНК при фосфодиестерните връзки. В резултат се образуват фрагменти с 5' или 3' едноверижни („лепливи“) или тъпи краища. Повечето **REase** разпознават палиндромни последователности (от гр. *πάλιν* – „отново“ и *δρόμος* – „път“), като разрезът се осъществява симетрично спрямо центъра на палиндрома. Получените комплементарни едноверижни краища, обикновено с дължина няколко нуклеотида (най-често 1–4), могат да се сдвояват с фрагменти, получени от действието на същата рестриктаза – принцип, широко използван в молекулярната биотехнология. Метилтрансферазите осигуряват разграничаването между „своя“ и „чужда“ ДНК чрез метилиране на същите разпознавателни последователности в собствената ДНК на клетката. **MTase** прехвърлят метилова група от S-аденозилметионин (AdoMet) към C5 или N4 позицията на цитозина или към N6 позицията на аденина.

Рестрикционно–модификационните системи се класифицират в четири основни типа (I–IV) според субединичния си състав, разпознаването ДНК последователности, мястото на разрязване спрямо разпознавателния сайт, необходимите кофактори и субстратната специфичност.

Тип I R–M системи. Тези системи са многокомпонентни ензимни комплекси, които съчетават рестрикционна и метилираща активност, но разрязват ДНК на значително разстояние от разпознаваната последователност. Те се състоят от хетероолигомерен комплекс, включващ три функционално различни субединици: HsdS (specificity) – определя специфичността на разпознаване на ДНК последователностите; HsdM (modification) – метилтрансфераза, която метилира собствената ДНК; HsdR (restriction) – субединица с рестриктазна и АТР-зависима ДНК-транслоказа активност. Тя е каталитично активният рестриктазен компонент. Съответните гени са *hsdS*, *hsdM* и *hsdR* (host specificity determinant). Активната метилираща форма на комплекса е M_2S , докато за рестрикция е необходим пълният комплекс R_2M_2S в присъствие на Mg^{2+} , AdoMet и АТФ. Тип I R–M системите разпознават специфични ДНК последователности, но разрязват неметилираната ДНК на променливо разстояние – от стотици до десетки хиляди нуклеотиди от разпознавания сайт. Класически примери са EcoKI и EcoR124I.

Тип II R–M системи. Те са най-добре изучените и имат широко приложение в молекулярната биотехнология. Тип II R–M системите разрязват ДНК в или непосредствено близо до разпознавания сайт. Характерна особеност е, че рестриктазата и метилтрансферазата са самостоятелни ензими. Тип II REase обикновено са хомодимери или хомотетрамери и за активността си изискват Mg^{2+} , но не и АТФ. Примери са EcoRI, BfiI, KpnI, Eco29kI, PabI и много други.

Тип III R–M системи. Тези системи са изградени като хетеротримери (M_2R) или хетеротетрамери (M_2R_2) и съчетават рестриктазна, метилазна и ДНК-зависима НТРАЗна активност. Те разпознават къси асиметрични последователности (5–6 нуклеотида), транслокират се по ДНК и разрязват на приблизително 25–27 нуклеотида от 3' края на разпознавания сайт. Рестрикцията се осъществява само при наличие на две разпознавани последователности, разположени в противоположна ориентация върху една и съща ДНК молекула. Примери са EcoP1I и EcoP15I. Бактериофаг T7 е резистентен към EcoP15I, тъй като съдържа множество прицелни сайтове, но разположени в една и съща ориентация.

Тип IV R–M системи. Тип IV R–M системите разпознават и разрязват метилирана или модифицирана чужда ДНК (съдържаща метилирани, хидроксиметилирани, по-рядко и гликозилирани бази). Пример е EcoKMcBC – разпознава метилиран цитозин (m^4C и m^5C), разположен на разстояние ~40–3000 bp.

BspLU11III при *Bacillus* sp. LU11 представлява нетипична (тип IIG) R–M система, включваща комплекс от две метилтрансферази и една ендонуклеаза с допълнителна метилтрансферазна активност. Той разпознава двуверижна ДНК с последователност 5'–GGGAC–3' / 5'–GTCCC–3', като едната MTase метилира аденина, а другата – цитозина в противоположната верига.

„Самотни“ MTase и REase. В някои геноми се срещат метилтрансферази без съответна рестриктаза, т.нар. „самотни“ MTase. Примери са Dam, CcrM (участваща в регулацията на клетъчния цикъл) и Dcm. По-рядко се срещат и „самотни“ рестриктази без съответна MTase, като PacI и PmeI. Вероятно защитата на генома в тези случаи се дължи на ниската честота на съответните разпознавани последователности и/или на специфичен клетъчен контекст на експресия.

Освен защитна функция, R–M системите играят важна роля в ограничаването на хоризонталния генен трансфер и по този начин влияят върху еволюцията и екологичната адаптация на прокариотите. Около 90% от секвенираните прокариотни геноми съдържат поне една R–M система, а приблизително 80% – повече от една. Съществува положителна корелация между броя на R–M системите и големината на генома.

Геномите на *Borrelia*, *Chlamydia*, *Chlamydomydia*, *Coxiella*, *Rickettsia*, *Buchnera* и *Synechococcus* (1–2.5 Mb) обикновено не съдържат R–M системи. Повечето от тези организми са вътреклетъчни патогени, при които редките контакти с бактериофаги и ниската честота на хоризонтален генен трансфер вероятно обясняват отсъствието на такива системи.

R–M системите често се сравняват функционално с примитивна имунна система, тъй като позволяват разграничаване между „своя“ и „чужда“ ДНК. Експериментални данни показват защита срещу бактериофаги в диапазон от 10^1 до 10^8 пъти. Значението им се подчертава и от коеволюцията между бактерии и фаги – фагите развиват модифицирани бази, а бактериите отговарят с нови или модифицирани рестрикционни ензими.

2. Система BREX

Първоначалните наблюдения на необичаен фенотип на резистентност към бактериофаги водят до описанието на система за ограничаване на фаговия растеж – Pgl (phage growth limitation) – при *Streptomyces coelicolor*. Системата Pgl функционира фазово и изисква активността на четири гена – pglW, pglX, pglY и pglZ. При първична инфекция на бактерии с активна Pgl (**Pgl⁺**) фаговата ДНК претърпява специфична епигенетична модификация, което позволява ограничена репликация и образуване на фагови частици. При последваща инфекция вече модифицираната фагова ДНК се разпознава като „чужда“, което води до блокиране на фаговия растеж чрез абортна инфекция. В резултат инфектираната клетка загива, но „маркираният“ фаг губи способността си за ефективно разпространение в бактериалната популация.

По-късно гени, хомоложни на pglZ, са идентифицирани в по-широко разпространени генни клъстери, обикновено състоящи се от шест функционални компонента, включително brxA, brxB, brxC, brxL и pglX. Тези системи са обединени под названието **BREX (bacteriophage exclusion)**. Те са описани както при Грам-положителни бактерии (напр. *Bacillus subtilis*), така и при Грам-отрицателни бактерии (напр. *Escherichia coli*). Подобно на системите за рестрикция–модификация (R–M), BREX действа след инжектиране на фаговата ДНК в клетката-гостоприемник, като предотвратява фаговата репликация и продуктивната инфекция, но за разлика от R–M системите не се установява директно ензимно разрязване на ДНК. За разлика от класическата Pgl система, **BREX** може да ограничава фаговата инфекция още при първия контакт с немодифициран фаг.

Системата **BREX** е кодирана от генни клъстери, включващи компоненти с метилтрансферазна, регулаторна и структурна функция. Ключова нейна характеристика е използването на ДНК-метиране като маркер за „собствен“ геном, аналогично на R–M системите, но без последваща рестрикция. **BREX** позволява адсорбцията на фагите и инжектирането на фаговата ДНК, но блокира експресията на фаговите гени и репликацията. Генният клъстер обикновено включва: Lon-подобна протеаза, фосфатазо-подобен белтък, предполагаем РНК-свързващ белтък, ДНК-метилтрансфераза, АТФ-аза и белтък с неизвестна функция. Метирането засяга специфични непалиндромни мотиви (напр. TAGGAG), което позволява разграничаване между „собствен“ и „чужд“ геном. При навлизане на неметирана фагова ДНК системата се активира и блокира вирусния жизнен цикъл, вероятно чрез потискане на репликацията, транскрипцията или трансляцията.

BREX представлява сложен, многостепенен защитен механизъм с висока еволюционна гъвкавост и често се среща в комбинация с други бактериални антивирусни системи. **BREX** и сродни на нея системи са идентифицирани в приблизително 10% от всички секвенирани микробни геноми, като са описани и бактериофаги, развили специфични анти-BREX механизми.

3. Argonaute–центрирани защитни системи

Argonaute-центрираните защитни системи при прокариотите представляват уникална форма на последователност-специфична защита срещу чужди нуклеинови киселини. Прокариотните Argonaute белтъци (**pAgo**) са структурно и функционално сродни на еукариотните Argonaute белтъци, участващи в механизмите на РНК-интерференция, но функционират в различен клетъчен контекст и с различна биологична роля. Функционирането на тези системи зависи от наличието на РНК или ДНК водачи, които осигуряват разграничаването между „свое“ и „чуждо“. **pAgo** използват къси едноверижни ДНК или РНК молекули, които ги насочват към комплементарни последователности в чужда ДНК или РНК. След разпознаване на мишената най-често се осъществява ендонуклеазно разрязване на целевата нуклеинова киселина. За разлика от CRISPR–Cas системите, Argonaute-центрираните механизми не изискват интеграция на чужди нуклеотидни последователности в генома на клетката-гостоприемник, което им позволява да осигуряват бърза, но неадаптивна защита. Поради това те се разглеждат като еволюционно междинни между вродените и адаптивните защитни механизми при прокариотите.

Прокариотните Argonaute белтъци са големи протеини (обикновено 800–1200 аминокиселини при „дългите“ **pAgo**) с характерен доменен строеж, включващ PIWI ендонуклеазен домен, PAZ домен, MID (middle) домен, N-терминален домен и два линкерни региона (L1 и L2). MID доменът е от съществено значение за свързването на 5' края на водача и е силно консервативен за всички Argonaute белтъци.

Въз основа на доменната си организация **pAgo** се класифицират в две основни еволюционни групи: „дълги“ **pAgo**, съдържащи PAZ и PIWI домен (каталитично активен или неактивен), и „къси“ **pAgo**, при които PAZ доменът липсва, а PIWI доменът често е каталитично неактивен и изисква асоциирани нуклеази за осъществяване на разрязването.

pAgo са разпространени в приблизително една трета от археалните геноми и около 10% от бактериалните геноми. Смята се, че те функционират като ДНК- и/или РНК-направлявани системи за неутрализиране на чужди нуклеинови киселини, включително фагова ДНК и плазмиди. Характерно е, че гени, кодиращи **pAgo** с инактивиран PIWI домен, често се намират в близост до гени за други нуклеази, което подкрепя модела на функционално разделение между разпознаване и каталитично разцепване.

4. Системи токсин–антитоксин (ТА)

Системите токсин–антитоксин (ТА) представляват широко разпространени двукомпонентни генетични модули в бактериалните геноми, традиционно разглеждани като механизми за поддържане на плазмиди и регулация на клетъчния стрес. Геномни анализи показват, че множество ТА системи се локализират както в плазмиди, така и в бактериални и архейни хромозоми. Експерименталните и сравнително-геномните данни сочат, че значителна част от тях функционират и като ефективни антивирусни защитни елементи, активирани при фагова инфекция.

ТА системите се състоят от два компонента – стабилен токсин и по-нестабилан антитоксин, които обикновено се кодират от съседни гени, организирани в оперон. При нормални физиологични условия антитоксинът неутрализира токсина и позволява нормалното протичане на клетъчните про-

цеси. При настъпване на стресови състояния, включително недостиг на хранителни вещества, оксидативен стрес, увреждане на ДНК или фагова инфекция, антитоксинът се разгражда по-бързо от токсина. Това води до активиране на токсичния компонент, който инхибира ключови клетъчни процеси – транслация, репликация на ДНК или стабилност на РНК – и предизвиква спиране на растежа или преход на клетката в състояние на покой, което ограничава фаговата репликация.

ТА системите се класифицират в шест типа (I–VI) въз основа на природата на антитоксина и механизма на неутрализация на токсина.

ТА системи тип I се характеризират с белтъчен токсин и антисенс РНК антитоксин, който инхибира транслацията на токсина. Те често нарушават мембранната цялост или енергийния метаболизъм. Пример е системата Hok/Sok, при която активираният токсин води до деполяризация на клетъчната мембрана – състояние, несъвместимо с фаговата репликация.

ТА системи тип II включват белтъчен токсин и белтъчен антитоксин, които взаимодействат директно. Много от антивирусно активните **ТА** системи принадлежат към този тип. Класически пример е системата MazEF, при която токсинът MazF действа като последователност-специфична ендорибонуклеаза, разграждаща мРНК и спираща транслацията. Подобна е системата RelBE, при която токсинът RelE индуцира разкъсване на мРНК в рибозомния А-сайт. И в двата случая фаговата инфекция води до освобождаване на токсина и прекъсване на вирусния жизнен цикъл.

ТА системи тип III се състоят от белтъчен токсин и РНК антитоксин, който образува директен стехиометричен комплекс с токсина и го инактивира.

ТА системи тип IV действат чрез индиректен механизъм, при който антитоксинът стабилизира клетъчната мишена на токсина, без директно взаимодействие с него. При дисбаланс, предизвикан от фагова инфекция, токсинът нарушава процеси като цитоскелетната динамика и клетъчното делене, което индиректно възпрепятства развитието на фага.

ТА системи тип V се характеризират с антитоксин, функциониращ като ендорибонуклеаза, която специфично разгражда мРНК на токсина. Пример е системата GhoST, при която токсинът GhoT нарушава мембранната функция, а антитоксинът GhoS контролира експресията му.

ТА системи тип VI се отличават с механизъм, при който антитоксинът насочва протеолитичното разграждане на токсина, обикновено чрез клетъчни протеази, което регулира токсичната активност по време на фагова инфекция.

Нарастващ брой изследвания разглеждат **ТА** системите като механизми за абортивна инфекция (**Abi**), при които инфектираната клетка се жертва, за да предотврати разпространението на фага в бактериалната популация, осигурявайки селективно предимство на ниво популация. Геномните анализи показват, че **ТА** системите често са локализирани в защитни острови заедно с други антивирусни механизми, което улеснява тяхното хоризонтално разпространение и комбинирани в многостепенни защитни мрежи.

5. ABI системи за изключване на фаги

ABI системите (**abortive infection**) са идентифицирани при множество бактериални видове и демонстрират значително разнообразие в молекулярната си организация и механизмите, чрез които прекъсват фаговия жизнен цикъл. Първите **ABI** системи са описани при *Lactococcus lactis*, където играят важна роля за контрола на фаговите инфекции в млечната промишленост.

ABI представляват защитни механизми, основани на концепцията за програмирана клетъчна саможертва. Те се активират при разпознаване на специфични фагови фактори и водят до блокиране на вирусния жизнен цикъл. Системите могат да инхибират различни етапи на фаговата инфекция, включително транскрипцията на вирусни гени, транслацията на вирусни белтъци, репликацията на фаговата ДНК и сглобяването на вирусни частици. Резултатът е загуба на жизнеспособност на инфектираната клетка, но предотвратяване на освобождаването на нови фагови вириони, което ограничава разпространението на вируса в популацията. Този механизъм има ясно изразено популационно и еволюционно значение и допринася за стабилността на микробните общности, особено в среди с високо фагово налягане. Класически примери за **ABI** системи включват:

AbiZ – фаговата инфекция предизвиква бързо спиране на клетъчния растеж и блокира продуктивната репликация на фага чрез глобално нарушение на клетъчната физиология.

AbiE – система тип токсин–антитоксин, съставена от стабилен токсин (**AbiEii**) и лабилен антитоксин (**AbiEi**). При нормални условия антитоксинът неутрализира токсина, но по време на фагова инфекция той се разгражда или синтезът му се нарушава, което позволява токсинът да инхибира транслацията и да предизвика клетъчна смърт още в ранен етап на инфекцията.

RexAB (*E. coli*, бактериофаг λ) – RexA разпознава фагово-специфични сигнали, а RexB формира мембранен комплекс, нарушаващ йонния баланс и енергийния метаболизъм, водейки до клетъчна смърт. Системата функционира като ABI срещу суперинфектиращи фаги, макар и фагово кодирана.

AbiP – насочена към инхибиране на репликацията на фаговата ДНК чрез разпознаване на специфични фагови репликационни белтъци.

AbiT и сродни системи – взаимодействат с рибозомите и блокират транслацията, което води до глобално потискане на белтъчния синтез.

Съвременните геномни изследвания показват, че много новооткрити ABI-подобни системи са част от обширни защитни острови и често споделят структурни и функционални домени с други антивирусни механизми, като CRISPR–Cas и DISARM. Това свидетелства за еволюционната пластичност на ABI системите и за тяхната способност да се комбинират с други защитни стратегии в многостепенни антивирусни мрежи.

6. Система DISARM

Системата DISARM (Defense Island System Associated with Restriction–Modification) представлява комплексен антивирусен механизъм, който интегрира принципи на рестрикционно–модификационната защита с допълнителни нива контрол върху фаговата инфекция. Тя се локализира в „защитни острови“ на бактериалните и архейните геноми – региони, обогатени с гени за антивирусна защита, което предполага съвместна еволюция и функционално взаимодействие между различните защитни системи.

DISARM включва множество гени, кодиращи белтъци с рестрикционна, модификационна и регулаторна функция. За разлика от класическите R–M системи, които разчитат на директно разрязване на немодифицирана чужда ДНК, DISARM действа чрез комбиниран механизъм: селективно разпознаване на чужда ДНК, ДНК-метиране и регулаторни функции, които блокират експресията и репликацията на фаговата ДНК. По този начин системата ограничава вирусния жизнен цикъл без непременно да предизвиква незабавно разграждане на нуклеиновата киселина. Типичните DISARM клъстери включват гени за хеликаза, модифициращи ДНК/РНК ензими и рестриктазен комплекс, което осигурява мултистепенно действие.

Метирането на специфични мотиви в генома на гостоприемника служи като молекулен маркер за „собствена“ ДНК и е ключово за селективното разпознаване на неметирана фагова ДНК. DISARM действа ефективно срещу широк спектър бактериофаги, включително такива, които преодоляват класическите рестрикционни бариери. Генетични анализи показват, че пълната антивирусна активност изисква координирано действие на повечето компоненти на системата, докато отделни елементи могат да бъдат незадължителни в зависимост от вида на фага.

DISARM представлява многостепенна защитна стратегия, която комбинира селективно разпознаване, метиране и регулаторен контрол, осигурявайки висока ефективност и гъвкавост при условия на интензивен фагов натиск.

7. Адаптивен имунитет: CRISPR–Cas системи

CRISPR–Cas системите представляват най-сложния и добре организиран антивирусен механизъм при бактерии и археи и са единственият известен пример за адаптивен имунитет при прокариоти. Те осигуряват специфична и наследима защита срещу фаги и плазмиди чрез придобиване, съхранение и използване на информация от предишни инфекции. Клетките „помнят“ предходни срещи с чужда нуклеинова киселина и реагират по-бързо при повторна инфекция.

CRISPR локусите (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) се състоят от къси, високо консервативни повтарящи се последователности, разделени от уникални спейсъри, произхождащи от фагова или плазмидна ДНК. Спейсърите представляват молекулярен архив на предишни инфекции и определят специфичността на имунния отговор. Cas (CRISPR-associated) белтъците са функционалният компонент на системата и участват в трите основни етапа на имунния отговор: адаптация (Cas1 и Cas2), експресия и интерференция (Cas9 – ДНК; Cas12 – ДНК с различни РАМ изисквания; Cas13 – РНК). В зависимост от организацията на ефекторния комплекс и състава на Cas протеините, CRISPR–Cas системите се разделят на два основни класа:

Клас 1 – мултибелтъчни ефекторни комплекси (типове I, III и IV)

Клас 2 – единичен ефекторен белтък (типове II, V и VI), с най-известен представител Cas9

Всеки клас включва множество типове и подтипове, различаващи се по механизма на разпознаване и разграждане на прицелната нуклеинова киселина.

CRISPR–Cas механизмът се разделя на три етапа:

- Адаптация – фрагмент от навлязлата екзогенна ДНК (прото-спейсър) се изрязва и интегрира в CRISPR локуса близо до лидерната последователност, разширявайки имунната памет. Процесът изисква Cas1 и Cas2 и разпознаване на **PAM** (**protospacer adjacent motif**), което предотвратява автоимунно насочване.
- Експресия – CRISPR локусът се транскрибира като прекурсорна РНК (pre-crRNA), която се процесира до индивидуални crRNA. Те съдържат информация за прицелната секвенция и насочват ефекторния комплекс към чуждата нуклеинова киселина.
- Интерференция – crRNA, в комплекс с Cas белтък, разпознава комплементарна секвенция в екзогенната нуклеинова киселина, образувайки R-loop (при Cas13 няма класическо R-loop). Мишената се подлага на специфична деградация чрез нуклеазната активност на Cas белтъка или комплекса. Целевата молекула може да бъде ДНК или РНК, в зависимост от типа CRISPR–Cas система.

Защитните системи при бактерии и археи представляват комплексна, многостепенна мрежа за противодействие на чужди генетични елементи, като бактериофаги и плазмиди. Те включват вродени механизми, които действат бързо и често ограничават фаговата репликация на ниво индивидуална клетка (напр. рестрикционно-модификационни системи, BREX, DISARM, Argonaute, токсин–антитоксин системи и ABI), както и адаптивен имунитет чрез CRISPR–Cas системите, осигуряващи специфична и наследима защита. Комбинираното действие на тези системи позволява на микроорганизмите да разпознават „своя“ и „чужд“ геном, да инхибират репликация, транскрипция и транслация на чужди гени и при необходимост да жертват отделни клетки за защита на популацията. Тази динамична и коеволуционно оформена защитна мрежа повишава устойчивостта на микробните популации към вирусен натиск, ограничава хоризонталния генен трансфер на чужди елементи и поддържа стабилността на микробните екосистеми.

Растенията имат сложна и многослойна защитна система, което им позволява да избягват, потискат или активно да се защитават срещу различни патогени: бактерии, гъби, нематоди и вируси. В растителният свят доминират РНК вирусите, но има и не малко ДНК вируси. Като цяло, повечето вируси имат ограничен (естествен) кръг от гостоприемници и броят на така наречените негостоприемници надвишава този на гостоприемниците. Сред гостоприемниците на вируси обаче са ключови култури като картофи, домати, зърнени култури и други, където те причиняват значителни загуби в добива в глобален план. В хода на съвместната еволюция, растенията развиват все по-добри защитни механизми, а вирусите съответни контразащити, които да им осигурят репликация и разпространение. Защитната система на растението може да атакува различни етапи от инфекциозния цикъл: разопаковането на вирусите, процесите на репликация и трансляция на вирусния геном, опаковане на нови вирусни частици и придвижване от клетка в клетка. Някои защитни механизми действат общо срещу всички вируси и този отговор е част от вродената имунна система, докато други са вирус специфични и включват гени за резистентност, които задействат бърза некроза на мястото на навлизане на вируса и предотвратява по-нататъшното му разпространение в растението.

PTI и ETI защита

Сред няколко компонента на растителния имунен отговор, базалната защита е първата линия на защита срещу патогени. Тя се иницира от мембранни и вътреклетъчни рецептори (pattern recognition receptors, PRRs) които разпознават консервативни патоген асоциирани молекулярни модели, наречени PAMP (Pathogen-Associated Molecular Patterns)/MAMPs (Microbe-Associated Molecular Patterns), както и сигнали за клетъчно увреждане (DAMPs – Damage-Associated Molecular Patterns) и активират PTI-индуцирания имунитет (Pattern Triggered Immunity). При вирусите разпознаването на PAMPs/MAMPs се осъществява предимно вътреклетъчно, а не на клетъчната повърхност, понеже като вирус-асоциирани молекулярни модели действат двуверижните РНК молекули. Ето защо посттранскрипционен генен сайлънсинг, който двойноверижните РНК индуцират, може концептуално да се разглежда като вътреклетъчен аналог на PTI при вирусните инфекции. Както растенията гостоприемници на вируси, така и растенията, които не са гостоприемници използват този механизъм.

Иницирането на защитните реакции на растенията и контраатаката на патогена са добре обяснени от широко приетия зигзагообразен модел, предложен от Jones и Dangl. Според този модел за да преодолее PTI защитата, патогените секретират ефекторни молекули, които потискат и избягват разпознаването от PRR чрез свързване на техните субстрати. Този процес позволява на патогена да установи успешна инфекция и се означава като ефекторно-задействана чувствителност (ETS – Effector-Triggered Susceptibility). Пример за такива ефекторни белтъци са вирус-кодирани супресори на сайлънсинга, които блокират сайлънсинговия процес на различни етапи от него. В отговор растенията активират второ, по-силно ниво на защита, известно като ефектор-индуциран имунитет (Effector-Triggered Immunity, ETI). Той се осъществява чрез директно или индиректно разпознаване на ефекторните или авируленти (Avr) протеини от вътреклетъчни имунни рецептори, наречени резистентни (R) протеини. Вирусни капсидни протеини, протеини за придвижване, репликални протеини (хеликази), протеази и дори структурни елементи от вирусната РНК могат да действат като Avr детерминанти. При индиректното разпознаване R протеините контролират растителни белтъци (guardes), които се свързват с Avr ефектори. Когато ефекторът ги модифицира, R протеинът задейства ETI съгласно така наречената „guard хипотеза“. Разпознаването на растителни R протеини от специфични Avr ефектори на патогена описва класическата „gene for gene“ резистентност. ETI защитата обикновено завършва с хиперчувствителен отговор (HR) – бърза, локална програмирана клетъчна смърт в мястото на инфекцията, която ограничава разпространението на патогена. Ген-срещу-ген резистентността при растенията гостоприемници се контролира предимно от единични резистентни R гени и е много специфична – работи само за конкретен растителен сорт (или линия) срещу конкретен щам на патогена и често може да бъде преодоляна чрез мутации в патогена. За разлика от това, резис-

тентността при негостоприемници (non-host resistance (NHR)) представлява форма на видово-специфична защита когато всички генотипи в даден растителен вид са резистентни или не могат да бъдат инфектирани от конкретен патоген (вирус) и се счита за най-устойчивата и най-дълготрайната форма на растителен имунитет, поради участието на множество защитни пътища. NHR условно се разделя на два основни типа според механизма на действие и начина на разпознаване на патогена.

Тип 1 NHR се разглежда като базисен защитен механизъм, който блокира навлизането или първоначалното установяване на патогена. Тя се осъществява чрез структурни и биохимични механизми, като удебеляване на клетъчната стена, синтез на вторични метаболити, които могат да бъдат конститутивно налични или бързо индуцирани при инфекция и притежават токсичен или инхибиторен ефект спрямо патогените. Обикновено този тип защита протича без видими симптоми и се разглежда като пасивна/PTI-подобна защита.

Тип 2 NHR е свързан с индуциране на локална некроза на мястото на инфекцията и се активира, когато патогенът успее да преодолее първоначалните бариери от тип 1, като в този случай се задейства ETI подобен механизъм на разпознаване. В този контекст резистентността, носена от растения-негостоприемници, може да се разглежда като интегриран резултат от физични, химични и молекулярно-имунологични механизми, които заедно формират най-стабилната и надеждна защитна система при растенията.

Хиперчувствителна реакция и системно придобита резистеност (HR и SAR)

R гени медиатират локален ETI защитен отговор (с/без HR). Локалният отговор свързан с HR включва индукцията на програмирана клетъчна смърт в мястото на инфекция придружена от синтез на активни кислородни форми (ROS), включително водороден пероксид (H_2O_2) и азотен оксид (NO), етилен и салицилова киселина (SA) като сигнални молекули, както и продукцията на фитоалексини. SA насърчава задебеляване на клетъчните стени около некротичните зони и индуцира синтеза на PR протеини (белтъци, свързани с патогенезата). Ако локалният защитен отговор е без видим хиперчувствителен отговор, тогава вирусът се блокира напълно без некроза и се наблюдава екстремна резистентност. След хиперчувствителен отговор или локална инфекция се активира системно-придобитата резистентност (SAR- Systemic Acquired Resistance (SAR)) – широкоспектърна защита срещу последваща инфекция от нови патогени в отдалечени от мястото на инфекция тъкани на растението. SAR е индуцирана (не вродена като NHR) и медирана от SA чрез NPR1 (фактор, който взаимодейства с TGA транскрипционни фактори за индукция на PR протеини) и PR протеини.

Гени за резистентност към вируси

Доминантни R гени, кодиращи NBS-LRR рецептори

Повечето R гени са доминантни и кодират специални имунни рецептори – NBS-LRR протеини с левцин-богати повтори (LRR) за разпознаване на вируса и нуклеотидно-свързващ сайт (NBS) за сигнализация. NBS-LRR се делят на две подгрупи според N-терминалния домен: TIR-NBS-LRR (тип Toll/интерлевкин-1 рецептор) и CC-NBS-LRR (тип спираловидно-навита намотка coiled coil). Транслацията на R гените е строго контролирана чрез активността на микро РНК (miRNA).

Първият клониран R ген е N генът от тютюн, който осигурява устойчивост към вируса на тютюневата мозайка (TMV). Той принадлежи към TIR-NBS-LRR подгрупата и разпознава хеликазния домен на TMV репликазата, задействайки хиперчувствителна реакция (HR) и системно-придобита резистентност (SAR). Друг ключов ген е Rx1 от картоф, който принадлежи към CC-NBS-LRR подгрупата и носи устойчивост към картофен вирус X (Potato virus X (PVX)). Rx1 разпознава капсидния протеин на PVX и предизвиква екстремна резистентност без видим HR.

Атипични доминантни резистентни протеини

Някои доминантни R гени работят различно от класическите NLR рецептори – те не действат имунна отговор, а директно блокират вируса. Тези протеини, наречени атипични доминантни вирус-резистентни протеини (ADVRP), физически се свързват с вирусните протеини и ги неутрализират.

Много от ADVRP принадлежат към семейството на лектините. Класически пример е JAX1 генът от *Arabidopsis thaliana* – Jacalin-type лектин, който осигурява широкоспектърна устойчи-

вост към потексвируси. JAX1 директно блокира активността на вирусната РНК-зависима РНК полимераза (RdRp) индуцирайки конформационни промени или блокирайки формирането на активен репликационен комплекс.

Рецесивни гени

Вирусите се нуждаят от определени фактори на гостоприемника за да осъществят инфекция. Ако липсва функционално взаимодействие между вируса и такъв фактор, инфекцията не може да се развие и растението проявява резистентност. Рецесивната резистентност се дължи на рецесивна мутация в ген, кодиращ ключов фактор за вирусната инфекция. Класически пример за рецесивна резистентност е тази срещу потивирусите. Потивирусите взаимодействат чрез своя VPg (virus protein genome linked) белтък на 5'края на геномната РНК с транслационните фактори на растението eIF4E и eIF4G за синтез на своите белтъци. Когато в растението възникнат мутации в тези фактори и това взаимодействие се наруши, вирусната РНК не може да бъде ефективно транслирана. Тъй като резистентният фенотип се проявява само при рецесивни алели на тези гени, този тип защита се означава като рецесивна резистентност.

РНК сайлънсинг

РНК сайлънсингът (post-transcriptional gene silencing, PTGS) представлява вроден антивирусен защитен механизъм при растенията, който се осъществява предимно на посттранскрипционно ниво чрез разпознаване и разграждане на вирусни РНК молекули. В този процес вирусите функционират едновременно като индуктори на защитния отговор и като негови основни мишени. PTGS включва два основни функционални пътя: пътя на малките интерфериращи РНК-сиРНК (siRNA – *small interfering RNA*) с екзогенен произход (вирусен, трансенен, транспозонен) и пътя на микроРНК-миРНК (miRNA), които са кодирани от гените на гостоприемника и участват в регулацията на генната експресия.

сиРНК биогенеза и функция

PTGS се активира от двойноверижни вирусни РНК, които се образуват при репликацията на вируса или при формиране на вторични структури в неговата РНК. Двойноверижните РНК се разпознават от ензимите Dicer-like (DCL), РНКаза III ендорибонуклеази, които ги нарязват на къси сиРНК фрагменти с дължина 21–24 нуклеотида. Образованите сиРНК дуплекси се разплитат, като само едната верига (водещата, guide strand) се вгражда в РНК-индуцирания сайлънсингов комплекс (RNA-induced silencing complex, RISC), където насочва специфичното разпознаване и разграждане на вирусни РНК с комплементарна последователност. Каталитичното разцепване на таргетната РНК се осъществява от „slicer“ активността на протеин от семейството на Аргонаутите (Argonaute, AGO), който е ключов структурен и функционален компонент на RISC комплекса. След образуването на първичните сиРНК при растенията се активира амплификационна фаза, която осигурява ефективен локален и системен РНК-зависим защитен отговор. В тази фаза РНК-зависимите РНК полимерази (RDR2, RDR6) използват първичните сиРНК като праймери или по *de novo* механизъм превръщат вирусните геномни РНК или иРНК в двуверижна РНК. Последващата обработка на тези двуверижни РНК от Dicer-like (DCL) ензимите води до формиране на вторични сиРНК, насочени към участъци от вирусния геном, различни от първоначалната таргетна зона. Малките сиРНК, вероятно в комплекс с белтъци, се транспортират системно по флоема и сигнализируют на растението за вирусната инвазия. В някои случаи малки РНК с вирусен произход, споделящи хомология с растителни гени, могат да индуцират сайлънсинг на тези гени и така да допринасят за развитие на специфична симптоматика. Антивирусният РНК защитен отговор функционира срещу широк спектър РНК и ДНК растителни вируси и представлява универсален компонент на антивирусния имунитет, но като процес е относително бавен и най-често води до значително редуциране, а не до пълно елиминиране на вирусната инфекция.

При ДНК вируси като вируса на мозайка по цветното зеле (Cauliflower mosaic virus, CaMV) или геминивириси освен PTGS, функционира и транскрипционен генен сайлънсинг (TGS), при който вирусната ДНК се подлага на РНК-зависимо ДНК метилиране (RdDM). Процесът се иницира от РНК полимераза IV, която синтезира къси едноврижни РНК транскрипти от вирусната ДНК. РНК зависимата РНК полимераза 2 (RDR2) използва тези транскрипти като матрица за синтез на двуверижна РНК. След това DCL3 разрязва двуверижната РНК на 24-нуклеотидни сиРНК, които се зареждат в AGO4 и насочват ДНК метилтрансферазите, като DRM2 (Domains

Rearranged Methyltransferase 2), за метилиране на цитозините във вирусната ДНК. Метилираната ДНК индуцира кондензация на хроматина в плътна хетерохроматинова структура, която блокира достъпа на РНК полимеразата II до вирусните гени и потиска инфекцията.

Една от най-често срещаните стратегии, които растителните вируси използват за противодействие на РНК сайлънсинга, е да кодират супресори на сайлънсинга (RNA silencing suppressor-RSS), вирусни протеини, които пречат на определени етапи от сайлънсинговия път и по този начин намаляват неговата ефективност срещу растителните вируси. По-голямата част от RSS протеините на растителните вируси упражняват тази активност чрез свързване със сиРНК или понякога с дългите двойноверижни РНК, и по този начин предотвратяват тяхното натоварване в RISC комплекса и рязане от Dicer. Други RSS се свързват директно с ключови протеини като AGO1, основният компонент на RISC комплекса.

миРНК биогенеза и функция

За разлика от siRNA, които произхождат от двуверижни РНК, miRNA се синтезират от РНК полимеразата II като едновверижни прекурсори със стъбло-бримка (stem-loop) структура – pri-miRNA (100 – 120 нуклеотида), които в ядрото се обработват от DCL1 до pre-miRNA (~70 нуклеотида). Pre-miRNA се нарязва до 20 – 24-нуклеотидни зрели миРНК дуплекси, които се метилират от специфичната метилтрансфераза HEN1, за да бъдат защитени от деградация, и се транспортират в цитозола чрез HST (хомолог на Exportin-5). Там зрелите миРНК се включват в RISC комплекс с AGO протеини, където миРНК с пълна комплементарност към прицелната иРНК водят до нейното разцепване и деградация. Множество миРНК участват в антивирусната защита – например miR398, miR396, miR444– чрез регулиране на експресията на гени, ангажирани в антивирусния имуен отговор и сигнализация.

РНК сайлънсингът участва в процеси като кръстосана защита и възстановяване (recovery) при растенията. Процесът на възстановяване е демонстриран при трансгенни растения, експресиращи последователности от капсидния белтък на потивирис tobacco etch virus (TEV). От три до пет седмици след появата на инфекциозния фенотип се развиват нови тъкани, свободни от вирус, което се обяснява с амплификацията и системното разпространение на сайлънсинговия сигнал до отдалечените тъкани.

Кръстосаната защита представлява феномен, при който инфекция с един щам на вирус ограничава или блокира инфекцията от близкородствен щам. Класически пример са тютюневите растения, първоначално инфектирани със слаб щам PVX, които остават устойчиви при последваща инфекция със силен щам на същия вирус. Слабият щам индуцира резистентност чрез хомоложно-зависим РНК сайлънсинг, водещ до деградация на вирусните РНК.

Генно-инженерни подходи за резистентност към вируси

Патоген-медираната резистентност (PDR) представлява трансфер и експресия на дисфункционален вирусен ген в генома на гостоприемника с цел инхибиране на вируса. Индуцираната резистентност може да бъде протеин-медирана или РНК-медирана резистентност.

Резистентност медирана от трансгенна експресия на капсиден белтък

Първият успех на патоген-медирана резистентност е получаването на трансгенни тютюневи растения, експресиращи капсидния протеин (CP) на tobacco mosaic virus (TMV) щам U1. Получените растения показват резистентност срещу близкородствени TMV щамове, но не и към отдалечени вирусни щамове. Предполага се, че трансгенните CP молекули взаимодействат с CP на вируса и интерферират с дезасемблирането на TMV вирусните частици. Степента на резистентност зависи от натрупването на CP белтъка, но може да бъде преодоляна от висок титър на TMV вирусни частици или РНК инокулум. Получени са трансгенни растения резистентни на alfalfa mosaic virus, tomato spotted wilt virus и potyvirus Y. Описани са и случаи, при които CP резистентността не корелира с CP нивата, което предполага, индукция на РНК сайлънсинговия механизъм и хомоложно-зависимо разграждане на вирусните транскрипти и вирусна генома РНК.

Резистентност медирана от трансгенна експресия на репликаза

Трансгенните растения носещи секвенции от репликазния ген на вируси са резистентни към тези вируси. Резистентността е ограничена само до вирусните щамове, от които произхожда трансгена. Получени са трансгенни растения носещи както пълната дължина 54кДа на РНК за-

висимата РНК полимераза (RdRp) на *Pepper mild mottle virus* (тобамовирус) така и само фрагмент, покриващ 30% от белтъка. Трансгенните растения показват сходни нива на резистентност, което предполага, че в механизма на резистентност участва както белтъка така и неговия транскрипт. По-късно за репликационно-медираната резистентност при TMV е доказано участието на РНК сайлънсинга.

Резистентност медирана от трансгенна експресия на белтък на придвижване (MP)

Трансгенни растения, експресиращи MP са резистентни на вируса, от който произхожда кодиращата секвенция. Белтъците на придвижване участват в транспортирането на вируса между клетките и системно по флоема. Те се асоцират с плазмодезмените канали и участват в разширяването им (модулиране на size exclusion limit (SEL)), за да осигурят пренос на вириони или РНП комплекси между клетките. Мутантният белтък на придвижване интерферира с взаимодействието на вирусния белтък с плазмодезмите и така да индуцира резистентност. Получените трансгенни растения по MP белтъка на TMV са резистентни не само към TMV но към други тобамовируси в различна степен, което се обяснява с подобния начин на взаимодействие на повечето вирусни MP с плазмодезмите. Така в сравнение с CP-медираната или репликационно медираните стратегии за резистентност, експресията на дисфункционален или мутантен белтък на придвижване осигурява широка резистентност към повече вируси.

Антисенс РНК

Създавани са трансгени растения, които експресират конструкции, носещи секвенции в антисенс ориентация спрямо вирусните гени. Получена е резистентност в различна степен, която се обяснява с хомоложно-зависима деградация на РНК.

Антитела, произведени от генетично модифицирани растения (Plantibodies)

Plantibodies са антитела, експресирани в растения чрез генетични модификации, които могат да имат за прицелни молекули както вирусни белтъци така и фактори от гостоприемника, участващи във вирусната репликация и разпространение. Трансгенни тютюневи растения, експресиращи антитела, които специфично взаимодействат с TMV вирионите показват резистентност, корелираща с нивото на антитялото. Установено е, че антителата секретирани в апопласта са по-ефективни в медиране на резистентност отколкото тези локализирани в цитоплазмата.

Рибозими

Рибозимите представляват каталитично активни РНК молекули, които могат специфично да разпознават и разрязват вирусна РНК, като по този начин индуцират резистентност. Този подход се оказва особено ефективен при вироиди като *Potato Spindle Tuber Viroid*, спрямо който е постигнато пълна резистентност. Другият подход е разпознаване на вирусната РНК от рибозим и трансплайсинг към нея на иРНК, кодираща токсичен пептид. Целта е да се индуцира клетъчна смърт на вирус инфектираните клетки. Този подход е приложен срещу иРНК на капсидния белтък на CMV в дрождева система. Създаденият конструкт би осигурил резистентност само към конкретен вирус, тъй като функционира чрез комплементарно свързване на секвенцията на вируса с рибозима.

CRISPR/Cas9 технология

CRISPR/Cas9 технологията представлява прецизен инструмент за геномно редактиране и най-съвременен подход за инженерно създаване на вирусна резистентност при растенията. Системата използва нуклеазата Cas9 и водеща РНК (single guide RNA – sgRNA) със спейсърна последователност от 20 нуклеотида, която осигурява специфично насочване към вирусни ДНК или РНК последователности. След разпознаването Cas9 индуцира разкъсване на вирусния геном, което води до неговото функционално инактивиране. В сравнение с РНК сайлънсинга, който потиска вирусната експресия на РНК ниво без структурна модификация на генома, CRISPR/Cas9 осигурява по-стабилна и дълготрайна резистентност.

Водорасловият цъфтеж (или „цъфтеж на водата“) представлява масово размножаване на водорасли или цианобактерии във воден басейн, при което биомасата им нараства експлозивно (над 5000 g/m^3) и водата видимо променя цвета си. Обикновено този феномен се наблюдава при повишено наличие на хранителни вещества (азот, фосфор) във водата – състояние, известно като еутрофикация. В българските водоеми най-често цъфтежите се дължат на развитието цианобактерии, както и на някои зелени и еугленови водорасли. Важно е да се отбележи, че не всеки цъфтеж е непременно токсичен или „вреден“, но такива вредни водораслови цъфтежи (англ. Harmful Algal Blooms, HABs) могат да причинят значими щети на екосистемите и здравето.

Основните причини за възникване на водораслови цъфтежи са комплекс от фактори, които създават благоприятни условия за бурно развитие на фитопланктона. На първо място стои еутрофикацията. Друг важен фактор е температурата. Затова цъфтежите най-често се наблюдават през топлите месеци (лято и началото на есента) в умерените ширини. Слънчевата светлина също е от решаващо значение, както и водния застой и стратификацията (стабилно разделяне на водния стълб на пластове). Често цъфтежите са резултат от комбинирането на няколко фактора – излишни хранителни вещества, топло и спокойно време, силно слънцегрее и др. В много случаи контролът върху еутрофикацията (напр. пречистване на водите, ограничаване на торовете) е ключова мярка за предотвратяване на вредните цъфтежи. Масовите водораслови цъфтежи имат широк спектър от отрицателни последици както за екосистемите, така и за човешкото здраве и дейности. Някои от основните проблеми, произтичащи от тези събития са: (1) Кислороден дефицит и измиране на риба и други животни поради задушаване. (2) Промяна на екосистемата, включваща промяна в хранителните вериги и баланса на екосистемата, при което полезните макрофити намаляват, а водоемът преминава към състояние, доминирано от фитопланктона. (3) Производство на токсини: Най-сериозната последица от т.нар. вредни цъфтежи е отделянето на токсични вещества от някои видове водорасли и цианобактерии. Тези водораслови токсини (в това число и цианотоксини) могат да причинят смърт на диви и селскостопански животни, домашни любимци и хора. Морските „червени приливи“ от токсични динофлагелати пък водят до натрупване на токсини в миди и риба и последващо хранително отравяне на хора (паралитична, диарийна и др. видове мидена интоксикация). Наличието на цианотоксини в питейната вода е сериозна опасност, която може да бъде причина за остра интоксикация, проявяваща се с остри стомашно-чревни симптоми (гадене, повръщане, диария) и хронична интоксикация – увреждане на черния дроб при хората и дори канцерогенни ефекти. (4) Здравни рискове за човека: В допълнение към директната токсичност, цъфтежите могат да предизвикат редица здравни проблеми. Къпането или водните спортове във водоеми с цианобактериален цъфтеж често водят до кожни обриви, алергични реакции, дразнене на очите и ушите (т.нар. „плувна краста“). Вдишването на аерозоли (при вълнение или водни атракции) може да засегне дихателните пътища и да причини астматични пристъпи или респираторни възпаления. Токсичните водорасли в морето (като динофлагелатите *Karenia brevis* при червен прилив) отделят във въздуха токсични аерозоли, които причиняват дразнене на очите и кашлица на хората по брега. Консумацията на морска храна, замърсена с водораслови токсини, може да доведе до хранителни отравяния у човека – паралитично отравяне с миди (от сакситоксини), амнезийно отравяне (от домоиева киселина на диатомеи), цикуатера (от рифови динофлагелатни токсини) и др. Макар и рядко, замърсяването на питейната вода с цианотоксини може да причини масови инциденти. Например в особено тежкия случай в Карауру, Бразилия (1996 г.) 50 пациенти в клиника по хемодиализа умират от остра чернодробна интоксикация, след като токсини от цианобактерии (микроцистини) проникват в апаратурата за диализа. (5) Икономически и социални последици: Вредните цъфтежи нанасят и значими икономически щети. Те водят до затваряне на плажове и ограничения в туризма, загуби за риболова и аквакултурите (масово измиране на риба, негодни за консумация морски дарове), усложнения и разходи в пречистването на питейна вода (при цъфтеж във вододайни язовири). Обществото понася и косвени разходи – например здравни разходи за лечение на пострадали, загуба на реколта (ако напояването е с токсична вода) и др. Всички тези фактори правят проблема с водорасловите цъфтежи значим за опазването на околната среда и общественото здраве.

Способността за продукция на токсични вещества се среща при разнообразни таксономични групи водорасли и фитопланктон. Най-общо токсин-продуциращите водорасли могат да бъдат разделени на: (1) Цианобактерии (*Cyanobacteria*, синьо-зелени водорасли): прокариотни фотосинтезиращи организми, обитаващи предимно сладки и бракични води. (2) Динофлагелати: едноклетъчни, флагелатни еукариотни водорасли, често срещани в морските, но и в сладки води. (3) Диатомеи: едноклетъчни силикатни водорасли, чиято роля в токсичните цъфтежи доскоро не е била толкова известна и представляват нов възходящ проблем в морската токсикология. (4) Златисти водорасли и други фитопланктонни групи: към тази условна категория спадат различни еукариотни водорасли като хризифити, рафидофити, еугленови и др. Важно е да се подчертае, че не всички представители на тези групи продуцират токсини. Дори в рамките на един и същи вид някои щамове могат да произвеждат токсини, а други – не. Наличието на токсин-продуциращи гени и тяхната експресия зависи от еволюционни и екологични фактори. Има и *нетоксични* щамове на *Microcystis* или *Alexandrium*. Следователно, самото присъствие на даден вид водорасло не гарантира токсичност – необходим е специфичен генетичен потенциал и подходящи условия за синтез на токсините.

По-долу са изброени някои от най-често срещаните и най-значими от гледна точка на екология и здраве родове и видове водорасли, известни с продукцията на токсини:

Цианобактерии: (1) *Microcystis aeruginosa* – един от най-разпространените причинители на сладководни цъфтежи по света. Образува колонии, видими като плаващи зелени „мехурчета“ или плътен цвят на водата. Продуцира микроцистини – хепатотоксични пептиди (виж по-долу). *Microcystis* е отговорна за много случаи на натравяне на домашни животни и хора (напр. при къпане или пиене на замърсена вода). (2) *Dolichospermum* (преди *Anabaena*) – род нишковидни цианобактерии. Те често цъфтят в езера и язовири, като някои видове (напр. *Dolichospermum flos-aquae*, бивша *Anabaena flos-aquae*) произвеждат анатоксини – силни невротоксини. Анатоксините биват няколко типа, напр. алкалоида анатоксин-а (известен като „Very Fast Death Factor“) причинява бърза нервнопарализа. Друг аналог е анатоксин-а(S) (известен още като гуанитоксин) – инхибитор на ацетилхолинестеразата. (3) *Aphanizomenon* – род цианобактерии, образувачи снопчета от нишки. *Aphanizomenon flos-aquae* често съпътства *Microcystis* в цъфтежи. Някои щамове продуцират сакситоксини – същите парализични невротоксини, известни от морските червени приливи. *Aphanizomenon* може да отделя и цитотоксина цилиндроспермопсин (особено видове като *A. ovalisporum*). (4) *Planktothrix* (Syn. *Oscillatoria*) – род нишковидни цианобактерии, които могат да доминират в стратифицирани езера. *Planktothrix rubescens* предизвиква късно-сенни/зимни цъфтежи в дълбоки езера, с отделяне на микроцистини. *Planktothrix agardhii* също продуцира микроцистин. (5) *Cylindrospermopsis raciborskii* (ново име *Raphidiopsis raciborskii*) – нишковиден цианобактериален вид с тропичен произход, който в последните десетилетия се разпространи и в умерените региони (вкл. Европа, и у нас). Известен като продуцент на токсина цилиндроспермопсин. Цилндроспермопсинът е хепато- и цитотоксин. (6) *Nodularia spumigena* – цианобактерий, срещащ се предимно в бракични води (Балтийско море, солени езера). Образува обширни цъфтежи и продуцира токсина нодуларин, който по структура и действие е подобен на микроцистините (хепатотоксичен цикличен пептид). (7) Други: Родове като *Lyngbya* (ново име Moorea), *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Gloeotrichia*, *Scytonema* и др. също имат представители, продуциращи токсини (напр. lyngbyatoxin, аплизиадоксин, БМАА, липополизахариди и др.).

Динофлагелати: (1) *Alexandrium* (напр. *A. tamarense*, *A. catenella*) – морски планктон, основен причинител на парализично мидено отравяне (PSP). Продуцира сакситоксини – мощни невротоксини, блокиращи натриевите канали и спиращи нервните импулси. Цъфтежи на *Alexandrium* водят до затваряне на мидени ферми и забрана на улов на двучерупчести в много страни поради риск за здравето. (2) *Gymnodinium catenatum* – друг продуцент на сакситоксини (парализични токсини); причинява „червени приливи“. (3) *Karenia brevis* – виновник за ежегодните „червени приливи“ във Флорида. Продуцира бреветоксини – невротоксини, причиняващи невротоксично мидено отравяне (NSP) и масова смърт на риба. Бреветоксините от *Karenia* при аерозолизиране предизвикват респираторни проблеми у хората. (4) *Dinophysis* (напр. *D. acuminata*) – продуцира DSP токсини, които причиняват диарийно отравяне при консумация на миди. (5) *Pseudonitzschia* (диатомово водорасло, често разглеждащо се заедно с токсичния фитопланктон) – произвежда домоева киселина, която причинява амнезийна мидена интоксикация (ASP). (6) *Heterosigma akashiwo*, *Chattonella* (рафидофитови водорасли) – причиняват ихтиотоксични цъфтежи (убиват рибите, вероятно чрез реактивни кислородни видове или други токсични

механизми). (7) *Prorocentrum minimum* – произвежда токсини, водещи до случаи на диарийно отравяне (DSP) и еутаназия на риба при някои цъфтежи. (8) *Noctiluca scintillans* – макар че сама по себе си не е токсична, нейни цъфтежи могат да създадат амонячна токсичност и хипоксия, водещи до смърт на риба (т.нар. „бял прилив“).

Продукцията на токсини е динамичен признак, обусловен от генотипа на водораслите и средата. Не всички цъфтежи са токсични, а и в рамките на един цъфтеж може само част от популацията да продуцира токсини. Това налага мониторингът на вредните цъфтежи да включва не само преброяване на клетки, но и директно измерване на токсините.

Цианотоксините са токсични вещества, продуцирани от цианобактерии (Cyanobacteria, синьо-зелени водорасли). По химична природа те представляват вторични метаболити – най-често нискомолекулни органични съединения с висока биологична активност. Цианотоксините включват различни класове химични съединения: циклични пептиди, алкалоиди, аминокиселинни аналози, липополизахариди и др. Тези вещества служат за защита срещу хищници или конкуренти, или пък като молекули за междувидова конкуренция. Характерно за повечето цианотоксини е, че са стабилни във водна среда. Те могат да се задържат дни и седмици след освобождаване, без да се разграждат, което увеличава риска от въздействие. Някои са устойчиви и на умерена топлинна обработка и стандартни пречиствателни процеси (напр. микроцистините са устойчиви при кипене). Цианотоксините действат на различни органи и системи на животните, поради което се класифицират според основния физиологичен ефект – хепатотоксини (засягащи черния дроб), невротоксини (засягащи нервната система), дерматотоксини (дразнещи кожата) и цитотоксини (унищожават клетки, с различни мишени).

Цианотоксините се делят на няколко групи според тяхната прицелна токсичност: (1) **Хепатотоксини**: Това са може би най-разпространените цианотоксини. Основни представители са микроцистините – семейство от над 200 вида пептиди, продуцирани най-вече от представители на род *Microcystis* (но също от *Planktothrix*, *Dolichospermum*, *Nostoc* и др.). Най-известният е микроцистин-LR. Те са циклични хептапептиди, които избирателно увреждат черния дроб. Механизмът им на действие се изразява в инхибиране на серин/треониновите протеин фосфатази 1 и 2A в хепатоцитите. Това води до неконтролирана хиперфосфорилация на клетъчните протеини, разрушаване на цитоскелета, кръвоизливи и масова чернодробна некроза. Микроцистините индуцират оксидативен стрес и предизвикват образуване на тумори. Друг хепатотоксин е нодуларинът, произвеждан от *Nodularia spumigena*. Той е структурно подобен на микроцистина и също инхибира протеин фосфатазите, увреждайки черния дроб. Клинично, отравянията с хепатотоксини се проявяват първоначално с гастроентерити (гадене, повръщане, болки), последвани след часове от тежко увреждане на черния дроб – жълтеница, кръвоизливи, чернодробна недостатъчност. Смърт може да настъпи от хеморагичен шок или чернодробна кома. (2) **Невротоксини**: Тази категория обхваща токсините, които засягат нервната система и мускулите. Анатоксин-а и хомоанатоксин-а са алкалоидни невротоксини, синтезирани от някои цианобактерии (*Dolichospermum*, *Oscillatoria*, *Tychonema* и др.). Те действат като мощни агонисти на никотиновите ацетилхолинови рецептори (nAChR) в невромускулните синапси. При свързване предизвикват деполяризация на мембраната, но не се разграждат от ацетилхолинестеразата, което води до персистираща стимулация и последваща парализа на мускулите (включително дихателните). Засегнатите животни умират от респираторна парализа буквално за минути, откъдето идва названието „много бързо действащ фактор на смъртта“. Анатоксин-а(S) (сега наричан гуанитоксин) е различен по механизъм на действие. Той е фосфорилиран N-хидроксигуанидин, който необратимо блокира ацетилхолинестеразата. Резултатът от действието му е натрупване на ацетилхолин и холинергична криза – слюноотделяне, гърчове, парализа, смърт от дихателен арест. Сакситоксините (STXs) са група от над 50 алкалоида, отговорни за паралитичното отравяне с миди (PSP). Макар че класически се асоциират с морските динофлагелати, някои сладководни цианобактерии (*Anabaena*, *Aphanizomenon*) също ги произвеждат. Сакситоксините блокират натриевите канали. Клинично това води до изтръпване, парализа, а при високи дози – смърт от спиране на дишането. ВМАА (β-метиламино-L-аланин) е по-особен невротоксин, който се свързва с невродегенеративни заболявания. ВМАА се продуцира от някои цианобактерии, диатомеи и динофлагелати и се биоакмулира по хранителната верига (напр. в риби и прилепи). (4) **Дерматотоксини**: Това са вещества, които дразнят кожата, лигавиците или имат алергизиращо действие. Такива са липополизахаридите (компонент на клетъчната стена на всички грам-отрицателни бактерии, в т.ч. цианобактериите); Аплизиатоксинът (полигалагениран макролид, активатор на протеин киназа C,

действащ като тумор промотор на кожата) и лингбиатоксинът (причиняващ остър дерматит, доказано канцерогенен). (5) Цитотоксини: Това е по-обща категория за токсините, които увреждат клетките по различни механизми, понякога засягайки множество органи. Най-известният е цилиндроспермопсинът, открит първо у *Cylindrospermopsis raciborskii*. Той е гуанидинов алкалоид, който инхибира синтезата на протеини в клетките, като се свързва с рибозомите. Основната мишена отново е черният дроб (хепатотоксичен ефект), но уврежда и бъбреците (нефротоксичен). Цилиндроспермопсинът предизвиква и тежък оксидативен стрес в клетките, водещ до увреждане на ДНК и апоптоза. Клинично, отравянето с цилиндроспермопсин протича с по-дълъг латентен период (няколко дни) – първо има гастроентерит, после чернодробна дисфункция, висока температура, бъбречни увреждания. Друг цитотоксин е цилоспоропсолът, докладван от някои щамове на *Cylindrospermopsis*, чийто механизъм не е напълно изяснен. Много от горните токсини имат и *цитотоксични* свойства – напр. микроцистините могат да убиват различни клетки *in vitro*, като индуцират апоптоза. Поради това, понякога цилиндроспермопсинът и микроцистините се причисляват заедно към хепатотоксините.

Разнообразните цианотоксини атакуват организма по различни биохимични механизми, някои от които вече споменахме: (1) Инхибиране на протеин фосфатази (микроцистини и нодуларини); (2) Активиране на свободно-радикални процеси (микроцистини цилиндроспермопсин) (3) Блокиране на йонни канали (сакситоксин и сродните му неосакситоксин, гониотоксини) (4) Свърхстимулиране на никотиновите рецептори (анатоксин-а) и блокиране на ацетилхолинестеразата (анатоксин-а(s)). Цианотоксините са силни отрови, действащи на молекулно ниво – било като ензимни инхибитори, блокери на йонни канални или реактивни молекули. Този специфичен механизъм ги прави опасни дори в ниски концентрации и обяснява тежките симптоми, наблюдавани при отравяния. Влиянието на цианотоксините върху здравето зависи от дозата, пътя на експозиция и вида на токсина. При хора най-честите пътища на експозиция са: случайно поглъщане на замърсена вода (питейна или при плуване), контакт на кожата с вода, вдишване на аерозоли, консумация на храна (рибни продукти, миди) от замърсени водоеми. Поради сериозните рискове, здравните организации са въвели насоки за максимално допустими концентрации на цианотоксини (WHO, 2020). Цианотоксините представляват сериозна опасност за здравето на човека и животните. Разнообразното им въздействие изисква мултидисциплинарен подход – медицинско наблюдение, екотоксикологични изследвания и стриктен контрол на водите. Поради това в последните години се развиват и множество методи за детекция на цианотоксини, за да се предпазят населението и екосистемите навреме при цъфтежи.

Ранното откриване и количественото определяне на цианотоксините във водите е от голямо значение за мениджмънта на водоизточници, предупреждение към обществеността и предприемане на мерки. Разработен е широк спектър от методи – от биологични тестове, през химически аналитични техники, до молекулярни подходи за откриване на цианотоксини.

Биологичните методи за откриване на токсини се основават на ефекта на токсина върху живи организми. Това са едни от най-старите подходи в токсикологията на водораслите. Те са: (1) Биоанализ с мишки (mouse bioassay): Класически метод, прилаган още от средата на XX век при изследване на отравяния с миди. Принципът е инжектиране на екстракт от водна проба или екстракт в лабораторни мишки и наблюдение за симптоми на интоксикация и смърт. Този метод не е специфичен – установява наличието на токсичност, но не и точно кой е токсина и каква е неговата концентрация и има етична страна. Други биотестове включват търсене на невротоксични ефекти при мишки (наблюдение за типични симптоми – бърза пареза при анатоксин). Понякога вместо бозайници като тестови организми се използват малки риби (напр. *Danio*, гупи) или водни ракообразни (Дафния). (2) PPIA (Protein Phosphatase Inhibition Assay) е друг *биохимичен* биоанализ – използва се ензим (протеин фосфатаза 2А) и субстрат, като към тях се добавя изследваната проба. Ако има микроцистин/нодуларин, ензимът ще се инхибира и цветната реакция (дефосфорилиране на субстрата) ще се потисне. PPIA е относително специфичен за хепатотоксичните пептиди и е доста чувствителен. Този метод се използва като бърз скрининг за микроцистини,

Химичните методи целят директно измерване на токсините молекули чрез физико-химичен анализ. Те са гръбнакът на точната количествена оценка. Биват: (1) Хроматографски методи (HPLC, LC-MS/MS). Високоэффективната течна хроматография (HPLC) е стандартен подход за разделяне и измерване на малки молекули като цианотоксините. Пробата (воден филтрат или екстракт) се прекарва през хроматографска колона, където различните токсини се разделят във

времето на елуиране. Детектор позволява откриване: често се използва UV детектор (например при 238 nm за микроцистин) или флуориметричен детектор (някои токсини са естествено флуоресцентни или се дериватизират). За по-голяма специфичност HPLC се комбинира с мас-спектрометрия (MS). LC-MS/MS (течна хроматография с tandemна масспектрометрия) и е златен стандарт. Тази комбинация от методи не само разделя токсините, но и ги идентифицира по молекулно тегло и фрагменти. Газова хроматография (GC) по-рядко се ползва, тъй като повечето токсини са негазообразни. GC-MS е прилаган за анатоксин-а, който може да се летливирира, както и за ВМАА (след химична дериватизация); (2) Спектрофотометрични методи: Тези методи включват измерване на абсорбция или флуоресценция. Спектрофотометричен метод, базиран на биохимия, е споменатият PPIA – там крайният отчитан сигнал е променена оптична плътност при дадена дължина, пропорционално на наличния токсин (потиснал ензимната реакция). (3) Колориметрични тестове (примерно тестът MAX за микроцистин) използват цвят, който избледнява при наличие на токсин (ензимен принцип). Тези методи се ценят заради бързината и простота, но винаги се потвърждават с по-точен анализ поради риск от фалшиво позитивни/негативни резултати.

Имунологични методи – ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay): Един от най-популярните съвременни методи за скрининг на цианотоксини. Използва моноклонални или поликлонални антитела, специфични за даден токсин или група токсини. В много случаи се прилага комбинация от методи: напр. първо полево ELISA за бързо откриване – ако покаже наличие, после потвърждение с LC-MS/MS за точно количество и профил на токсина.

Молекулярни методи (PCR за токсин-гени; Метагеномни подходи; Имунофлуоресцентни и хибридационни техники): Молекулярно-биологичните техники не измерват директно токсина, а идентифицират присъствието на токсин-продуциращите организми или гени. Те отговарят на въпроса „Има ли в тази вода токсични цианобактерии и потенциал за токсин?“.

В практиката често се следва стратегия на няколко нива: 1) периодично микроскопско наблюдение и клетъчно преброяване – да се установи дали има цъфтеж и приблизително кои родове присъстват; 2) при съмнение – ELISA скрининг на водата за основните токсини (напр. общи микроцистини); 3) ако ELISA е положителен или граничен – изпращане на пробата за LC-MS/MS потвърждение в референтна лаборатория; 4) паралелно – PCR анализ на филтрирана вода за токсин-гени, за да се подкрепи диагноза за наличие на токсични видове. Тази комбинирана тактика гарантира и бързина, и точност.

Водорасловите /цианобактериалните цъфтежи са нарастващо предизвикателство пред учените и управителите на водните ресурси, особено в контекста на еутрофикацията и климатичните промени. Познаването на токсин-продуциращите видове, на свойствата на цианотоксините и на методите за тяхното откриване е от съществено значение за предприемане на навременни мерки. Чрез интегриран научен подход – екологичен мониторинг, химичен анализ и молекулярни техники – могат да се минимизират рисковете за околната среда и здравето, свързани с тези „отровни цъфтежи“ на природата.

Растителната клетка е основна структурна и функционална единица, която е отделен организъм (при едноклетъчните водорасли) или част от многоклетъчен организъм. В нея са съсредоточени всички прояви на живота – растеж, дразнимост, дишане, обмяна на веществата, възпроизвеждане и т.н. Растителната клетка винаги е еукариотна. Съставните ѝ части могат да бъдат групирани в две категории – протопласт (жива част на клетката) и парапласт (нежива част). Протопластът е диференциран на ядро и цитоплазма, в която са разположени останалите органоиди. Цитоплазмата е отграничена с биомембрани: с плазмалема – към клетъчната стена, и с тонопласт – към вакуолата. Парапластът включва т.нар. ергастични включения, които представляват резервни и секреторни вещества. Според редица автори вакуолата и клетъчната стена също се отнасят към парапласта. Формата на растителните клетки може да бъде твърде разнообразна. При едноклетъчните организми тя може да бъде кълбовидна, елипсовидна, цилиндрична, звездовидна и др. При многоклетъчните растения се срещат кубични, призматични, звездовидни и полиедрични клетки. Въз основа на съотношението между дължина, ширина и дебелина цялото разнообразие от форми се свежда до два типа:

- **Паренхимни (изодиаметрични)** – притежават близки по стойност измерения във всички посоки;
- **Прозенхимни (удължени)** – дължината им превишава ширината и дебелината 4 и повече пъти.

По отношение на размерите на растителните клетки също се наблюдава голямо разнообразие. Между големината на клетките и големината на растението, което те изграждат, няма пропорционална зависимост. С най-малки размери са клетките на някои едноклетъчни водорасли (1 – 2 μm). При висшите растения те варират в широки граници – от 10 μm до 100 μm . Нишковидните клетки на конопа са с размери между 25 μm и 35 см. Рекордна дължина – до няколко метра – достигат млечните цевии.

Специфичните структури на еукариотната растителна клетка са: клетъчна стена, пластиди, вакуола и ергастични включения.

1. Клетъчна стена – служи като скелет на растението, придава форма, устойчивост и здравина на клетките. Разположена е над плазмалемата и достига средна дебелина до няколко μm . Изградена е от скелетни вещества и аморфен матрикс. Матриксът представлява гел, изграден от пектинови вещества и хемицелулози. Скелетните вещества са най-често целулозни микрофибрили, потопени в матрикса. По структура клетъчната стена се състои от средна пластинка, първична и вторична стена със слоеве. Стената може да променя химичната си природа, като се вдървява (чрез отлагане на лигнин), вкорковява (чрез отлагане на суберин), минерализира се (чрез отлагане на CaCO_3) или се ослизнява (поради хидрофилността на пектиновите вещества). Тези химични промени водят до надебеляване на стената и формиране на вторична и третична стена.

2. Пластиди – двумембранни органоиди, осъществяващи храненето на растенията. При кормусните растения се срещат във всички органи – лист, стъбло, корен, цвят и плод. В зависимост от баграта (респективно функцията) си пластидите се разделят на хлоропласти (зелени), хромопласти (жълто-червени) и левкопласти (безцветни). Основната маса, която изпълва вътрешността им, се нарича строма (матрикс) и има белтъчно-липоидна природа.

При водораслите, в зависимост от пигментния състав, се различават хлоропласти (при зелени и еугленови водорасли), феопласти (при кафявите и кремъчните водорасли) и родопласти (при червените водорасли). *Хлоропластите* на висшите растения са лещовидни до кръгли, като в една мезофилна клетка се срещат между 20 и 100 на брой. При водораслите те са по-малко на брой, но по-едри.

Левкопластите са характерни за клетките на органи, натрупващи резервни вещества (грудки, коренища, семена и др.). В зависимост от химичната природа на отлаганите вещества те биват амилопласти (натрупват скорбяла), протеинопласти (натрупват белтъци), елайоласти (натрупват мазнини) и каучукопласти (образуват каучукови зърна в млечния сок на растенията). *Хромопластите* се образуват чрез диференциране от левкопласти или хлоропласти и най-често

са с кръгла или лещовидна форма. Те натрупват каротени и ксантофили и се срещат в цветове, плодове и някои кореноплоди (морков).

3. Вакуола – отделена е с гранична мембрана – тонопласт, и е изпълнена с течност, наречена вакуолен (клетъчен) сок. Заема до 90% от завършилата растежа си клетка и служи за съхранение на временно изключени и отпадни продукти от метаболизма. Вакуолният сок съдържа различни вещества, повечето от които са разтворими във вода, по-рядко – аморфни или кристални отложения. Сред органичните съединения се срещат въглехидрати, гликозиди, дъбилни вещества, органични киселини, белтъци и алкалоиди. Неорганичните съединения включват различни фосфати, хлориди и др. Химичният състав на клетъчните вакуоли в голяма степен определя стопанското приложение на растенията.

4. Ергастични включения – представляват запасни или отпадъчни вещества, получени като продукти от жизнената дейност на клетката. Част от тях са временно изведени от обмяната на веществата (скорбелни зърна, липидни капки, алейронови зърна), а други са крайни отложения (оксалатни кристали, етерични масла и балсами).

Специфичните особености в обмяната на веществата и в начина на живот при растенията са създали механизъм, при който част от продуктите на обмяната се включват отново в метаболизма, а друга **част** се натрупва в организма или се **извежда** извън него. Тези процеси се осъществяват чрез отделителните (секреторни) структури на растенията. Отделяните вещества се разделят на екскрети (физиологично безполезни) и секрети (физиологично полезни). Химичната им природа показва голямо разнообразие – вода, захари, дъбилни и слизести вещества, етерични масла, смоли и др.

Отделителните структури се делят на две групи: външни (секретираното вещество се отделя навън от растението) и вътрешни (веществото остава вътре в растението). Към **външните отделителни структури** спадат:

1. Жлезисти власинки (трихоми) – живи образувания на епидермиса, специализирани да секретират най-често етерични масла, смоли или смес от двете, а в някои случаи – слизести вещества, вода и др. Отделянето се извършва от една или няколко излъчващи клетки. Жлезистите власинки могат да бъдат главести или люсповидни. Главестите трихоми могат да са с една (мушката) или няколко (домат) излъчващи клетки. При етеричномаслените растения от сем. Устноцветни секретирането се осъществява от люсповидни власинки.

Според химичната природа на веществата, които отделят, жлезистите трихоми биват: маслени (сем. Устноцветни, Черничеви и др.), смолести (по презимуващите пъпки на бреза и топола), парливи (коприва), солни (при растенията, обитаващи засолен почви – халофити).

2. Жлезисти полета (осмофори) – разполагат се във венчелистчетата или в други цветни части. Срещат се при маслодайна роза (*Rosa damascena*), момина сълза (*Convallaria majalis*), сем. Салепови (Orchidaceae) и др.

3. Водни устица (хидатоиди) – осъществяват процеса **гутация** (капково отделяне на вода от вътрешността на листа върху повърхността му). Срещат се при представители на семействата Розоцветни (Rosaceae) и Житни (Poaceae).

4. Нектарници – представляват епидермални клетки или няколко реда подепидермални клетки, разположени в близост до проводящите тъкани. Срещат се най-често по цветовете на растенията, но и по цветни дръжки, листа и стъбла. Нектарът, който отделят, представлява сладък сок, привличащ насекомите-опрашители.

Вътрешните отделителни структури задържат секрета в себе си или го отделят в специални вместилища (междуклетъчни празнини). Те се разполагат сред паренхима на всички растителни органи. Биват:

1. Секреторни клетки – разпръснати са поединично сред паренхима, от който се различават по форма и големина. Според типа на веществата, които съдържат, се различават: етеричномаслени клетки (в листата на дафиново дърво – *Laurus nobilis*, корените на диянка – *Valeriana officinalis*, перуника – *Iris* sp. и др.), слизести клетки (характерни за плодовете на бамята – *Abelmoschus esculentus*, корените на лечебната ружа – *Althaea officinalis* и др.), танинови клетки (в проводящите снопчета на бяза – *Sambucus* sp.), кристалоносни клетки (сходни с паренхимните клетки, отлагащи прости кристали, друзи или иглести кристали при почти всички растения).

2. Секреторни вместилища – срещат се под формата на празнини и канали във всички растителни части, образувани по схизогенен или лизигенен начин. Схизогенните вместилища се формират в резултат на частична мацерация на клетките, водеща до образуване на празнина. Срещат се в листата на жълтия кантарион (*Hypericum perforatum*), както и при представители на сем. Сенникоцветни (копър, магданоз, целина, резене и др.). Смолестите канали при иглолистните също се отнасят към тази група. Те представляват дълги тръбовидни междуклетъчни празнини, запълнени със смола и укрепени от склеренхимни клетки.

Лизигенните вместилища са характерни за листата и плодовете на цитрусовите растения (лимон, портокал, мандарина и др.). При тях жлезистите клетки след образуването на етерично масло лизират (разтварят се по ензимен път).

3. Млечни цеви – живи единични клетки или редица сливащи се клетки с целулозни и невдървесинени клетъчни стени, съдържащи във вакуолите си млечен сок. Той представлява гъста емулсия с различен цвят: прозрачна (черница, коприва), бяла (глухарче), оранжева (змийско мляко), жълто-кафява (коноп). Многоклетъчните млечни цеви представляват група клетки, свързани помежду си във вериги с перфорирани или напълно изчезнали преградни стени. Свързването на отделните цеви с напречни каналчета се означава като анастомози.

Надклас Tetrapoda е монофилетична група, включваща всички гръбначни животни с четири крайника или произлезли от такива. Към него се отнасят земноводни (клас Amphibia), влечуги (клас Reptilia), птици (клас Aves) и бозайници (клас Mammalia). Основната отличителна черта на четирикраките е наличието на две двойки крайници, пригодени за придвижване по суша, както и редица анатомични и физиологични адаптации за живот извън водната среда.

Екологични предпоставки за възникване на четирикраките

По време на девон започва рязко образуване на суша, в резултат на редуване на периоди с обилни валежи и периоди на засушаване, а средната температура на повърхността на водата е около 30°C. Заради оптималните условия, водните басейни са били пренаселени с разнообразни видове риби, които са се конкурирали за храна. На сушата са преобладавали васкуларни растения (папрати, плауни, хвощове, покритосеменни и голосеменни растения), формиращи обширни гори. За разлика от водната, сухоземната среда е предоставяла обилна хранителна база с ниско ниво на конкуренция и много по-разнообразни места за живеене и укритие. Това предопределя и основните фактори, допринесли за прехода от водна към сухоземна среда, които могат да се обобщят като периодично пресъхване на водоеми през късен девон (преди ~370 млн. г.), недостиг на кислород във водата, търсене на нови източници на храна и избягване на конкуренцията в „пренаселените“ водни басейни. Това обуславя и прехода към сушата, където има изобилие от храна (членестоноги) и липсват сухоземни хищници в ранните етапи. Първите четирикраки е трябвало да се справят с предизвикателствата на сушата като среда, която е твърде различна от водата по физични и химични свойства. За разлика от водната среда, сухоземната съдържа много повече кислород, има по-малка плътност и по-големи температурни амплитуди (до 30-40°C). В тази връзка, първите четирикраки развиват ключови анатомични белези, които са от решаващо значение за поддържане на телесната им маса на сушата – солиден скелет и две двойки крайници за придвижване, както и бели дробове за по-ефективна газова обмяна, но запазват тясна връзка с водната среда, до етапа на поява на първите обвити с твърда обвивка амниотични яйца. Произходът на четирикраките е тясно свързан с еволюцията на костните риби (клас Osteichthyes), по-специално с групата на **ръкоперките (Sarcopterygii)** – риби с месести, мускулести перки с вътрешен скелет, които представляват еволюционна основа за развитието на крайниците.

Преходни форми между риби и четирикраки

Произходът на четирикраките от древни ръкоперки е добре документиран чрез богата фосилна колекция. Палеонтологичните находки разкриват редица междинни форми, които проследяват постепенния еволюционен преход от риби към сухоземни гръбначни животни. Един от ранните примери е *Eusthenopteron* – ръкоперка от късния девон (преди ~380 млн. г.), чиито перки показват анатомични сходства с крайниците на четирикраките. Други важни находки са рибите от род *Panderichthys*, с паралелно развити хриле, бели дробове и ноздри, с череп и тяло, наподобяващи тези на ранните четирикраки, но все още със запазени истински плавници. Особено значимо е откриването на *Tiktaalik roseae* – най-убедителното палеонтологично доказателство за произхода на четирикраките от ръкоперките и за прехода от воден към сухоземен начин на живот. Подобно на *Panderichthys*, *Tiktaalik* притежава комбинация от признаци, характерни за рибите и за четирикраките, но развива и по-нови белези като подвижни шийни прешлени, специфично устройство на лакътната кост, наличие на кости на китката, силно развити гръдни мускули и примитивни бели дробове. Тези особености показват, че *Tiktaalik* е бил способен да се придвижва и извън водната среда. В същото време той запазва и редица характеристики на рибите – има люспи, лъчи в плавниците (но не и пръсти), специфично за рибите небце и горна челюст. Този вид е първото стъпало в еволюцията на подвижна шия и на възможността за въртеливи движения в лакътната става.

Първи четирикраки. Най-старите открити досега четирикраки са *Acanthostega* и *Ichthyostega*. Те имат стабилно рамо и бедрени кости, както и здрави крайници и силен гръбначен стълб. И при двата вида муцуната е продълговата, очите са се преместили по-назад в черепни

кухини и имат пръсти за разлика от *Tiktaalik*. Те запазват и признаци на рибите като опашни плавници, странична линия и хриле. *Acanthostega* е с 8 пръста и остава силно зависим от водата, защото крайниците му не са били добре адаптирани за движение по сушата, а за плуване и ходене по дъното. Имал е хриле и ухо, пригодено за слух във водата. *Ichthyostega* е с по-развити и по-дълги крайници, със 7 пръста и с по-малък опашен плавник, с които се е придвижвал основно по дъното в плитки води, но е излизал и на сушата. Това свидетелства, че крайниците на ранните четирикраки първо не са се развили за ходене по сушата, а за ходене под вода. *Acanthostega* и *Ichthyostega* са дали началото на родоначалниците, от които впоследствие произлизат двете големи линии – на съвременните земноводни и на съвременните представители на Amniota.

Разнообразие и еволюция на основните групи на надклас Tetrapoda

Клас Земноводни (Amphibia). Земноводните са първите четирикраки гръбначни животни, осъществили прехода от воден към сухоземен начин на живот. Обединяват всички четирикраки, които не се развиват от амниотични яйца. Произлизайки от ръкоперките през девон, запазват силна зависимост от водната среда. Амфибия означава „два живота“ и е препратка към факта, че земноводните минават през метаморфоза – развитие на индивидите от ларва, дишаща с хриле, до възрастен индивид, дишащ с бели дробове. Ларвите на земноводните се развиват във водна среда, а възрастните индивиди обитават влажни местообитания около водните басейни. Съвременните земноводни принадлежат към подклас Гладкокожи земноводни (Lissamphibia) и се разделят на: **разред Опашати** (Caudata), **разред Безопашати** (Anura) и **разред Безкраки** (Apoda s. Gymnophiona). Над 85% от земноводните са безопашати (жаби).

Като преходна група между водните и напълно сухоземните гръбначни, земноводните притежават чифтни крайници с пръсти, но скелетът им е сравнително слаб и не напълно приспособен да поеме тежестта на тялото продължително време на сушата. За пръв път в гръбначния стълб се обособяват шийна и кръстна област. Шийната е само от 1 прешлен (*atlas*), осигуряващ движение на главата във вертикална посока. Кръстната област, също от 1 масивен прешлен, служи за залавяне на хълбочните кости. Уникален признак за Anura е удължението зад кръстния прешлен (*urostyl*). Земноводните имат непостоянна температура на тялото. Развитието на белите дробове е значителна адаптация в прехода от водата към сушата. Еволюционното утвърждаване на белите дробове като основен дихателен орган в сухоземна среда е довело до обособяването за първи път на **два кръга на кръвообращение** – малък (белодробен) и голям (телесен). През сърцето започва да преминава и артериална кръв, за разлика от рибите, което обуславя тенденцията за разделяне на сърцето чрез преграда възпрепятстваща смесването на окислената от откислената кръв. Земноводните имат **триделно сърце** (2 предсърдия и 1 камера). Разделени са само предсърдията, а чрез система от клапи, камерата се използва последователно за изпомпване на артериална или венозна кръв, при което става частично смесване на двата типа кръв. Това функционално несъвършенство на сърдечната им структура се компенсира от развитието на допълнителни повърхности за газообмен – кожа и хриле. При някои видове кожата осигурява значителна част от кислорода (близо 50-60%). Тя е богато кръвоснабдена, водопронепускава, без люспи, с пигментни клетки (**хроматофори**) и се поддържа постоянно влажна от слюзни жлези, които могат да се видоизменят в отровни жлези със защитна функция. Външните хриле, с които дишат ларвите на опашатите земноводни остават и при възрастните на много видове, за да подпомогнат дишането. Това е проява на **педоморфизъм** – запазване на ларвални признаци при възрастните (външни хриле, странична линия, ларвални зъби, липса на клепачи). При земноводните се обособява **средно ухо с тъпанчева мембрана** и слухова костичка (*columella*), които позволяват възприемане на звуковите вълни в сухоземна среда. Появяват се клепачи, слъзни жлези и мигателна ципа, които предпазват и овлажняват окото. Обособяват се вътрешни носни отвори (хоани), като за първи път се осъществява **връзка между носната и устната кухина**, за разлика от рибите, при които такава липсва.

Преходът от водна към сухоземна среда оказва влияние и върху репродуктивните стратегии. Докато много земноводни са с **външно оплождане** във водна среда и запазват двуфазния жизнен цикъл с водни ларви (метаморфоза), някои правят важна еволюционна стъпка чрез вторична адаптация за снасяне на яйца на сушата във водна микросреда (листни розетки, гнезда от пяна, влажна почва). При много опашати земноводни се наблюдава **вътрешно оплождане без същинска копулация**, посредством **сперматофори** – опаковани сперматозоиди в пакетче от желатинозна маса, които мъжкия прикрепва към външен субстрат, а женската приема с клоаката си

и по-късно отделя във водна среда. При земноводните се запазва отделителна система от тип мезонефрос, както при рибите, поради тяхната еволюционна приемственост и тясната връзка с водната среда. Мезонефросът е функционално достатъчен ефективен за осморегулация и отделяне на азотните метаболити в условия на водна или влажна среда, поради което не се развива по-сложния метанефрос, характерен за напълно сухоземните гръбначни.

Клас Влечуги (Reptilia). Влечугите са четирикраки гръбначни животни, напълно сухоземни, независещи от водната среда (ако не са водни обитатели). Те са представители на групата **Amniota** (животни, снасящи яйца на сушата, в които ембрионът е защитен от три обвивки – **амнион**, **алантоис** и **хорион** – и твърда рогова или кожата обвивка). Други представители на тази група са класовете Птици и Бозайници, произлезли от влечугите. Влечугите са се появили през карбон. Първоначално те са били с полуводен начин на живот и са снасяли яйцата си извън водата, за да ги спасят от хищници. Постепенно яйцата са се видоизменили и станали по-малко уязвими към изсъхване. Много групи влечуги, като динозаври, птерозаври и ихтиозаври, изчезват в хода на еволюцията поради резки промени в климата, недостиг на храна и др. Преди ~252 млн. г. (перм), в резултат от опустошителни земетресения и изригвания на вулкани, в Сибир измирят почти 95% от животните на земята. Причината е смъртоносна доза метан и значително ниво на CO₂ в атмосферата поради нагриването на карбонатни и въглищни пластове. Това е довело до повишаване на температурата в океаните и оттам до намаляване на съдържанието на O₂. След стабилизиране на газовия състав на атмосферата, освободените жизнени пространства и по-високата температура дават шанс на влечугите като по-приспособена група за живот на сушата да оцелеят и да се развият. През следващия период (триас) средните и едри влечуги започват да ходят с прибрани под тялото крака, подобно на съвременните бозайници. Изправеният стоеж дава редица предимства – намалява натоварването върху коленните и лакътните стави, тъй като тежестта на тялото се поема директно от всички стави на краката, което позволява по-големи размери на тялото и съответно по-висока конкурентоспособност за хранителни ресурси. По-дългата крачка увеличава скоростта на движение и улеснява избягването на хищници. Тези особености създават предпоставки за появата на двукраки и едри динозаври и допринасят за господството им през мезозойската ера (преди ~150 млн. г.), известна още като ера на влечугите. Масовото изчезване на динозаврите (с изключение на птиците), птерозаврите и ихтиозаврите става преди ~66 млн. г. в края на креда (последния период от мезозой). Смята се, че причината за това е падането на голям астероид, което довежда до рязко застудяване, прахова завеса в атмосферата, срыв във фотосинтезата и колапс на хранителните вериги.

Една от основните характеристики, използвани за класификация на амниотите, е липсата или наличието на темпорални отвори в черепа. Тази морфологична особеност има важно филогенетично значение и лежи в основата на съвременната класификация на влечугите и техните родствени групи: **Подклас Anapsida** – имат солиден череп без темпорални отвори, включва костенурките и техните прародители; **Подклас Synapsida** – имат една двойка темпорални отвори, за които се залавят мускулите на челюстта – измрели влечуги, от които произлизат съвременните бозайници; **Подклас Diapsida** – имат две двойки темпорални отвори в черепа, осигуряващи по-голяма площ за залавяне на челюстната мускулатура и по-голяма сила на захапката – гущери, змии, крокодили, както и родоначалниците на съвременните птици.

В процеса на еволюция при влечугите се появяват значителни еволюционни промени, които им помагат да заселят всички сухоземни екосистеми (без Антарктида). Едно от най-фундаменталните еволюционни събития в историята на гръбначните животни, довело до независимост на размножаването от водната среда, е появата на **амниотичното яйце**. Липсата му при земноводните е причината те да не се разпространят повсеместно на сушата. Произходът на амниотичното яйце не е известен поради липса на фосили. Най-старото известно яйце датира от ранен перм и вероятно е на пеликозавър (ранен примитивен синапсид *Dimetrodon*). Тази линия е дала начало на бозайниците. За разлика от земноводните, представителите на Amniota нямат ларвен стадий и след излюпването директно се развиват във възрастна форма. Ембрионът се развива в торбичка – **амнион**, която е изпълнена с амниотична течност, създаваща самостоятелна водна среда за развитие извън водния басейн. Ембрионът диша чрез **хорион** (ципата под черупката) и отделя непотребните вещества от метаболизма чрез **алантоис**. Амниотичното яйце притежава голямо количество жълтък, който осигурява пълното развитие на индивида без ларвен стадий. Черупката осигурява механична защита и позволява газообмен. Успешното размножаване на

влечугите на сушата се гарантира от **вътрешно оплождане** чрез копулационен орган, което осигурява максимална защита на гаметите.

Голяма част от адаптациите на влечугите са свързани с предотвратяване на загубите на вода и запазване на водния баланс на организма в сухоземна среда: **Кожата става суха, кератинизирана, с люспи, костни плочки и без жлези**, за разлика от влажната жлезиста кожа на земноводните; **Бъбреците са от тип „заден бъбрек“ – метанефрос** (с Малпигиеви телца), за разлика от мезонефроса при земноводните; **Появява се уретра**, с цел запазване на вода в организма; **Излишните соли се отделят чрез солни жлези**, разположени в носа или окото; **Влечугите отделят не урина, а пикочна киселина**, която се екскретира с минимална загуба на течности, за разлика от амоняка (силно токсичен и изисква голямо количество вода за разреждане) и уреята (по-малко токсична, но все пак разтворима и изисква вода). Това е особено важно при развитие в амниотично яйце, тъй като отпадният продукт се натрупва в алантоиса, без да отравя ембриона и без да изисква разреждане с вода.

При влечугите в процеса на еволюция осевият скелет се укрепва. В гръбначния стълб се диференцират пет области – шийна, гръдна, поясна, кръстна и опашна. Появява се втори шиен прешлен – **епистрофей** (*epistropheus*), осигуряващ ротация на главата. Обособяват се и два кръстни прешлена за по-стабилна връзка с тазовия пояс. Крайниците се адаптират към напълно сухоземен начин на живот (без вторично навлезлите във водна среда), завъртат се към тялото и надлъжната им ос лежи успоредно на основната. Челюстната мускулатура, захванатата за отворите на черепа, обуславя здрава захапка и силни челюсти с хомодонтни или по-рядко хетеродонтни зъби (с изключение на костенурките). В хода на еволюцията се наблюдава значителна специализация на жизненоважните системи, отразяваща окончателното приспособяване на влечугите към сухоземен начин на живот. Дишането става много по-ефективно спрямо това на земноводните. Белите дробове са с **фавеоли**, които увеличават повърхността за газообмен. Продължава тенденцията за пълно разделяне на артериалната от венозната кръв, но преградата в камерата остава непълна и **сърцето е триделно** (с изключение на четириделно сърце при крокодилите). Значим етап в еволюцията на нервната система е усложняването на крайния мозък и формирането на **първична мозъчна кора** (*палеокортекс*) от сиво мозъчно вещество – важна стъпка към развитието на неокортекса при бозайниците. Сетивните системи също се усложняват, като се появява: **външно ухо със слухов канал** (при гущери); **вомероназален орган на Якобсон** за хеморецепция (особено при змиите) за възприемане на химични сигнали (феромони и др. молекули), постъпващи чрез раздвоения език; **термочувствителни ямки** между ноздрите и горната челюст за възприемане на топлинното излъчване на околните обекти и прецизно откриване на топлокръвна плячка (при някои змии).

Клас Птици (Aves). Появили са се преди ~150 млн. г. през юра от тероподните динозаври. Птиците са единствените живи членове на клад Archosauria, имащ общ прародител с най-ранните динозаври. Палеонтологичните данни за птиците са доста оскъдни. Откриването на археоптерикса (*Archaeopteryx lithographica*), притежаващ характеристики както на влечуго, така и на птица, предоставя липсващото звено между влечугите и птиците. В процеса на еволюция при птиците се появяват значителни морфологични и физиологични промени, свързани с активния полет, които днес се приемат за основни характеристики на класа. Тези промени отразяват еволюционни адаптации, свързани с формирането на олекотен и същевременно здрав скелет чрез елиминиране на едни и модифициране на други костни структури: **Предните крайници се видоизменят в крила** – основен двигател на полета; **Тялото придобива аеродинамична форма и се покрива с пера** – дермални образувания, които осигуряват подемна сила, аеродинамичност, термоизолация, сетивна информация; **Формират се пневматични кости, изпълнени с въздух** – напълно кухи или с въздушни празнини в тях, което ги прави изключително леки; **Обособяват се костни сливания в гръбначния стълб – кръстец** (*os synsacrum*) за залавяне на тазовите кости и **пигостил** (*pygostyle*) за захващане на кормилните пера на опашката; **Настъпват промени в крайниците, поясчетата и гръдния кош**: в предните крайници се запазват само 3 пръста и 2 самостоятелни кости на китката, останалите срастват с дланта в обща кост (*carpometacarpus*); ключиците се сливат и смъкват надолу в характерна за птиците кост – *furcula*; ребрата имат израстъци (*procesi uncinati*), които се залавят за следващото ребро; големият пищял сраства с кости от петата в *tibiotarsus*, а малкият пищял е силно редуциран; вторият ред кости на петата сраства с костите на стъпалото в обща кост – *tarsometatarsus*. За пръв път се появява капаче на колянната става – *patella*.

За да се обезпечи интензивния метаболизъм във връзка с летенето, настъпват и сериозни физиологични промени в редица системи. Птиците се отличават с: **Високо ефективна дихателна система с два цикъла на дишане** – една от най-съвършените дихателни системи при гръбначните, осигуряваща постоянен приток на O₂ по време на полет. Фините бронхиоли не завършват с алвеоли, а сякаш, свързани са с подобни на тръбички *парабронхии*, през които навлиза въздух само в една посока. Белите дробове са свързани с *въздухоносни мехури*, които осигуряват постоянен въздушен поток и олекотяват тялото; **Приспособяване на кръвоносната система към високите енергийни нужди при полет**. Птиците са първите гръбначни животни с постоянна телесна температура – *ендотермия*, благодарение на наличието на четириделно сърце, обуславящо пълното отделяне на окислената от откислена кръв; **Силно специализирана храносмилателната система** – без зъби и тежка челюст, с лек рогов *клюн*, за олекотяване на главата. Липсата на механична обработка на храната чрез зъби е довела до формиране на *гуша* (единично или чифтно разширение на хранопровода, резервоар за храна) и *двуделен стомах* (преден жлезист и заден мускулест); **Редуциране на пикочо-половата система** за олекотяване и икономия на вода. Липсва пикочен мехур, а отпадните вещества се изхвърлят директно чрез клоаката. Като способ за пестене на вода се отделя *пикочна киселина*, а не урея. Женската полова система се състои само от ляв яйчник и ляв яйцепровод; **Специализирана нервна система за точна ориентация, координиран полет и проява на сложно поведение** – по-развита в сравнение с влечугите. Малкият мозък, отговорен за координацията на движенията при летене, увеличава значително обема си. Птиците развиват силно зрение и слух и по-слабо обоняние.

Клас Бозайници (Mammalia) е най-висшият клас гръбначни животни, чието име произлиза от начина на хранене на малките – чрез бозаене. Възникват през триас от звероподобни влечуги с примитивни тривърхи зъби – цинодонти (Therapsida). Сред ранните им групи са растителноядните Multituberculata с големина на плъх. През мезозоя се появяват еднопроходните бозайници (Monotremata), при които яйцепроводите, семепроводите и пикочопроводите завършват в общ отвор – клоака. През неозойската ера Multituberculata изчезват и се появяват съвременните групи бозайници (яйценосни, торбести и плацентни), които днес населяват почти всички части на Земята, без вътрешността на Антарктида. Бозайниците се отличават с комплекс от еволюционно нови морфологични и физиологични характеристики, които повишават тяхната адаптивност и осигуряват по-висока преживяемост на потомството. Ключови са еволюционните адаптации в биологията на подклас Живородни (Theria), които ги правят изключително успешна група. **Живораждането** предоставя по-добра защита на ембриона от неблагоприятните условия на околната среда и от хищници и пълен физиологичен контрол от страна на майката при осигуряване на хранителни вещества, кислород и терморегулация. Задържането и развитието на ембриона в тялото на майката повишава преживяемостта на потомството и увеличава репродуктивния успех на вида. Формирането на **плацента** от хориона и алантоиса осигурява по-ефективен обмен на вещества и имунна защита на ембриона, позволява по-продължително вътреутробно развитие и раждане на по-добре развити малки, което води до успешното заемане на различни екологични ниши от бозайниците. **Изхранването с мляко** предоставя: сигурен хранителен източник, произвеждан от тялото на майката и независещ от външни условия (наличие на плячка, сезон, конкуренция); непрекъснат достъп до храна още от раждането, дори в сурова среда; оцеляване в екстремни климатични условия, където новороденото не би могло да се храни самостоятелно (арктически животни, пещерни видове и др.); имунна защита за новороденото чрез антитела (имуноглобулини), ензими, лактоферин и др.; тясна връзка между майката и малките, често съпроводена със социално поведение и обучение, особено при приматите и социалните видове. Кожата на бозайниците е покрита с **косми/козина**, които имат защитна и терморегулаторна функция. Дишането се извършва чрез силно развити **бели дробове с алвеоларна структура** и с помощта на мускулна диафрагма, а **метанефросът с Хенлиева бримка** осигурява прецизна регулация на водно-солевия баланс.

Бозайниците се отличават с високо специализиран опорно-двигателен апарат, ясно диференциран гръбначен стълб и добре развита шийна област от **7 шийни прешлена**, осигуряваща голяма подвижност на главата. Кръстните прешлени (най-често 4) са слети в свещена кост (*os sacrum*). При висшите бозайници коракондът се редуцира до коракониден израстък и сраства с лопатката, а ключицата изчезва при копитните, някои хищници и др., които не могат да извършват пълна ротация на предния крайник в раменната става. Типична особеност е наличието на **единична долна челюст (dentale)**, за разлика от останалите гръбначни, които имат още няколко

кости, които при бозайниците мигрират в средното ухо и формират структури, подобряващи значително слуха – **чукче, наковалня и стреме**. **Хетеродонтните зъби** и по-специално **кътниците**, съчетаващи дъвкателна и режеща функция, осигуряват механична обработка и по-ефикасно усвояване на храната и представляват адаптация към всеядност или специализирана диета, което улеснява приспособяването към различни хранителни стратегии.

Съвкупността от адаптации – в опорно-двигателната, дихателната, отделителната, кожната и сетивната система – осигурява на сухоземните хордови животни структурна стабилност, физиологична ефективност и висока екологична пластичност, което обуславя успешното завладяване на сушата и изключителното разнообразие на съвременните сухоземни гръбначни.

Нервната система осъществява връзката на организма със средата и го адаптира към непрекъснато изменящите се условия в нея. Тя пуска в ход и регулира дейността на органите и системите, и осигурява функционалното единство на организма. Подялбата на нервната система (НС) се извършва по два принципа: топографски и функционален. Според топографския принцип НС е **централна**, чиито структури са разположени в черепната кухина и гръбначния канал (главен и гръбначен мозък) и **периферна**, чиито структури са извън тези кухини (периферни нерви, възли и рецептори). Според функционалния принцип НС е **соматична**, която осъществява връзката на организма с околната среда и осигурява инервацията на скелетните мускули и **вегетативна**, която регулира и координира дейността на вътрешните органи, кръвоносните съдове и жлезите.

Основната тъкан, която изгражда структурите на нервната система е нервната тъкан. Тя се

състои от два основни клетъчни типа: високоспециализирани функционални клетки (неврони) и клетки с поддържаща функция (глиални клетки). Невроните са способни да възприемат дразненията от външната или вътрешната среда на тялото, да се възбудят и да провеждат нервни импулси, а глиалните клетки (невроглия) имат опорна, трофична, защитна и секреторни функции. **Невронът** е основна морфологична и функционална структура на нервната тъкан (Фигура 1). Притежава клетъчно *тяло* (сома, перикарион);

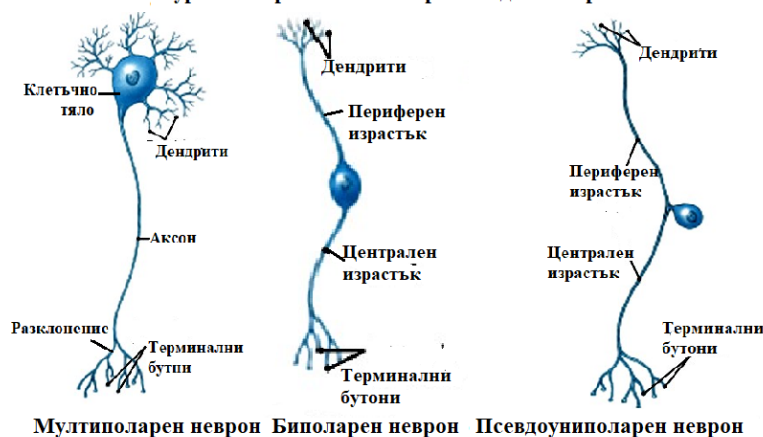
къси, разклонени в близост до тялото израстъци – *дендрити* и дълъг израстък, наречен *аксон* или неврит. Тялото съдържа основната част от цитоплазмата, ядрото и клетъчните органели. Нервният импулс се пренася от дендритите към перикариона и от него към аксона.

По-голямата част от аксоните са покрити с миелинова обвивка, която се образува от клетъчната мембрана на един вид невроглиялни клетки – Шванови клетки (в ПНС) и олигодендроти (в ЦНС). На места миелиновата покривка се прекъсва – т.нар. *прищъпвания на Ранвие*. Миелинът е мастно-белтъчно вещество, което придава белезникав цвят на аксона. Действа като електрически изолатор, предотвратявайки разсейването на импулсите и позволявайки им да „скачат“ между прекъсванията на Ранвие. Миелиновата обвивка е свързана с провеждане на възбуждането. Колкото е по-дебела, толкова по-голяма е скоростта на провеждане. Аксоните в края се разклоняват и завършват с окончания, наречени *терминални бутони*. Невронът има свойства на секреторна клетка. В перикариона се синтезират химични вещества (медиатори или невротрансмитери), които се пренасят до терминалните бутони и имат голямо значение при предаване на нервния импулс от един неврон на друг.

Видове неврони. Класификацията на невроните може да се направи по различни критерии:

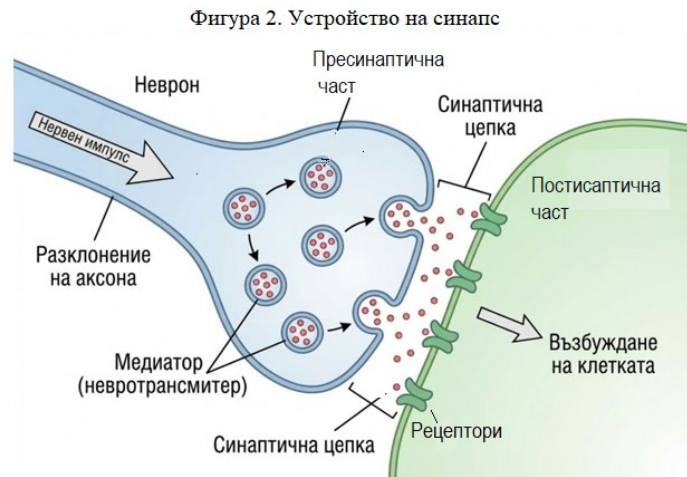
1. Според скоростта на провеждане: **А** неврони – богато миелинизирани, провеждат с най-голяма скорост. **В** неврони – слабо миелинизирани, провеждат с по-малка скорост. **С** неврони – немиелинизирани, провеждат с най-малка скорост.
2. Според големината на перикариона: клетъчното тяло варира в широки граници – от 3 – 4 μm до 120 μm и в зависимост от това невроните се делят на – гигантски, големи, средни, малки и много малки.
3. Според формата на клетъчното тяло: звездовидни, пирамидни, крушовидни, вретеновидни, овални и пр.

Фигура 1. Устройство на неврон. Видове неврони.



4. Според броя на израстъците: *многополюсни* (мултиполарни) – имат много дендрити и един аксон и са най-много в нервната система; *двуполюсни* (биполарни) – имат два израстъка, изхождащи от двата полюса на тялото. Единият (по-къс) израстък, е централен и е насочен към структурите на ЦНС, а другият (по-дълъг), е периферен, достигащ до рецептори, разположени в различни части на тялото; *псевдоеднополюсни* (псевдоуниполарни) – имат един къс израстък, който Т-образно се разделя на два противоположни клона (периферен и централен).
5. Според функциите невроните биват: сетивни, двигателни и междинни (интерневрони).
6. Според посоката на провеждане на нервните импулси – аферентни (пренасят импулси от периферията към мозъка), еферентни (пренасят импулси от мозъка към периферията) и асоциативни (свързват аферентните с еферентните неврони).

Невроните се свързват помежду си чрез **синапси** (Фигура 2). Те представляват специализирани контакти между две нервни клетки или между нервна и ефекторна клетка (мускулна или жлезиста), чрез които става предаване на нервния импулс. Синапсът има три части: 1. *пресинаптична част* – това най-често е крайното окончание на аксона (мембраната на терминалния бутон). Тази част е разширена и съдържа множество митохондрии и малки мехурчета (везикули) с определено химическо вещество (медиатор). 2. *постсинаптична част* – това е мембраната на следващия неврон. На нея се разполагат рецептори (протеини), които могат специфично да се свържат с медиатора. 3. *синаптична цепка* – пространството между двете части, което е широко около 20 nm. Когато нервният импулс достигне пресинаптичната част, медиаторът се отделя от везикулите, дифундира в синаптичната цепка и се свързва с рецепторите на постсинаптичната част. В резултат на това настъпва деполяризация (възбуждане) или хиперполяризация (задържане) на постсинаптичната мембрана в зависимост от характера на медиатора. Според контактуващите части на невроните синапсите биват: *аксо-соматични*, *аксо-дендритни*, *аксо-аксонални* и *дендро-дендритни*.



В ЦНС нервната тъкан е организирана в сиво и бяло мозъчно вещество. **Сивото вещество** (substantia grisea) е изградено от телата на невроните, дендритите, невроглия и кръвоносни съдове. **Бялото вещество** (substantia alba) е изградено от аксоните на невроните, невроглия и кръвоносни съдове. Аксоните в бялото вещество се групират и образуват добре оформени снопчета.

Произход. НС произлиза от ектодермата. По гръбната страна на зародиша се появява нервна пластинка (плочка), която към края на първия месец се превръща в нервна тръба. Предният край на тръбата задебелява и от него се обособяват три мозъчни мехурчета (предно, средно и задно), от които по-късно се развиват частите на главния мозък. От задния край на тръбата се оформя гръбначния мозък.

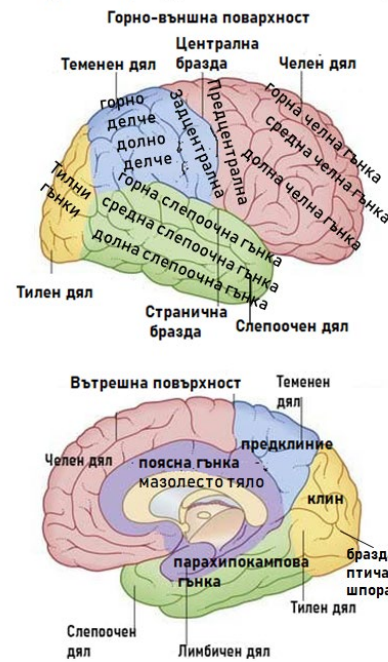
Краен мозък – външно описание на хемисферите и вътрешен строеж.

Крайният мозък (telencephalon) се развива от предното мозъчно мехурче във връзка с обонянieto, инстинктивното и съзнателно поведение на човека. Той е най-голямата част на главния мозък и представлява 80% от масата му. Нарича се още голям мозък (cerebrum). Изграден е от две **полукулба** (хемисфери), разделени едно от друго с надлъжна цепка, в дъното на която се намира бяло образувание, наречено **мазлесто тяло** (corpus callosum). То е съставено от миелинови нервни влакна, преминаващи от едната в другата хемисфера. Полукулбото има овална издължена форма с *три повърхности*: горновъншна (изпъкнала), медиална (плоска) и долна. По повърхността на полукулбото преминават множество бразди (sulci cerebri), които ограничават мозъчни гънки или извивки (gyri cerebri). От три основни бразди (*централна*, *латерална* и *теменно-тилна*), полукулбото се разделя на **четири дяла**: *челен* (lobus frontalis), *теменен* (lobus parietalis), *тилен* (lobus occipitalis) и *слепочен* (lobus temporalis). Във всеки дял се намират

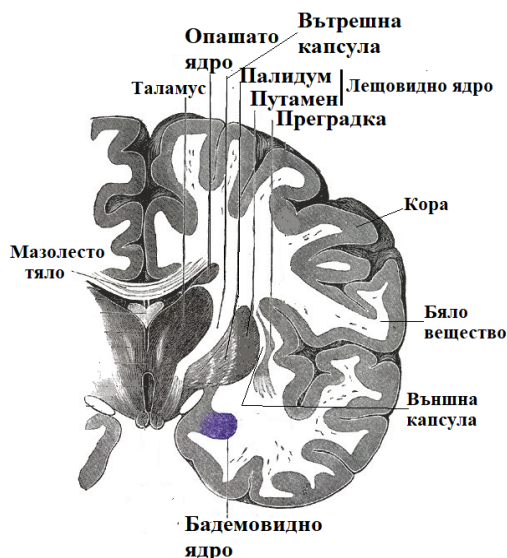
бразди от втори порядък, които ограничават съответни мозъчни извивки (фигура 3). По-важни извивки на полукулблото са: По горно – външната повърхност в **челния дял** – предцентрална гънка (*гирус прецентралис*) и три челни гънки (*гирус фронталис супериор*, *гирус фронталис медиус*, *гирус фронталис инфериор*); в **теменния дял** – задцентрална гънка (*гирус постцентралис*) и две теменни делчета – горно и долно (*лобулус париеталис супериор* и *лобулус париеталис инфериор*); в **слепоочния дял** – три хоризонтални слепоочни гънки (*гирус темпоралис супериор*, *гирус темпоралис медиус*, *гирус темпоралис инфериор*); в **тилният дял** – няколко тилни гънки (*гири оксипиталис*). По медиалната повърхност – поясна гънка (*гирус цингули*), клин (*кунеус*), предклиние (*прекунеус*), парацентрално делче (*лобулус парацентралис*). По долната повърхност – права гънка (*гирус ректус*), орбитални гънки (*гири орбиталис*), парахипокампова гънка (*гирус парахипокамपालис*).

Всяко полукулбо се състои от части, с различна филогенетична възраст: *мозъчна кора*, *бяло мозъчно вещество*, *базални ядра*, *странично мозъчно стоматхче*, *обонятелен мозък*, *лимбична система*. **Мозъчната кора** (*cortex cerebri*) е най-силно развита и покрива останалите части като плащ. Във филогенетично отношение тя е най-младото образуване на нервната система (неенцефална част). **Бялото вещество** (*substantia alba*) също е неенцефална част. Изградено е от нервни влакна, невроглия и кръвоносни съдове. Според посоката си нервните влакна са три вида: 1) *асоциативни* – свързват части на едно и също полукулбо. Те биват *къси*, свързващи съседни извивки и *дълги*, свързващи различните дялове на полукулблото; 2) *комисурални влакна* – свързват симетрични части от двете полукулба, влизайки в състава предимно на мазолестото тяло; 3) *проекционни влакна* – свързват кората на хемисферите с други части на главния мозък и с гръбначния мозък. Съобразно посоката, в която провеждат влакната биват *низходящи* – двигателни, достигащи до по-ниско стоящи части на ЦНС и *възходящи* – сетивни, идващи от други части на мозъка до кората. **Базалните ядра** на хемисферите представляват сгрупвания от сиво вещество (видими при срез) в основата на полукулбата, сред бялото вещество (фигура 3). Към базалните ядра спадат: *опашатото ядро* (*nucleus caudatus*) – има форма на запетая и дължина около 7 см. Притежава широка предна част – глава и дълга опашка, която се извива върху таламуса от междинния мозък; *лещовидно ядро* (*nucleus lentiformis*) – разполага се латерално от опашатото

Фигура 3. Бразди и гънки на хемисферите



Фигура 4. Базални ядра на хемисферите



ядро, като се отделя от него чрез слой бяло вещество (*вътрешна капсула*). Има форма на двойно-изпъкнала леща. Състои се от външна, по-тъмна част – *черупка* (путамен) и вътрешна, по-светла част – *бледо тяло* (палидум). Опащатото и лещовидното ядро, заедно с разположеното по между им бяло вещество формират т.нар. *ивичесто тяло* (*corpus striatum*). Двете ядра функционират в тясно взаимодействие с коровите двигателни зони и до голяма степен са отговорни за двигателния контрол на тялото. Имат ключово участие в екстрапирамидната система, осигурявайки плавност, прецизност и координация на произволните движения, както и в регулиране на мускулния тонус. Увреждането на различни части от ядрата предизвиква сложни нарушения в регулацията на движенията – т.нар. паркинсонов синдром (тремор, масковидно лице, скованост на мускулите и др.);

преградката (claustrum) представлява вертикална нагъната сива пластинка, с дебелина 1-2 мм, разположена в страни от лещовидното ядро. От него се отделя чрез тънък слой бяло вещество (външна капсула); *бадемовидното ядро* (corpus amigdaloidеum) е сива маса, намираща се в дълбочина на бялото вещество в слепоочния дял. То е основна част на лимбичната система. **Страничното мозъчно стомахче** (ventriculus lateralis) е чифтна кухня, разположена във вътрешността на съответната хемисфера (лява и дясна) и е остатък от ембрионалното предно мозъчно мехурче. Състои се от четири части, разположени в различните дялове на хемисферата: *централна част* – в теменния дял; *преден рог* – в челния дял; *заднен рог* – в тилния дял; *долен рог* – в слепоочния дял. Във вътрешността на стомахчето има съдов сплит, отделящ цереброспинална течност (ликвор). Чрез отвора на Монро предният рог се свързва с кухнята на третото мозъчно стомахче в междинния мозък. **Обонятелният мозък** е свързан с приемане и анализиране на обонятелната информация. Това е филогенетично най-старата част на полукулблото, която у човека е сравнително слабо развита.

Има два дяла – периферен и централен. **Периферният дял** включва няколко, свързани едно с друго, образувания: *обонятелна луковича*, *обонятелен път*, *обонятелен триъгълник*, *обонятелно поле*. Структурите залягат по долната повърхност на челния дял. Те приемат и обработва първичната информация за миризмите, разграничавайки различните аромати. След това предават данните към централния дял на мозъка за по-нататъшна интерпретация. Към **Централният дял** се отнасят главно: *извивка на морския кон* (gyrus hippocampus) – особена гънка на кората, вдадена (втлачена) в долния рог на страничното стомахче и изолирана с бяло вещество; *бадемовидно ядро* (амигдала). Хипокампът участва в запаметяването на миризмите, а амигдалата добавя емоционален заряд, правейки спомените за различните аромати емоционално наситени. Обонятелният мозък има много връзки с лимбичната система, като някои от неговите структури са част от тази система. **Лимбичната система** включва мозъчни структури, разположени около мазолестото тяло. Тя отговаря за емоционалното състояние, настроенията, паметта, инстинктите и обонянето. Морфологично към нея се отнасят едни от най-старите образувания на кората: *извивка на морския кон* (хипокамп) – има основна роля при обучение и памет – формиране на краткосрочна памет и нейното преминаване в дългосрочна; *поясна гънка*, *парахипокампова гънка*, *зъбчатата гънка* – ключови корови структури, свързани с внимание, пространствено възприемане и формиране на спомени. Освен корови гънки към лимбичната система се отнасят и редица ядра: *бадемовидното ядро* – обработва емоции като страх и гняв, участва в емоционалната памет и формиране на реакции „борба или бягство“; някои *ядра на междинния мозък* (сисовидни телца, ядра на таламус и на епиталамус). Всички части на лимбичната система са свързани помежду си чрез нервни влакна. Невроните на тази система притежават и многобройни връзки с кората, с мрежестата формация и с хипоталамуса. По този начин в лимбичната система се осъществява интеграция на соматична, вегетативна и обонятелна информация.

Кора на крайния мозък. Цито- и миелоархитектоника на кората

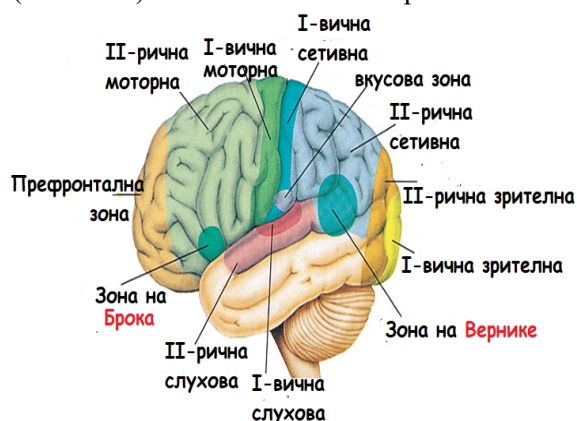
Кората (cortex cerebri) представлява слой сиво вещество, покриващо повърхността на хемисферите. Дебелината ѝ варира от 1.5 до 5 mm. Тя е силно набраздена и нагъната. Съдържа около 14 – 20 милиарда неврони, които влизат в множество контакти. В строежа ѝ участват разнообразни по форма, големина и функции нервни клетки, които се групират в два основни типа: пирамидни и зърнести (звездовидни). *Пирамидните* неврони са най-многобройните клетки (66%). Тяхната големина варира между 15 – 120 μm. *Зърнестите* неврони са с по-малък размер (8 – 14 μm), с редуцирана цитоплазма и силно разклонени дендрити. Те са около 33% и съществуват в няколко разновидности (вретеновидни клетки, хоризонтални клетки на Кахал, клетки на Мартиноти, кошничкови клетки и др.). В кората клетките се подреждат по определен начин, като образуват слоеве, които се различат по количество и вид на изграждащите ги неврони. Това подреждане на клетките в слоеве се нарича **цитоархитектоника**. В по-голямата част от кората (9/10) клетките образуват шест слоя. Такава кора се обозначава като *еднаква кора* (*изокорткс*). От повърхността към дълбочината слоевете са: I. молекулярен слой – предимно невроглиални клетки и преплетени нервни влакна; II. външен зърнест слой – малки зърнести и пирамидни клетки; III. външен пирамиден слой – малки до средно големи пирамидни клетки; IV. вътрешен зърнест слой – малки зърнести клетки; V. вътрешен пирамиден слой – големи пирамидни клетки (гигантски клетки на Бец); VI. полиморфен слой – разнообразни по форма клетки. Останалата 1/10 от мозъчната кора има по-малко слоеве (3 – 4 слоя) и се обозначава като *друга кора* (*ало-*

кортекс). Израстъците на невроните в кората също са подредени в определен ред и това се нарича **миелоархитектоника**. Нервните влакна се разполагат в кората в две посоки: вертикално или хоризонтално. *Вертикалните влакна* според посоката на провеждане са аферентни или еферентни. *Хоризонталните влакна* формират бели ивици, разграничаващи отделните слоеве на кората.

Локализация на функциите в кората

Кората е най-новата формация в строежа на нервната система и в нея са локализираните най-висшите нервни функции като мислене, памет, говор, въображение, планиране, сензорна обработка и пр. На функциите на кората са подчинени пряко или косвено всички останали части на нервната система. Във функционално отношение кората се разделя на различни зони – първични зони (сетивни и двигателни), вторични зони (асоциативни) и третични зони (психични). По-важни зони на кората са:

Първична моторна зона – разположена предимно в предцентралната гънка. От тук започват пирамидните пътища, свързани с волевите движения в противоположната половина на тялото. Увреждането на зоната води до *парализа* на противоположната мускулатура. **Вторична моторна зона** (асоциативна зона) – обхваща задните части на трите челни гънки. От тук се подреждат и съгласуват в последователен ред отделните движения. При увреждане настъпва *несръчност (апраксия)* – невъзможност за координация на отделните движения при изпълнение на сложно действие. **Префронтална зона**



(третична зона) – заема предната част на челния дял (челния полюс). Това е ключова област в мозъка, обработваща когнитивна информация. Регулира социалното поведение, емоциите и вземането на решения. Увреждането на зоната води до разстройство на личността – антисоциално поведение, нарушения в планирането, преценката и контрола на импулсите, постепенна деградация. **Първична соматосетивна зона** – обхваща предимно задцентралната гънка. До нея достига информация за повърхностна и дълбока (проприоцептивна) сетивност. При увреждане настъпва пълна безчувственост. **Вторична соматосетивна зона** (асоциативна зона). Обхваща областта на горното теменно делче. Тук се анализират и синтезират тактилни усещания. При увреждане настъпва **тактилна агнозия** – невъзможност за разпознаване на предметите чрез опипване. **Първична зрителна зона** – обхваща гънки в тилния дял, около браздата на птичата шпора. До тази част достигат първични зрителни усещания (светлинни сигнали). При увреждане настъпва слепота. **Вторична зрителна зона** (асоциативна зона) – в тилния дял, около първичната зона. Тук се анализират и асоциират първичните зрителни сигнали и се различават предметите, разположението им в пространството и т.н. При увреждане на тази част настъпва **зрителна агнозия** – предметите се виждат, но не се разпознават. **Първична слухова зона** – обхваща средата на горната слепоочна гънка. Възприема първични звукови сигнали – честота, интензитет, посоката от която идват и пр. При увреждане на тази част настъпва глухота. **Вторична слухова зона** (асоциативна зона) – в горна слепоочна гънка, в близост до първичната слухова зона. В нея се извършва по-сложен анализ на звуковете – разпознаване на мелодии, език, емоционални нюанси и пр. При увреждането ѝ болният чува звуците, но не ги разпознава. **Обонятелна зона** – заема малка площ по медиалната страна на слепоочния дял (парахипокампова гънка). Тази зона обработва мирисни стимули и ги свързва с емоции чрез лимбичната система (амигдала, хипокамп). **Вкусова зона** – намира се в долната част на задцентралната гънка. Обработва вкусовите дразнения и ги интегрира с обоняние, допир и температура от устната кухина за цялостно усещане за вкус. **Центрове на речта** – разположени са в доминиращата хемисфера и отговарят за различни аспекти на речта: **двигателен център на устната реч** – в задната част на долната челна гънка (зона на Брока). При увреждане – загуба на говор (**двигателна афазия**); **слухов център на устната реч** – в задната част на горната слепоочна гънка (зона на Вернике). При увреждане болният чува думите, но не разбира техния смисъл (**слухова афазия**); **двигателен център на писмената реч** – отговаря за писането. Намира се в задната част на средната челна гънка. При увреждане – загуба на способност за писане (**аграфия**); **зрителен център на писмената реч** – отговаря за четенето. Намира се около края на страничната бразда. При увреждане – невъзможност за разчитане на написаното (**алексия**).

1. Биологична същност на храносмилането

Храносмилането представлява сложен физиологичен процес, чрез който хетеротрофните организми приемат, механично и химично обработват и усвояват хранителни вещества. Чрез този процес организмът задоволява своите енергийни и пластични потребности.

Основните хранителни вещества са високомолекулни биополимери – белтъци, липидии и въглехидрати (поли- и олигозахариди). Тези макромолекули не могат да се усвояват директно от клетките. Това е така, защото в клетките могат да постъпват само „основни органични структури“, т.е. органични молекули, които вече не могат да се подлагат на хидролиза. Поради това те се подлагат на ензимна хидролиза, при която се превръщат в по-прости и водоразтворими молекули. Този процес представлява катаболитен етап на метаболизма, осъществяван чрез механично и химично разграждане на храната. Протича последователно в отделите на храносмилателната система.

Нискомолекулните хранителни вещества (вода, електролити и витамини) не се подлагат на ензимна хидролиза.

След превръщането им в усвояема форма хранителните вещества се *резорбират* през чревната стена. Повечето резорбирани вещества преминават в порталната кръв, като липидите се транспортират основно чрез лимфната система.

Несмлените и неусвоени остатъци се елиминират чрез рефлекторния процес *дефекация*.

2. Храносмилане в устната кухина

Приетата храна престоява в устната кухина сравнително кратко (около 15 – 20 секунди), но в този период започват важни храносмилателни процеси.

2.1 Механична обработка на приетата храна

Механичната обработка на храната се осъществява чрез дъвчене, раздробяване и смесване със слюнка. Раздробяването увеличава общата повърхност на хранителните частици, което улеснява действието на храносмилателните ензими. Слюнката овлажнява и омекотява храната и подпомага формирането на хапка, която може лесно да бъде преглътната.

2.2 Химична обработка

Осъществява се от действието на слюнката. Тя се изработва от три чифта големи слюнчени жлези – околоушни, долночелюстни и подезични, както и от множество малки жлези, разположени по лигавицата на езика, бузите, мекото и твърдото небце. Тя има рН около 6.8 – 7.0 и съдържа 99% вода и 1% сухо вещество, основно соли, ензими, муцин и имунологично активни вещества. За храносмилателните процеси в устната кухина най-голямо значение имат амилолитичните ензими амилаза и малтаза. Амилазата действа върху полизахаридите като ги хидролизира до малтоза. Малтазата хидролизира малтозата до глюкоза.

В слюнката се съдържа и ензимът лизозим (мурамидаза), който има ясно изразено бактериостатично и бактерицидно действие. Той е гликозидна хидролаза, която катализира хидролизата на 1-4-бета-връзките между Н-ацетилмурамовата киселина и Н-ацетил-Д-глюкозамина в бактериалната клетъчна стена.

В защитата на органите в устната кухина участват и имуноглобулини (основно IgA) и тиоцианат. IgA осигурява локалния (лигавичен) имунитет срещу бактерии и вируси. Тиоцианитните йони навлизат в бактериалната клетка през разкъсаната ѝ клетъчна стена (от действието на лизозима) и в нея проявяват бактерицидно действие.

Муцинът придава вискозитет на слюнката и улеснява преглъщането на оформена на хапка.

2.3. Нервнорефлекторно повлияване на храносмилателните процеси

Престоят на храната в устната кухина е от съществено значение за стартирането на храносмилането. В устната кухина се намират многобройни вкусови, тактилни, температурни и др. рецептори, чрез които се информират храносмилателните центрове за количеството, състава и качес-

твото на приетата храна. По рефлекторен път това води до включване на регулаторни механизми, влияещи върху слюнчената секреция, двигателната и секреторната активност на стомаха и панкреатичната секреция. Така се създават оптимални условия за протичане на храносмилането.

2.4. Резорбция

Чрез пасивна дифузия през лигавицата на устната кухина могат да се резорбират някои вещества (хормони, нитроглицерин, аналгетици и др.).

3. Храносмилателни процеси в стомаха

Стомахът представлява разширена част на храносмилателния канал, която може да побере до 2 литра храна. В него протича механична и химична обработка на храната и ограничена резорбция.

3.1 Механична обработка

Стомашната мускулатура извършва три вида движения – перисталтични, размесващи и тонични. В резултат на тях храната се смесва със стомашния сок и се придвижва към пилора. Гладкомускулните клетки на стомаха функционират като функционален синцитиум, което осигурява координирана моторна активност.

3.2 Химична обработка

Химичната обработка се извършва от действието на стомашния сок. Той съдържа основно вода (прбл. 99%) и около 1% неорганични и органични съставки – солна киселина и H^+ , ензими, муцин, вътрешен фактор на Кясъл, биологичноактивни вещества и др. Компонентите на стомашния сок се образуват в няколко вида жлезни клетки, разположени в различни участъци на стомашната лигавица.

Концентрацията на солната киселина в стомашния сок на човека е приблизително 0,1–0,5%, което съответства на около 20 – 160 mmol/L. Тя и H^+ формират общата киселинност на стомашния сок – pH – 1.5 – 2.0. Тя има разнообразно физиологично действие – частично денатурира и набъбва белтъците (така те стават по-лесни за ензимна хидролиза), осигурява оптимално pH за действието на протеолитичните ензими, оказва бактериостатично и бактерицидно действие, благодарение на което се потискат гнилостните и някои патогенни микроорганизми. Заедно с пепсина тя разрушава структурата на някои растителни храни.

Солната киселина се образува чрез механизма на протонната помпа.

Храносмилателните ензими в стомашния сок са два типа – протеолитични (протеази) и липолитични (липази). *Протеолитичните ензими* са пепсин (пепсин А), пепсин Б, гастриксин, парапепсин и катепсин. Те имат активност на ендопептидази. Те разграждат белтъците до пептиди, албумози и пептони.

Липолитичните ензими (стомашната липаза) хидролизират само емулгираните масти (предимно тези на млякото) до глицерол и висши мастни киселини. Около 25% от млечната мазнина се разгражда в стомаха на бозаещите кърмачета.

Освен храносмилателни ензими, в стомашния сок се съдържа и ензима *лизозим*, който заедно със солната киселина подтиква развитието на много микроорганизми. Стомашният лизозим е активен и при ниско pH.

Муцинът е гликопротеин със слизеста консистенция. Той се наслажда върху стомашната лигавица, като образува слизеста бариера срещу смилателното действие на солната киселина и собствените протеолитични ензими, както от термични и механични въздействия.

Вътрешният фактор на Кясъл е гликопротеин. Той благоприятства нормалната резорбция на витамин В12 (външен фактор на Кясъл). При взаимодействието на външния и вътрешния фактори се образува антианемичният фактор в черния дроб, който стимулира еритропоезата.

В регулацията на стомашната секреция се включват нервни и хуморални механизми. Тя протича в три фази: сложнорефлекторна (церебрална), стомашна и чревна. В първата фаза участват нервни механизми, а в другите две участват и хуморални.

3.3. Резорбция

В стомаха, макар и по-слабо изразени, също протичат резорбционни процеси. В него се всмукват малки количества вода, алкохол, натриеви и калциеви соли, лекарствени вещества и др., а в пилорната му част – аминокиселини, пептиди, екстрактни вещества и др.

4. Храносмилателни процеси в тънките черва

В тънките черва протичат следните храносмилателни процеси:

4.1. Механична обработка на храната.

Осъществява се от интензивните движения на тънките черва. Те имат значение за придвижването на чревното съдържимо и размесването му с чревни сокове, а също така и улесняват неговата резорбция.

Тънките черва извършват три вида движения, които се осъществяват от взаимно координираните съкращения и разпускания на надлъжната и напречната (пръстеновидна) чревна мускулатура. Тези движения биват *махаловидни*, *сегментирации* и *перисталтични*.

Гладкомускулните клетки на тънките черва (подобно на тези в стомаха) притежават изразен тонус. Той зависи от функционалното състояние на стомашно-чревния тракт, но и на организма въобще. Съкращенията на гладкомускулните клетки се осъществяват на фона на техния тонус.

Подобно на миокарда, в чревните гладкомускулни клетки съществуват участъци с ритмогенна активност (т. нар. пейсмейкъри). Двигателната активност на тънките черва е се повлиява от рефлексни и хуморални фактори.

4.2. Химична обработка на храната

В тънките черва се завършва хидролизата на белтъци, мазнини и въглехидрати. При това получените хидролизати са в удобна форма за резорбиране. Химичната обработка на храната се извършва от действието на 3 вида храносмилателни сокове – *панкреатичен*, *чревен* и *жлъчка*.

Панкреатичният сок е почти безцветна течност с алкална реакция (рН 7.6 – 8.4). Съдържа 98 – 99% вода и 1 – 2% органични и неорганични вещества (основно карбонати, осигуряващи неговата алкална реакция). Основна част от органичните вещества в него са храносмилателните ензими (около 20) – протеолитични, амилазитични и липолитични. Те се секретират от ацинозните клетки на екзогенната маст на жлезата. Вътрешносекреторната функция на панкреаса се регулира от нервни и хуморални механизми. Важен безусловен дразнител за стартиране на панкреатичната секреция е попадане на храна в устната кухина (1 – 2 min след поемането на храната започва отделяне на панкреатичен сок). Панкреатичната секреция се повлиява и условнорефлекторно от вида и аромата на храната. Центровете, отговорни за тези рефлексии са разположени в продълговатия мозък и оказват своето влияние върху панкреаса чрез блуждаещия нерв (n.vagus).

Основната функция на *жлъчката* е подпомагане на процеса на разграждане и усвояване на мазнините от храната. Това се постига чрез емулгирането и осапунването на мазнините, активиране на панкреатичната липаза, стимулиране на чревната перисталтика и забавяне на гниенето (притежавайки бактерицидно действие спрямо гнилостните микроорганизми).

Чрез емулгацията и осапунването на мазнините от храната, те се превръщат в усвояема форма (емулсия) при което се преодолява тяхната водонеразтворимост.

Жлъчката освен секрет е и *екскрет*. В състава си тя съдържа жлъчни пигменти – билирубин и биливердин. Билирубинът е междинен метаболит на хемоглобина.

Образуването на жлъчка е активен процес, а не филтрационен. Важен фактор за жлъчкообразуването е притока на кръв в черния дроб и насищането на чернодробния паренхим с кислород.

Чревният сок се образува от жлезни клетки, разположени и в трите отдела на тънките черва. Той е богат на бикарбонати, поради което реакцията му е алкална (рН 7.0 – 8.5). Представлява светложълт воднист секрет, който освен вода съдържа органични и неорганични вещества. От органичните с най-голямо значение са ензимите, които осъществяват цялостната хидролиза на белтъци, мазнини и въглехидрати до нискомолекулни вещества, годни за резорбция. Ензимите на чревния сок са протеолитични, амилазитични, чревна липаза и ентерокиназа. По-голямата част от тях са вътреклетъчни, като попадат в кухината на тънките черва от разрушаващите се клетки, които ги синтезират.

Регулацията на чревната секреция се осъществява по нервни и хуморални пътища. Чрез нея количеството и състава на чревния сок е адекватен на характера на приетата храна.

4.3. Резорбция

Тънките черва са основния дял от храносмилателната система, в който протичат най-активни резорбтивни процеси. Функционалното устройство на тънките черва способства проти-

чането на резорбционните процеси. Вътрешната повърхност на тънките черва е огромна, което е обусловено от голямото количество власинки и микровласинки. Освен това, власинките и микровласинките имат способността да се съкращават и разпускат, което допълнително улеснява резорбцията. Тънките черва са много силно кръвоснабдени. Освен нискомолекулни вещества, през лигавицата на тънките черва могат да се резорбират и някои високомолекулни.

Така се осигурява проникването в кръвта на малки количества, но с висока биологична активност вещества, като антитела и антигени. Макромолекулната резорбция е решаващ през първите дни от живота на новороденото, защото чрез него в организма му попадат антитела от майчиното мляко, които имат важно протективно действие в условията на непълно развита имунна система на бебетата.

5. Храносмилателни процеси в дебелите черва

В дебелите черва протичат основно *микробиологични процеси и резорбция на вода*. В тях се отделя малко количество алкален секрет (pH 8.4), богат на муцин и беден на ензими. През лигавицата на дебелите черва от организма се екскретират някои ендogenous метаболити, както и соли на тежките метали.

В резултат на резорбтивните процеси, хранителните маси постепенно губят водното си съдържание и се превръщат във фекални. Фекалиите се отстраняват от организма чрез рефлекторния акт дефекация. Ръководи си от т.нар. дефекационен център, локализиран в кръстцовата област на гръбначния мозък в S2 – S4. При човека този рефлекс е под корови контрол, затова той може да се подтиска волево и да се контролира.

6. Роля на нормалната чревна микрофлора и пробиотиците при поддържането на хомеостазата

Нормалната чревна микрофлора (т.нар. чревен микробиом) представлява съвкупност от микроорганизми, които обитават храносмилателния тракт на човека. Тя включва предимно бактерии, но също така гъби, археи и вируси. Най-голямо е разнообразието на микроорганизми в дебелото черво, където концентрацията им може да достигне до 10^{11} – 10^{12} клетки в 1 грам чревно съдържимо. Сред основните бактериални групи в микробиома са представители на родовете *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Escherichia* и др. Съставът на микробиома се формира още в ранния следродилен период и се влияе от начина на раждане, храненето, възрастта, околната среда и приема на медикаменти, особено антибиотици. Чревната микрофлора се разглежда като своеобразна функционална система, участваща активно в поддържането на хомеостазата. Тя изпълнява метаболитни, защитни, имунорегулаторни функции, както и оказва влияние върху структурата и функциите на чревния епител.

Чревните бактерии разграждат хранителни компоненти, които не могат да бъдат смлени от човешките храносмилателни ензими, например някои растителни полизахариди. При този процес се образуват късоверижни мастни киселини (ацетат, пропионат и бутират), които служат като енергиен източник за клетките на чревния епител и участват в регулирането на метаболизма. Освен това микрофлората участва в синтеза на редица биологично активни вещества, като витамини от група В и витамин К, някои аминокиселини и биогенни амини.

Нормалната чревна микрофлора има важна защитна роля срещу патогенни микроорганизми. Този механизъм е известен като *колонизационна резистентност*. Чрез нея се предотвратява колонизацията на червата от патогенни бактерии и като по този начин се намалява риска от инфекции.

Чревният микробиом има съществено значение за развитието и функционирането на имунната система чрез стимулиране на съзряването на имунокомпетентните клетки в чревната лимфоидна тъкан, участие в образуването на секреторни антитела, подпомагане на поддържането на баланса между про- и противовъзпалителни имунни реакции. Чрез тези механизми микрофлората участва в поддържането на имунната хомеостаза и намалява риска от прекомерни възпалителни и автоимунни реакции.

Чревните бактерии оказват влияние и върху морфогенезата и регенерацията на клетките на чревния епител. Те стимулират синтеза на муцин и подпомагат поддържането на интегритета на чревната бариера. Късоверижните мастни киселини, особено бутиратът, служат като основен енергиен източник за епителните клетки на дебелото черво и подпомагат тяхната нормална фун-

кция. По този начин се допринася за поддържането на целостта на чревната лигавица и за предотвратяване на повишена чревна пропускливост.

Пробиотиците представляват живи микроорганизми, които при прием в достатъчни количества оказват благоприятен ефект върху протичането на физиологичните процеси. Най-често използваните пробиотични микроорганизми принадлежат към родовете *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces* и някои непатогенни щамове на *Escherichia coli*. Пробиотиците подпомагат поддържането на хомеостазата чрез възстановяване и поддържане на микробния баланс, подтискане на патогенните и гнилостните микроорганизми, подобряване на бариерната функция на червата и имуномодулация.

I. Структура на антителата (имуноглобулини)

Антителата (имуноглобулини, **Ig**) са глобуларни гликопротеини, съставени от четири ковалентно свързани полипептидни вериги – две тежки (**H**) и две леки (**L**). Молекулата има ос на симетрия в резултат на еднаквата последователност и пространствена организация на двете двойки вериги. Молекулната маса е приблизително 150 kDa: H вериги – ~50 kDa; L вериги – ~25 kDa. Участващи от приблизително 100 – 110 аминокиселини по протежение на L- и H-веригите формират компактни и изключително стабилни структурни единици, стабилизиращи от вътреверижни дисулфидни връзки и характерно подреждане на β -нагънати листови (β -sheets). Тези структурни единици се означават като имуноглобулинови **домени**. Четирите вериги заедно образуват характерната Y-образна структура, стабилизирана чрез дисулфидни връзки и нековалентни взаимодействия между Ig-домените.

Сходна Ig-подобна доменна организация откриват и при други рецепторни молекули като T – клетъчен рецептор (TCR), CD4, CD8, молекулите на главния комплекс за тъканна съвместимост MHC I и MHC II, както и адхезионни и костимулаторни молекули като ICAM-1, ICAM-2, CD28, B7 и др. Всички белтъци, съдържащи един или повече имуноглобулинови или имуноглобулин-подобни домени, се обединяват в т.нар. имуноглобулиново суперсемейство.

Класове (изотипове) имуноглобулини. При човека имуноглобулините се разделят на пет основни изотипа (класа): IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Класът IgG включва четири подкласа (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4), номерирани според относителното им разпространение в плазмата, като IgG1 е най-изобилен. Изотипът IgA има два подкласа (IgA1 и IgA2).

Тежките вериги се различават между отделните класове имуноглобулини, докато леките вериги могат да бъдат от тип κ или λ , като при човека съотношението им е приблизително 2/3 κ :1/3 λ . Тежките вериги на подкласовете на IgG се обозначават като $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ и $\gamma 4$, а на подкласовете на IgA – като $\alpha 1$ и $\alpha 2$. Класовете IgM, IgE и IgD съдържат съответно μ , ϵ и δ тежки вериги.

Вариабилни и константни домени. Сравнителният анализ на аминокиселинните последователности на тежките и леките вериги показва обща доменна организация. Тежките вериги на различни антитела от един и същи изотип се различават значително по последователност в аминокрайния домен, който се означава като вариабилен домен на тежката верига (**V_H**). Аналогично, при леките вериги вариабилността е концентрирана в първия аминокраен домен – вариабилен домен на леката верига (**V_L**). В рамките на всеки вариабилен домен вариабилността е концентрирана в три хипервариабилни области, наречени райони, определящи комплементарността (complementarity-determining regions CDR1, CDR2 и CDR3). Тези участващи съответстват на бримкови структури, разположени в единия край на домена. В молекулата на антитялото CDR-ите на V_H и V_L заедно формират **антиген-свързващото място**, разположено в областта между двата вариабилни домена.

Вариацията в аминокиселинната последователност на двоевите V_H и V_L домени е в основата на огромното разнообразие от антиген-свързващи специфичности. Y-образната молекула на IgG притежава два идентични антиген-свързващи участъка, разположени по един в края на всяко рамо. Видът на антигена, който се свързва, зависи от пространствената организация на CDR-ите: малки молекули (хаптени) се свързват в дълбоки джобове; линейни епитопи на белтъци или въглехидрати – в цепнатини или жлебове; конформационни епитопи на нагънати протеини – чрез взаимодействие с обширна контактна повърхност.

Останалата част от тежките и леките вериги съдържа сравнително консервативни аминокиселинни последователности в рамките на един изотип и формира константните домени – C_H домени на тежката и C_L домени на леката верига. Тежките вериги γ , α и δ съдържат по три C_H домена, докато тежките вериги μ и ϵ съдържат по четири C_H домена.

Fab, Fc и шарнирна област. При използването като модел антитяло IgG, относително несструктуриран сегмент в средата на тежката верига може да бъде разцепен *in vitro* с протеазата

папаин, което води до образуването на два типа функционално допълващи се фрагменти. Двата идентични фрагмента, съответстващи на рамената на Y-образната молекула, се означават като **Fab** (fragment antigen binding) и съдържат **антиген-свързващите участъци**. Фрагментът, съответстващ на стъблото, се означава като **Fc** (fragment crystallizable) и осигурява ефекторните функции на антитялото чрез взаимодействие със серумни протеини и Fc-рецептори на клетъчната повърхност. Неструктурираните участъци на тежките вериги, които свързват Fab с Fc, образуват **шарнирната област** на молекулата IgG. Тя придава гъвкавост на молекулата и позволява на двата Fab фрагмента да заемат различни пространствени ориентации, което улеснява едновременно свързване на антигенни детерминанти, разположени на различно разстояние по повърхността на патогените.

Различия в константните (C) региони на тежката верига определят петте основни изотипа (класове) имуноглобулини, които изпълняват различни функции в имунния отговор. Това са имуноглобулин G (**IgG**), имуноглобулин M (**IgM**), имуноглобулин A (**IgA**), имуноглобулин E (**IgE**) и имуноглобулин D (**IgD**). Тежката верига на всеки изотип се обозначава със съответна малка гръцка буква: γ (гама), μ (мю), δ (делта), α (алфа) и ϵ (епсилон). Леките вериги имат само два изотипа – κ (капа) и λ (ламбда). Не е установена функционална разлика между антителата, съдържащи κ или λ леки вериги. Леките вериги от двата изотипа могат да се удвояват с всички изотипове на тежките вериги. Всяка молекула антитяло съдържа или κ , или λ леки вериги, но никога и двата типа едновременно.

Имуноглобулин G (IgG). IgG е главният серумен имуноглобулин (70–75%) и най-разпространеният имуноглобулинов изотип, като съставлява до 20% от всички плазмени белтъци при здрави индивиди. Той е основният имуноглобулин и в екстраваскуларното пространство. Отличителна характеристика на IgG е способността му да преминава през плацентата – свойство, изразено при подкласовете IgG1, IgG3 и IgG4, но IgG2 преминава значително по-слабо. Плацентарният транспорт IgG не изисква предварително свързване на антиген.

Четири подкласа – IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 – притежават над 90% идентичност в аминокиселинните си последователности, но се различават по биологични свойства, включително ефективност на антигенното свързване, активиране на комплемента, взаимодействие с Fc-рецептори, плацентарен транспорт и време на полуразпад. Тези различия се дължат основно на вариации в константните региони, особено в шарнирната област и C_H2 домена, който участва във взаимодействието с Fc γ рецепторите и с първия компонент на комплемента – C1q.

IgG3 се характеризира с удължена шарнирна област (62 аминокиселини), докато IgG2 има скъсена шарнирна област. Иmunният отговор към разтворими белтъчни антигени обикновено води до продукция на IgG1 – най-изобилния подклас. Отговорите към бактериални капсулни полизахариди често са ограничени до IgG2. Антителата IgG3 са силно провъзпалителни и най-ефективни в активирането на комплемента по класическия път, следвани от IgG1; IgG2 активира комплемента слабо, а IgG4 практически не проявява такава активност.

IgG участва в неутрализацията на микроорганизми и токсини, в опсонизацията при фагоцитоза и в антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност (ADCC), осъществявана главно от NK-клетки чрез Fc γ RIIIa (CD16) рецептор.

Имуноглобулин M (IgM). IgM са пентамерни имуноглобулини с молекулна маса около 900 kDa, изградени от пет мономерни субединици, свързани чрез допълнителна J-верига – ($\mu_2\kappa_2$)₅J или ($\mu_2\lambda_2$)₅J. Тежката μ -верига съдържа допълнителен константен домен (C_H4). J-веригата е малък полипептид (~15 kDa), който свързва C-края на μ -тежките вериги чрез дисулфидни връзки, за да формира стабилен пентамер. В серума IgM се откриват предимно като пентамери, докато върху повърхността на B-лимфоцитите се експресират като мономерни – $\mu_2\kappa_2$ или $\mu_2\lambda_2$, където участват в структурата на B-клетъчния рецептор (BCR) заедно със сигналните молекули Ig α и Ig β (CD79a/CD79b).

IgM е третият по количество имуноглобулинов изотип в серума (5–10%; **0,2–2,8 mg/ml**). Това е първият клас антитела, който се синтезира по време на ембрионалното развитие, както и първият, който се продуцира от наивните B-клетки при имунен отговор. IgM са първите антитела, образувани в **първичния имунен отговор**, особено срещу **T-зависими антигени**, преди да настъпи изотипното превключване. Те играят ключова роля и в отговора към **T-независими антигени**, особено бактериални полизахариди.

Значителна част от серумните IgM функционират като естествени изохемаглутиници, насочени срещу въглехидратните антигени на системата ABO, и се образуват без предходна иму-

низация. Поради пентамерната си структура IgM проявяват силно изразени аглутиниращи свойства. Те са най-ефективните активатори на комплемента по класическия път, като една единствена пентамерна молекула е достатъчна за свързване на C1q, участват в неутрализацията на патогени и в опсонизацията чрез комплемент-медирирани механизми. IgM могат да се свързват с Fcμ рецептори (FcμR), експресирани върху различни имунни клетки, и играят важна роля в ранните фази на хуморалния имунен отговор.

Имуноглобулин А (IgA). IgA се представя в серума предимно като мономер ($\alpha_2\kappa_2$ или $\alpha_2\lambda_2$), рядко като димер. В секретите (секреторен IgA, **sIgA**) той е основно в димерна форма – $[(\alpha_2\kappa_2)_2J+SC]$ или $[(\alpha_2\lambda_2)_2J+SC]$, като съдържа допълнителна J-верига и полипептид с пет Ig-подобни домена, наречен **секреторен компонент (SC)**. J – веригата на sIgA стабилизира димера и участва в секреторния транспорт чрез SC. SC представлява част от поли Ig рецептора, който медира транспорта на IgA през епителните клетки към луминалната повърхност и предпазва антитялото от протеазно разграждане, особено в гастроинтестиналния тракт. IgA е вторият по количество серумен имуноглобулин и основният секреторен Ig в слъзи, слюнка, гастроинтестинални, назални и белодробни секрети, коластра, кърма, пот, както и в секретите на уринарния и гениталния тракт. В майчината кърма секреторният IgA осигурява пасивна защита на новороденото, като предпазва лигавиците от инфекции в ранния постнатален период, без да предизвиква възпаление или увреждане на незрелия епител.

Хората, шимпанзетата, горилите и гибоните притежават два гена за константните домени на тежката α -верига, което позволява синтеза на два подкласа IgA – IgA1 и IgA2. IgA1 съставлява около 80% от общия серумен IgA. Той има удължена шарнирна област, резултат от вмъкване на дублирана пептидна последователност, която съдържа множество O-свързани гликани и две основни N-свързани места за гликозилиране. IgA1 съдържа значително повече сialова киселина в сравнение с IgA2. Поради удължената си шарнирна област, IgA1 е по-податлив на протеолитично разграждане от ензими, продуцирани от *Streptococcus*, *Neisseria* и *Haemophilus*. Този подклас е насочен предимно срещу белтъчни антигени, като повечето лимфоидни тъкани съдържат преобладаващо плазмени клетки, секретиращи IgA1.

В IgA2 липсва класическата дисулфидна връзка в C_H1 домена, който обикновено свързва тежката и леката верига, но асоциацията остава стабилна. Този подклас има скъсена шарнирна област и повече N-свързани места за гликозилиране от IgA1, като леките вериги са нековалентно асоциирани с тежките вериги. IgA2 представлява около 20% от серумния IgA и значителен дял от секреторния IgA, особено в дисталните чревни отдели. IgA2 може да индуцира активиране на миелоидни клетки чрез FcαRI (CD89). Полизахаридните антигени индуцират по-силен синтез на IgA2 в сравнение с белтъчните антигени. IgA2 по-често индуцира проинфламаторна активация на неутрофили и макрофаги, докато тази активност е по-слабо изявена при IgA1. Подобни функционални различия вероятно се дължат на различия в гликозилирането на двата подкласа.

IgA-секретиращите плазматични клетки са концентрирани по лигавичните повърхности. В тънките черва (в началните две пети) се намират над $2,5 \times 10^{10}$ плазматични клетки, секретиращи IgA, което надвишава общия брой плазматични клетки в костния мозък, лимфните възли и далака. Здрав човек отделя ежедневно **5–15 g** секреторен IgA в лигавичните секрети.

Имуноглобулин Е (IgE). IgE е мономерен имуноглобулин, съставен от две ϵ -тежки вериги и две κ или λ леки вериги. В серума е представен с най-ниска концентрация сред имуноглобулините – около 0,3 μg/ml при здрави индивиди. IgE има много кратък полуживот в серума (~2 дни), но прикрепен към FcεRI остава стабилен седмици. Открива се предимно свързан с високоафинитетния FcεRI рецептор на мастоцити и базофили; активираните еозинофили също експресират FcεRI, но в по-малка степен. Кръстосаното свързване на клетъчно фиксиран IgE от мултивалентен антиген индуцира бърза дегранулация на мастоцити и базофили и освобождаване на медиатори (хистамин, протеази, левкотриени, простагландини), които предизвикват реакции на свръхчувствителност тип I. Афинитетът на FcεRI към Fc-фрагмента на IgE е изключително висок, поради което при липса на специфичен антиген IgE не дисоциира след свързването си с рецептора. Ниските серумни концентрации на IgE са достатъчни да поддържат FcεRI рецепторите на клетъчната повърхност напълно заети. Така мастоцитите в съединителната тъкан, активираните еозинофили по лигавичните повърхности и циркулиращите базофили се поддържат в състояние на готовност за бърза реакция към патогени и техни антигени.

IgE играе ключова роля в алергичните реакции и участва в защитата срещу големи паразити, особено хелминти, чрез активиране на еозинофили и мастоцити. IgE не активира комплемента.

Имуноглобулин D (IgD). IgD представлява малка част от серумните имуноглобулини (~0,2%; ~30 µg/ml) и се среща предимно като мономер – $\delta_2\lambda_2$ или $\delta_2\kappa_2$. Той се експресира главно върху повърхността на „наивни“ В-клетки като мембранен рецептор, където участва заедно с сигналните молекули Igα и Igβ (CD79a/CD79b) в структурата на В-клетъчния рецептор (BCR).

В серума IgD присъства в ниски концентрации, а точните му функционални роли все още не са напълно изяснени. Съществуват данни, че IgD може да участва в активиране на базофили и мастоцити и да модулира ранните фази на В-клетъчната активация, както и да играе роля в имунната хомеостаза на дихателните пътища.

II. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие. Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими.

Имунната система на човека притежава способността да разпознава практически неограничен брой антигени. Това изключително разнообразие на антигенната специфичност се постига чрез прецизно координирани генетични механизми, които протичат по време на развитието и последващата активация на В-лимфоцитите. В основата на този процес стои генерирането на имуноглобулиново разнообразие чрез **V(D)J** пренареждане, допълнено от допълнителни механизми на генетична модификация, контролирани от специфични сигнални последователности и специализиран ензимен апарат.

Имуноглобулинови генни локуси. В човешкия геном гените за имуноглобулиновите вериги са организирани в три основни локуса:

IGH (immunoglobulin heavy chain) – локус за тежките вериги, разположен в хромозома 14;

IGK (κ light chain) – локус за κ-леките вериги, разположен в хромозома 2;

IGL (λ light chain) – локус за λ-леките вериги, разположен в хромозома 22.

Всеки от тези локуси съдържа множество вариабилни (**V** – variable), диверсификационни (**D** – diversity; само за тежките вериги) и съединителни (**J** – joining) генни сегменти, всеки със собствена уникална нуклеотидна последователност. В ранните етапи на В-клетъчното развитие сегментите са потенциално достъпни за рекомбинация от двата алела, докато не се установи алелно изключване.

Организация на имуноглобулиновите локуси. Гените, кодиращи вариабилните региони на имуноглобулиновите вериги, са организирани в дискретни модулни сегменти: **V** (variable) – включва множество генни касети, съдържащи лидерна (**L**) последователност и **V** сегмент; **D** (diversity) – диверсификационни сегменти (само при тежките вериги); **J** (joining) – съединителни сегменти.

При формирането на гени за тежките вериги на имуноглобулините се комбинират един **V**, един **D** и един **J** сегмент, докато при леките вериги (κ и λ) участват само **V** и **J** сегменти. Тази модулна организация позволява генерирането на огромно структурно и функционално разнообразие на вариабилните региони чрез комбиниране на ограничен набор налични генни сегменти във функционални гени.

Надолу по веригата от **JH** сегментите в локуса за тежката имуноглобулинова верига са разположени гените за константните региони (**Cμ**, **Cδ**, **Cγ**, **Cε**, **Cα**), като пред всеки от тях (с изключение на **Cδ**) се намира специфичен **S** (switch) регион. **Sμ** регионът, локализиран между **JH** сегментите и **Cμ**, служи като изходна точка за класовото превключване, което се осъществява чрез рекомбинация между **Sμ** и друг разположен downstream **S** регион.

V(D)J пренареждане. V(D)J пренареждането представлява специализиран тип соматична генетична рекомбинация, протичаща на ниво ДНК в развиващите се В-лимфоцити в костния мозък. Процесът включва случайно и необратимо комбиниране, в строго определена последователност, на един **V**, един **D** и един **J** сегмент за тежките вериги и на един **V** и един **J** сегмент за леките вериги. В резултат на тези рекомбинации за всяка имуноглобулинова верига се формира уникален функционален ген, което води до клонална експресия – всеки В-лимфоцит експресира един-единствен тип В-клетъчен рецептор (BCR), идентичен по антигенна специфичност с бъдещото секретирано анти тяло.

Наивните зрели В-лимфоцити едновременно експресират имуноглобулини от клас IgM и IgD с идентична антигенна специфичност. Това се дължи на факта, че и двата изотипа използват един и същ пренареден V(D)J регион, който определя антиген-свързващата специфичност на В-клетъчния рецептор (BCR). Разликата между IgM и IgD се отнася единствено до константната област на тежката верига (**Cμ** или **Cδ**).

След успешно V(D)J пренареждане и транскрипция на тежковерижния локус се образува първичен транскрипт, съдържащ екзоните за C μ и C δ . Чрез алтернативен сплайсинг на иРНК В-клетката може да включи екзоните за C μ или C δ , без да променя вариабилния регион. По този начин се синтезират IgM и IgD с еднаква антигенна специфичност (идентични вариабилни домени), но с различни ефекторни константни домени. Имуноглобулините IgM и IgD се експресират като мембранно-свързани форми и функционират като В-клетъчни рецептори, участващи в разпознаването на антигена и в регулацията на В-клетъчната активация. Този механизъм позволява функционално разнообразие на BCR без необходимост от допълнителна ДНК рекомбинация.

Алелно изключване и клонална идентичност. След като дадена В-клетка успешно генерира функционален имуноглобулинов ген чрез V(D)J пренареждане, рекомбинацията на останалите алели на съответния локус се потиска – процес, известен като **алелно изключване**. Това гарантира, че всяка В-клетка експресира един-единствен функционален имуноглобулинов рецептор с уникална антигенна специфичност. Така строго регулираният процес на V(D)J пренареждане представлява молекулната основа на клоналната селекция и предотвратява едновременната експресия на рецептори с различна антигенна специфичност в една и съща В-клетка.

Рекомбинационни сигнални последователности и правило 12/23. Всеки V, D и J генен сегмент е фланкиран (ограден) от рекомбинационни сигнални последователности (RSS, recombination signal sequences), които насочват рекомбинационния апарат и определят допустимите рекомбинационни събития. RSS се състоят от три основни елемента: консервативен хептамер (7 нуклеотида), спейсър с дължина 12 или 23 нуклеотида и консервативен нонамер (9 нуклеотида).

Рекомбинацията протича съгласно правилото **12/23**, което изисква рекомбинация само между два сегмента, фланкирани от RSS със спейсъри с различна дължина (12 и 23 нуклеотида). Така се осигурява правилната последователност на V(D)J пренареждането и се предотвратяват некоректни рекомбинации, като например директно V–J свързване при тежковерижните гени, което би заобиколило задължителното включване на D сегмент.

Ензими, участващи във V(D)J пренареждането. V(D)J пренареждането се осъществява от строго регулиран молекулен апарат, който включва както лимфоидно-специфични ензими, определящи уникалността на процеса в развиващите се лимфоцити, така и универсални механизми за репарация на ДНК, функционално използвани за завършване на рекомбинацията (таблица 1).

Лимфоидно-специфичните компоненти инициират и модулират рекомбинационния процес. **RAG1** и **RAG2** образуват активен рекомбиназен комплекс, който разпознава рекомбинационните сигнални последователности (RSS) и индуцира сайт-специфични двойно-верижни разкъсвания на ДНК. **TdT** (терминална дезоксиинуклеотидил трансфераза) допринася за съединителното разнообразие чрез добавяне на несъответстващи (N) нуклеотиди в зоните на свързване на V, D и J сегментите. Активността ѝ е най-силно изразена при пренареждането на гените за тежките вериги и е минимална или липсва при леките вериги. **AID** (activation-induced cytidine deaminase) се експресира след антигенна стимулация в герминативните центрове и не участва във V(D)J пренареждането, а в по-късните процеси на антигенова диверсификация.

Завършването на рекомбинацията изисква ангажирането на компоненти на нехомоложното свързване на ДНК краищата (non-homologous end joining, **NHEJ**). Тези универсални репарационни фактори осигуряват разпознаването, стабилизацията, обработката и окончателното лигиране на разкъсаните ДНК краища. Нарушения в който и да е от ключовите елементи на NHEJ водят до дефектно V(D)J пренареждане и клинично се асоциират с тежък комбиниран имунодефицит (SCID).

Лимфоидната специфичност на процесите се определя от **RAG1/2** и **TdT**, докато **NHEJ** апаратът представлява универсален репарационен механизъм, използван контекстуално от лимфоцитите. V(D)J рекомбинацията протича в незрели лимфоцити, докато соматичните хипермутации (**SHM**) и изотипното превключване (**CSR**) са ограничени до активирани В-клетки в периферните лимфоидни органи.

Допълнителни механизми за генериране на разнообразие.

- Комбинаторно разнообразие – резултат от различните комбинации на V, D и J генни сегменти и от случайното сдвояване на тежки и леки имуноглобулинови вериги;
- Съединително (junctional) разнообразие – възниква вследствие на изрязване или добавяне на нуклеотиди в зоните на съединяване на V(D)J сегментите, особено в областта на CDR3;

- Соматични хипермутации (**SHM**) – AID-медирани точкови мутации във V-регионите на имуноглобулиновите гени след антигенна стимулация, водещи до афинитетно узряване на антителата;
- Изотипно превключване (class switch recombination, **CSR**) – AID-зависим процес, при който се променя константният регион на тежката верига (IgM → IgG, IgA или IgE) без промяна в антигенната специфичност.

Комбинацията от всички тези механизми позволява на адаптивната имунна система да генерира приблизително 10^{11} различни антителни специфичности, осигурявайки ефективно разпознаване и неутрализиране на изключително широк спектър от патогени.

Таблица 1. Ензими и молекулярни компоненти, участващи в V(D)J рекомбинацията, съединителното разнообразие и изотипното превключване

ензим / компонент		функция	молекулен механизъм	етап / клетъчен контекст
лимфоидни	RAG1 (Recombination Activating Gene 1)	Инициира V(D)J рекомбинацията	Каталитична субединица на RAG комплекса; разпознава RSS и осъществява сайт-специфично двойно-верижно разкъсване на ДНК между кодиращия сегмент и RSS	Незрели В- и Т-лимфоцити (про- и пре-В; CD4 ⁺ CD8 ⁺ Т-кл.), G1 фаза
	RAG2 (Recombination Activating Gene 2)	Регулира и стабилизира RAG1	Некаталитичен кофактор; формира активен RAG1/2 комплекс и ограничава рекомбинацията до подходящия етап от клетъчния цикъл	Незрели В- и Т-лимфоцити, G1 фаза
	TdT (терминална дезоксинуклеотидилтрансфераза)	Генерира съединително (junctional) разнообразие	ДНК-полимераза без матрица; добавя N-нуклеотиди към кодиращите краища, увеличавайки вариабилността, особено в CDR3	Про-В и пре-В клетки; ранни Т-клетъчни прекурсори
	AID (activation-induced cytidine deaminase)	Индуктира соматична хипермутация и изотипно превключване	Дезаминира цитозин до урацил в транскрибирани Ig региони; репарацията води до SHM или двойно-верижни разкъсвания в S(switch) регионите (CSR*)	Активирани периферни В-клетки (герминативни центрове)
универсални репаративни	Ku70 / Ku80	Разпознава и свързва свободните ДНК краища	Хетеродимер, който първи се асоциира с двойно-верижните разкъсвания; защитава краищата и рекрутира DNA-PKcs	V(D)J рекомбинация и CSR
	DNA-PKcs	Координира обработката на ДНК краищата	С Ku70/Ku80 формира DNA-PK; фосфорилира Artemis и други фактори, контролирайки ендонуклеазната обработка	V(D)J рекомбинация и CSR
	Artemis	Обработва кодиращите ДНК краища	Ендонуклеаза, активирана от DNA-PKcs; отваря hairpin-структурите и допринася за формиране на P-нуклеотиди	особено важна при V(D)J рекомбинация
	XRCC4	Организира лигирането на ДНК краищата	Структурен адаптер; стабилизира ДНК лигаза IV и участва в подравняването на краищата	V(D)J рекомбинация и CSR
	XLF (Cernunnos)	Стабилизира синхронизацията на ДНК краищата	Образува филаментни структури с XRCC4; усилва ефективността на лигирането, особено при нестабилни краища	V(D)J рекомбинация и CSR
	ДНК лигаза IV	Завършва рекомбинацията	Катализира образуването на фосфодиестерни връзки между обработените ДНК краища; функционира в комплекс с XRCC4 и XLF	V(D)J рекомбинация и CSR

* CSR – class switch recombination, изотипно превключване

Всяко съобщество от организми се намира в диалектическо единство и връзка с неорганичната среда – биотопа. Връзката на биоценозата с биотопа има материално-енергетичен характер. Всяка съвкупност от биоценоза и биотоп, в която може да се осъществява кръговрат на веществата и енергията, се нарича екосистема. Одум (1971) дефинира екосистемата като: „всяко единство между живите организми от определен участък и техните взаимодействия с физичната среда, което е организирано така, че потокът на енергията да създава точно определена трофична структура, видово разнообразие и кръговрат на веществата в тази система, се нарича екосистема“.

Екосистемата е основната функционална единица в екологията, доколкото в нея влизат организми и нежива среда, компоненти, взаимно влияещи един на друг и необходими за поддържане на живота в тази форма, в която съществува на Земята. Тя фактически представлява относително самостоятелна структурна единица, в която съобществото на организмите е енергетично свързано с неорганичната среда чрез биогенния кръговрат, който е цялостен и метаболитно затворен. Този процес на трансформация и пренос на материя се осъществява от взаимодействащите си екологични групи на биопроизводителите (продуценти), биопотребителите (консументи) и биоразградителите (редуценти). Продуцентите са автотрофни организми, които съществуват за сметка на неорганичните елементи на средата и произвеждат органична материя. Консументите са хетеротрофни организми, използващи готово органично вещество като източник на енергия. Редуцентите живеят за сметка на мъртвото органично вещество, което разлагат и минерализират. Най-голямо разнообразие в кръговрата на неорганичните елементи внасят консументите, които са представени изключително от животни. Благодарение на тях се ускорява кръговратът на неорганичните елементи в екосистемата и придвижването на веществата в други екосистеми. Това дава основание да се твърди, че и най-голямата екосистема на Земята няма напълно затворен кръговрат на веществата.

Границите на екосистемите трудно могат да бъдат определени, тъй като голяма част от подвижните видове влизат едновременно в състава на няколко биоценози. Сложните междувидови взаимоотношения, определящи функционалната цялост на екосистемите, се отличават с относителна свобода на структурните зависимости между отделните компоненти. В зависимост от динамиката на числеността и биологичната активност на отделните популации, се изменя както посоката, така и интензивността на потока на веществата и енергията.

Организацията на живата материя под формата на екосистеми е едно от необходимите условия за съществуване на живота. Разнообразието на живите организми осигурява тази степен на интензификация на кръговрата, която е необходима за равновесието и неограниченото съществуване на биогенните елементи на Земята.

Трофична структура на екосистемите

Функционалната структура на екосистемата представлява преди всичко хранителни взаимоотношения между организмите и средата. Всяко съобщество може да се представи като хранителна мрежа, която представлява схемата на трофичните връзки между видовете, влизащи в състава му. Хранителната мрежа се състои от няколко хранителни вериги, всяка от които се явява отделен неин канал. Хранителните вериги отразяват пътя на преминаване на хранителните вещества и енергията през различните трофични нива. Всички звена във веригата са взаимно свързани. Опростената схема на една хранителна верига включва трите основни групи организми: продуценти, консументи от различен порядък и редуценти. Те образуват трофичните звена на хранителната верига, през които се извършва предаването на хранителните вещества. Успоредно с предаването на храната се извършва и предаване на енергията, която преминава през различни енергетични нива.

Първото трофично ниво се заема от автотрофните организми – продуценти (П). Това са фотосинтезиращи растения, способни да образуват органични вещества, богати на енергия. Първичните продуценти са важни за всички екосистеми, защото всички останали компоненти на екосистемата зависят пряко или косвено от запаса на енергия, натрупан в тях. Второто трофично ниво е представено от хетеротрофни организми – консументи. Тревопасните животни се означа-

ват като първични консументи (K1), а хранещите се с тях животни образуват третото ниво и се означават като вторични консументи (K2) или първични хищници. Четвъртото ниво се образува от третичните консументи (K3) или вторични хищници – хищни животни, хранещи се с първичните хищници. След отмиране на индивидите мъртвата материя се разгражда от редуцентите (P).

Съществуват различни типове хранителни вериги. Първият вид е хранителната верига на хищниците, която започва от автотрофните растения, след което енергията и веществата преминават към консументите от различен порядък – фитофаги (например насекоми), зоофаги (например пойни птици), които служат за храна на по-едри от тях грабливи птици (консументи от трети порядък). Тази хранителна верига се характеризира с това, че хранителните вещества и енергията се предават последователно през все по-нарастващи по големина консументи.

Хранителната верига на паразитите започва с растителен или животински организъм (гостоприемник), след което хранителните вещества и енергията направо преминават в паразитите, които също могат да бъдат от няколко порядъка.

При хранителната верига на сапрофагите растителните и животински органични отпадъци направо се използват като източник на вещества и енергия от сапрофагите, след които следва последното звено на хранителната верига – редуцентите.

Тези типове хранителни вериги не се срещат в чист вид в природата, тъй като един вид може едновременно да заема няколко нива в една хранителна верига или да участва в състава на няколко хранителни вериги. По такъв начин в екосистемата възникват сложни хранителни взаимоотношения, представляващи единни комплекси от много хранителни вериги, наречени хранителни мрежи. Това са хранителни вериги, свързани помежду си от общи хранителни звена. Колкото по-сложни са хранителните взаимоотношения между отделните видове в биоценозата, толкова по-сложна е хранителната мрежа и по-устойчиво е съответното съобщество.

Предаването на енергията в екосистемата става от нискостоящо към високостоящо равнище, в съответствие с първия и втория закон на термодинамиката (със загуба на топлина). При всеки преход на храната от едно трофично звено на друго се губи голяма част от съдържащата се в нея енергия (80-90%). Това ограничава броя на възможните трофични звена в хранителната верига до 4-5. Колкото тя е по-къса, толкова по-голямо е количеството на достъпната енергия за участващите в нея организми и обратно. В резултат на това намалява и броя на организмите, които могат да се поддържат от тази енергия, т.е. намалява числеността, а се увеличават размерите на отделните индивиди. По-големите размери са свързани с по-нисък интензитет на обменните процеси и следователно с по-малко количество необходима енергия.

Дължината на хранителните вериги зависи от:

- 1) количеството на достъпната енергия, която зависи от ефективността на функциониране на продуцентите;
- 2) ресурсите на местообитанието – наблюдават се случаи на високи стойности на първична продукция и къси хранителни вериги и такива, при които има недостатъчно първична продукция и дълги вериги.
- 3) видовото и функционалното разнообразие на биоценозите;
- 4) създалите се на тази основа регулаторни механизми.

Хранителната структура е най-чувствителното звено в екосистемата и лесно може да бъде нарушена, особено в бедни биоценози. В простите биоценози, изградени от малък брой видове, хранителните вериги са от линеен тип и трофичната структура може много лесно да бъде нарушена при отпадане на един от тях, докато в сложните биоценози хранителните вериги са от тип хранителна мрежа и отпадането на един вид не оказва съществено влияние върху функционалната им устойчивост, тъй като той може да бъде заменен от друг, равностоеен в екологично отношение.

В резултат на протичането на енергия по хранителните вериги всяко съобщество придобива определена трофична структура, която често се използва за характеристика на типа екосистема – горска, езерна, речна, тревна. Трофичната структура е фундаментално свойство на всички съобщества и екосистеми, благодарение на което то се намира в равновесие със средата и участва по определен начин в кръговрата на веществата и използването на слънчевата енергия. При хронични стресови въздействия върху екосистемите, трофичната структура може да се промени до известна степен съобразно с приспособленията на биотичните компоненти към стресовия фактор. Създава се ново равновесно състояние, което не е така устойчиво. При поява на този стресов фактор може да се стигне до деградация на съобществата.

Екологични пирамиди

Трофичната структура обикновено се изгражда в графичен вид под форма на екологична пирамида, тъй като хранителните взаимоотношения на организмите в екосистемата са подчинени на определени количествени закономерности. При построяването на пирамидата чрез правоъгълници се изобразяват хранителните равнища. В основата се разполага продуцентите, над тях първичните консументи, а над тях съответно вторичните и третичните консументи.

Тъй като предаването на хранителните вещества и енергията в хранителните вериги се извършва със значителни загуби, съгласно принципите на термодинамиката, то всяко следващо трофично звено ще съдържа по-малко биомаса и енергия от предходното. От тук следва, че и броят на организмите трябва да намалява в горните нива на хранителните вериги. Когато пирамидата е най-голяма в основата си и постепенно намалява, тя се нарича права пирамида. Когато в основата се пирамидата е по-малка от следващото хранително равнище, тя се нарича обърната пирамида.

Екологичните пирамиди отразяват количествено отношението между биологичните компоненти в екосистемите или в отделни звена на трофичната верига – хищник-жертва и т.н. В зависимост от използваните параметри за характеристика на тези количествени отношения, екологичните пирамиди биват три основни типа:

1) **Пирамиди на числеността** – отразяват броя на индивидите във всяко звено на хранителната верига (числеността на различни функционални биологични компоненти). Според нея броят на индивидите във всяко следващо ниво на хранителната верига е по-малък от този в предходните, а размерите им нарастват обратно пропорционално на броя им. Пирамидата на числеността на популацията може да се обръща или частично да се обръща, т.е. основата може да бъде по-малка, отколкото един или няколко върхни етажа. По този начин се получават по-малки размери на продуцентите и по-големи размери на консументите. Формите на пирамидите на числеността са различни за различните съобщества в зависимост от това малки (планктонни, тревни) съобщества или големи (горски) са размерите на популациите. Пирамидите на числеността общо взето не дават реално представа за функционалната роля на отделните трофични нива и на елементите, които ги формират (популации или части от популации).

2) **Пирамиди на биомасата** – отразяват съотношението на биомасата на организмите, заемащи отделните трофични нива в хранителната верига, в тегловни единици (обща суха биомаса, калорийност или друга мярка на съотношение между общото количество живо вещество за функционалните компоненти). Пирамидите на биомасата по-добре отразяват ролята и съотношението на отделните функционални групи. Съгласно посочената закономерност в повечето сухоземни екосистеми количеството на биомасата във всяко предходно звено на хранителната верига е по-голямо от следващото. В сухоземните хранителни вериги, завършващи с микроорганизми обаче, тази закономерност не е валидна. Тя не се спазва и във водните екосистеми, особено в моретата и океаните, където пирамидата на биомасата е обърната, т.е. основата на пирамидата е по-малка, тъй като първоначалните нива на хранителната верига съдържат по-малко биомаса от следващите. Това обаче не е причина за нарушаване на устойчивостта на водните екосистеми и е възможно поради изключително високата продуктивност на основния продуцент в тях – фитопланктона, поради което той, по-малък по биомаса, може да изхрани следващите нива с по-голяма биомаса. Освен това поради увеличаване на продължителността на живот на видовете, заемащи горните нива на хранителните вериги във водните екосистеми, в тях има тенденция към задържане на биомаса.

3) **Пирамиди на енергията** – отразяват потока на енергия или продуктивността на последователните трофични нива. Установено е, че при използване на данните за числеността се надценява функционалната роля на малките организми в една екосистема, а при използването на данните за биомасата – ролята на едрите организми. Числеността и биомасата във функционалната екология не са подходящи за оценката на ролята на силно различаващи се по отношението интензивност на метаболизма/размери на организмите. Пирамидите на енергията отразяват скоростта, количеството на потока и загубата на енергия от едно трофично ниво към друго. Те не се влияят от други закономерности и винаги имат правилна форма съгласно втори закон на термодинамиката – имат широка основа и се стесняват към върха. Чрез тях могат да се съпоставят различни екосистеми и да се оцени функционалната роля на едни и същи или на различни популации в тях. Може да се изчислят не само точните количества енергия в отделните звена, но и усвояването и загубата ѝ при преходите.

Поток на енергията в екосистемите

За разлика от веществата, които се движат в затворен кръг, енергията се движи еднократно. При преминаването ѝ от едно хранително ниво на друго, тя постепенно се изразходва. Високата степен на вътрешна подреденост на биологичните системи и нейното поддържане са свързани със значителен разход на енергия, поради което в последното хранително звено на екосистемата достига незначително количество от погълнатата от първото звено енергия. Основна роля в процеса на преноса на енергия в екосистемата играят автотрофите и по-точно количеството биомаса, което те създават и което ще се консумира от останалите трофични нива. Приема се, че до Земята достига около 43% от слънчевата енергия и едва 1% от нея се усвоява от автотрофите. Половината от свързаната при фотосинтеза енергия се изразходва за дишане на растенията, а останалата половина постъпва в хранителната верига. Около 80-90% от свързаната енергия на дадено трофично ниво се разсейва под форма на топлина и на следващото ниво постъпват едва 10 – 20%.

Макар и незначително, количеството на енергията, използвана в биогенния кръговрат на веществата, е достатъчно за синтеза на огромно количество биомаса. Цялото количество биомаса, произведено за една година от всички екосистеми на биосферата, се нарича обща биомаса. От количеството на първичната продуктивност зависи ефективността на преноса на енергия от едно звено в друго. За да се прогнозира характерът на движение на енергията в дадена екосистема, трябва да се знаят три различни ефективности на преноса ѝ:

1) **ефективност на консумиране** – процентът на сумарна продукция на едно трофично ниво, който действително се консумира от следващото трофично ниво. За фитофагите (първични консументи) това е количеството енергия, произведено за единица време във вид на чиста продукция от продуцентите, което постъпва в храносмилателния тракт на растителноядните животни. За вторичните консументи това е количеството биомаса, произведено от фитофагите, което се поглъща от хищниците. Останалата енергия се губи или под формата на топлина, или отива директно при редуцентите след смъртта на фитофагите. Счита се, че ефективността на консумиране като цяло е ниска при фитофагите и хищниците.

2) **ефективност на асимилация** – процентът енергия от храната, попадаща в храносмилателния тракт на консументите от дадено трофично ниво, преработена в достъпна и усвояема форма, нужна за растеж или за извършване на работа. Останалата част се губи под формата на екскременти и попада при редуцентите. Установено е, че ефективността на асимилация е ниска при фитофагите и детритофагите, но висока при хищниците, тъй като животинската храна се преработва и асимилира по-бързо и по-лесно в сравнение с растителната.

3) **ефективност на продуциране** – процентът на асимилирана енергия, включена в произведената биомаса. Останалата енергия, попадаща в съобществото, се губи като топлина и за дишане. Ефективността на продуциране е различна и зависи също и от систематичното положение на организмите. Например за безгръбначните е висока (30-40%), тъй като те изразходват сравнително малко енергия и по-голямата част отива за образуване на биомаса. При гръбначните животни с непостоянна температура ефективността е около 10%, а при тези с постоянна температура – едва 1 – 2%, защото голяма част от енергията отива за поддържане на телесната температура. За микроорганизмите е характерна висока ефективност на продуциране, тъй като те имат къс жизнен цикъл, малки размери и бързо обновяване на популацията.

Пренасянето на енергията в екосистемата има каскаден характер, а пренасянето на веществата – кръгов (цикличен). В противен случай се създава впечатлението, че биологичните процеси и по-точно кръговратът на веществата могат да изчерпят енергетичните възможности на екологичните системи, в това число и на биосферата.

Основна задача на съвременната биотехнология е разработването и внедряването на научно обосновани и ефективни технологии за получаване на биопродукти, като аминокиселини, органични киселини, витамини, антибиотици, протеини, ензими, ваксини и др., базирани на биосинтетичните, биотрансформационните и биодеградационни способности на различни биологични агенти. От тези, използвани за индустриално производство, микроорганизмите са доминираща група, защото: имат най-кратко генерационно време; проявяват най-висока специфична скорост на растеж; характеризират се със значително по-проста генетична организация; позволяват по-лесно целево манипулиране на генома; проявяват висока степен на пластичност на метаболизма и възможност за насочването му в желана посока, дори и само чрез промяна в състава на хранителната среда; имат сравнително прости за удовлетворяване хранителни изисквания; позволяват сравнително лесно култивиране в изкуствени условия; могат да усвояват отпадни продукти, в качеството на хранителни субстрати, което позволява разработването на технологии със сериозен екологичен ефект и не на последно място продуктивността им не зависи от климатични, географски условия и сезонност.

Към промишлените микроорганизми се предявяват и редица изисквания: да имат кратко генерационно време и възможности за бързо натрупване на биомаса в комплексни хранителни среди; да проявяват висока специфична скорост на растеж в условията на индустриално култивиране; да синтезират целевия продукт във висока концентрация от единица субстрат за единица време; да синтезират преимуществено целевия продукт и да не продуцират или в минимална степен, странични метаболитни продукти; да са устойчиви на мутагенни фактори и фаги; микробните клетки да са големи или лесно да образуват агломерати; по възможност да са мицелни култури; да не синтезират токсини; да не са патогенни и да са безвредни за околната среда. Като индустриални продуценти на микробни биопродукти намират приложение представители от различни таксономични групи бактерии, актиномицети, дрожди и плесенни гъби.

Бактерии. Най-характерните особености на бактериите, имащи отношение към използването им като промишлени продуценти на биопродукти, са техните малки размери, кратко генерационно време, сравнително проста генетична организация и това, че една част от тях – Грам-отрицателните, натрупват синтезираните целеви продукти преимуществено вътре в клетката. Малките размери са основният технологичен недостатък на бактериите, защото значително затрудняват отделянето на фино суспендираните клетки от течните ферментационни среди чрез сепарация или центрофугиране. За целта трябва да се прилагат процеси на разделяне под високо налягане с използването на филтър преси, които са по-трудни за експлоатация. Едно от най-важните предимства на бактериите от технологична гледна е краткото генерационно време, което значително съкращава продължителността на ферментационния процес и намалява икономическите разходи за производството. По-простата им генетична организация позволява сравнително лесно да се въздейства върху техния геном, респективно да се повиши биосинтетичния им потенциал. Натрупването на целевите вещества вътреклетъчно също създава затруднения при изолирането и пречистването на биопродуктите и налага прилагането на допълнителни технологични операции за дезинтеграция на бактериалната биомаса. Болшинството от бактериите, използвани за индустриално производство на биопродукти, са от групата на мезофилните. По време на култивирането се отделя значително количество биологична топлина от системата, което налага използването на огромни обеми охлаждаща вода за биореакторите, което е и един от най-големите разходи в производствени условия. Това провокира повишен интерес към възможностите за използване на термофилни бактерии, като продуценти на термостабилни биопродукти. Най-широко промишлено приложение са намерили представители от следните видове: *Bacillus subtilis* – продуцент на протеази; термофилни щамове *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* – продуценти на термостабилни амилолитични ензими; *Xanthomonas campestris*, *Leuconostoc dextranicum*, *Erwinia amylovora* – продуценти на микробни екзополisahариди; регулаторни мутанти на *Corynebacterium*

glutamicum и *Brevibacterium flavum* – продуценти на аминокиселини; *Pseudomonas dentrificans* – продуцент на витамин В₁₂, млечнокисели бактерии от видовете *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* – за производство на ферментационни млечнокисели продукти и органични киселини, както и смесени бактериални култури, формиращи активната утайка, използвана за аеробно пречистване на отпадни води.

Актиномицети. Актиномицетите са прокариотни микроорганизми с мицелен строеж, изграден от мрежа от гъсто преплетени, но много тънки хифи, които лесно се разкъсват. Мицелният строеж на актиномицетите позволява по-лесното им отделяне от културалните среди чрез вакуум филтрация, което е предимство от технологична гледна точка. Актиномицетите имат продължително генерационно време, като за пълното спорулиране на някои видове са необходими 10÷14 дни, което значително удължава продължителността на индустриалните биотехнологични процеси, особено в частта получаване на посевен материал. Например продължителността на ферментационния процес за получаване на макролидния антибиотик тилозин от *Streptomyces fradiae* е 140 – 160 часа, а на салиномицин и монензин – достига и над 360 часа. Устройството на актиномицетния геном е значително по-сложно в сравнение с бактериалния, а по обем е приблизително два пъти по-голям от този на другите прокариоти, напр. при *Streptomyces avermitilis*, продуцент на антипаразитния препарат аверметкин, който включва около 9 млн. базови двойки. Регулацията на генната експресия при актиномицетите е много по-сложна от тази при останалите прокариоти. При стрептомицетите, продуценти на биологично активни вещества, са идентифицирани между 60 и 65 σ -фактора, които разпознават различни типове промотори, докато при *E.coli* те са едва 7. Всичко това сериозно затруднява приложението на различни техники за генетична рекомбинация с цел повишаване продуктивността на щамовете. Актиномицетите са аеробни микроорганизми, които в условията на дълбочинно култивиране изискват най-интензивна аерация в сравнение с всички останали групи промишлени продуценти на биопродукти, достигаща стойности до и над 1 m³/(m³.min⁻¹). Повечето от актиномицетите с промишлено значение са мезофилни, но се прилагат и някои термофилни щамове – продуценти на термостабилни ксиланази. Оптималната стойност на рН за развитието на актиномицетите е в диапазона 6,8÷7,2. Подобно на плесенните гъби, те продуцират широк набор външноклетъчни ензими, което им позволява да усвояват и голям брой хранителни субстрати, дори някои отпадни продукти. Основните технологични предимства на актиномицетите се изразяват в мицелния им строеж и във възможността да усвояват голям брой хранителни субстрати, а недостатъците – в продължителното генерационно време и повишената потребност от кислород по време на промишленото им култивиране. Над 80% от промишлено произвежданите антибиотици по биотехнологичен път се продуцират от актиномицети, като интерес представляват представителите главно от три семейства – *Streptomycetaceae*, *Micromonosporaceae* и *Nocardiaceae*. Към различните видове от род *Streptomyces* се отнасят най-голям брой от щамовете, които са намерили индустриално приложение като продуценти на антибиотици: *S.aureofaciens* – тетрациклин и хлортетрациклин; *S.rimosus* – окитетрациклин; *S.griseus* – стрептомицин; *S.erythreus* – еритромицин; *S.noursei* – нистатин; *S.albus* – салиномицин; *S.cinamonensis* – монензин; *S.fradiae* – тилозин; *S.levoris* – леворин; *S.venezuellae* – хлорамфеникол; *S.antibioticus* – олеандомицин; *S.tenebrarius* – тобрамицин и др.

Дрожди. Дрождите са еукариотни микроорганизми, чиито клетки са значително по-големи от бактериалните, което позволява по-лесно да се отделят от културалните среди чрез центрофугиране, сепарация или флотация. Дрождевата клетка е обхваната от здрава и трудна за разрушаване клетъчна стена, изградена основно от глюкани и манани, което значително затруднява технологичните операции по изолиране и пречистване на вътреклетъчните целеви продукти. Дрождите се размножават главно чрез пъпкуване, чрез спори и много рядко чрез бинарно делене. Хаплоидните аскоспори могат да се слоят или да се разделят, което позволява да се получат диплоидни, полиплоидни или изогенни щамове дрожди с подобрени биосинтетични качества. Дрождите, намерили индустриално приложение в биотехнологичните производства са сапрофитни, мезофилни, факултативно анаеробни с рН оптимум в слабокиселата област на рН 4,5 ÷ 5,0, което е естествена бариера срещу бактериална контаминация на ферментационните среди и предимство. Като въглеродни източници усвояват ферментируеми захари от групата на хексозите и не проявяват амилалитична активност, което в известна степен ограничава спектъра на субстратите, влагани в състава на комплексните хранителни среди, използвани в индустриални условия. Интерес от технологична гледна точка представляват отделни представители на клас *Ascomycetes*. Най-голямо промишлено приложение от групата на аскоспорогенните дрожди имат видове от

родовете *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*, главно за получаване на етанол, микробни-белтъчни продукти и някои витамини.

Плесенни гъби. Плесенните гъби са еукариотни организми, изградени от хифи, които образуват мицелна структура. Хифите на плесените са много по-дебели от актиномицетните и са обхванати със здрава клетъчна стена, която съдържа хитозан, глюкани и известно количество целулоза. Това позволява да бъде преодолян проблема с възможността за разкъсване на хифите от разбъркващите устройства в биореактора. Мицелният строеж на плесените улеснява отделянето на биомасата от ферментационната среда чрез филтрация под вакуум. Повечето плесени, използвани за индустриалното производство на биопродукти, са мезофилни, развиват се при висока относителна влажност и в сравнително широк рН диапазон 4,5 – 8,0, като съответните оптимални стойности са 65 – 75% и рН 5,5 – 7,5. Усвояват много широк набор хранителни субстрати като отпадни продукти от селското стопанство, ХВП и др., което улеснява композирането на индустриалните хранителни среди. Имат много добре развит секреторен апарат, което ги прави подходящи продуценти на различни външноклетъчни целеви биопродукти. Плесените са доминиращите промишлени продуценти на ензими, а по отношение на антибиотиците отстъпват водещото място на актиномицетите. Основен недостатък на плесените е продукцията на токсини от някои видове, което лимитира промишленото приложение на токсигенни щамове. Накратко ще изброим само някои от най-използваните видове плесени в индустриалните биотехнологии и продуцираните от тях целеви продукти: от род *Aspergillus*, видовете *A. niger*, *A. oryzae*, *A. awamori*, *A. terreus* – продуценти на амилази, ксиланази, пектинази, протеази и лимонена киселина; род *Penicillium*, видовете *P. notatum* и *P. chrysogenum* – продуценти на β -лактамни антибиотици; род *Rhizopus*, видовете *Rh. arrhizus* и *Rh. nigricans* – продуценти на липази; род *Mucor*, видовете *M. miehei*, *M. mucedo*, *M. pusillus* – продуценти на протеази; род *Trichoderma*, видовете *T. reesei* и *T. longibrachiatum* – продуценти на целулази и ксиланази.

Детайлното познаване на морфологичните, физиологичните, генетичните и технологичните особености на микробните продуценти на биопродукти е задължително условие за разработването на ефективни индустриални биотехнологични процеси, които да осигурят условия за максимална експресия на биосинтетичния потенциал на продуцентите с висок коефициент на икономическа ефективност.

Както вече изяснихме, промишлените микроорганизми трябва да притежават редица ценни свойства и да отговарят на голям брой технологични изисквания. Най-добри възможности за изолиране на нови или малко проучени щамове – продуценти на нови и важни биопродукти, предоставят техните естествени местообитания в природата, като почва, различни растителни субстрати, водоеми и много рядко въздухът, защото той е само временно местообитание на микроорганизмите. Изолирането на природни щам-продуценти е изключително сложен и продължителен процес, защото в природата микроорганизмите не съществуват във вид на чисти култури, а най-често са под формата на сложни микробни съобщества. В повечето случаи интересуваният ни микробен продуцент е минорен, т.е. не е доминиращ вид в естественото микробно съобщество. За изолирането му се прилагат поредица от микробиологични техники, чиято последователност и брой могат да бъдат изключително разнообразни в зависимост от конкретния продуцент. За успешното изолиране на конкретен продуцент е важно да се вземе проба, например почвена, от най-характерното местообитание на дадената микробна група. Например, за изолиране на нови микробни продуценти на термостабилни ензими е целесъобразно търсенето в геотермални води. От изключителна важност за успешното изолиране на продуцентите е правилното вземане и съхранение на природната проба и възможно най-бързата ѝ обработка. Обикновено възможността за директно изолиране на микробни продуценти с промишлено значение от природни образци е само теоретична. Най-често пробите се подлагат на предварително третиране, което има за цел да увеличи относителния дял на микроорганизмите с желаните качества в смесената микробна култура, без да се прилагат набогатителни (селективни) процедури. Най-често прилаганите методи за предварително третиране са изменение на температурата, промяна на рН, обработка с химични съединения и др. Методът на набогатителните култури се изразява в създаването на селективни условия за преимуществено развитие на желания микробен вид в смесената микробна култура или създаването на условия, потискащи развитието на останалите членове на асоциацията. Това обикновено се постига чрез използване на селективни хранителни среди, съдържащи определени инхибитори или стимулатори на растежа на конкретна микробна група. По-рядко за получаването на набогатителни култури се използва методът на подхранването или използването

на фаги. В набогатителната култура броят на микробните клетки от целевия вид е значително увеличен и той се е превърнал от минорен в доминантен. От получената течна набогатителна култура, след подходящо разреждане, се изолират чисти микробни култури, които са потенциални продуценти на целевия продукт. По пътя на полифазната таксономия, базирана на морфологични, културални, физиолог-биохимични и молекулярно биологични методи, природните изолати се идентифицират видово. Изолираните по този начин продуценти са природни (диви) щамове, които на практика може да са мутантни, но природата, мястото и механизмът на действие на природния мутаген са неизвестни. За създаване на промишлени щам-продуценти, природните изолати се подлагат на многостепенен подбор на активни варианти от изолираните във вид на чисти култури щамове. Първичният подбор се основава на оценка на даден качествен показател, т.е. цели да се установи кои варианти продуцират целевия продукт. Вторичният подбор се основава на оценка на количествен показател, т.е. установява се какво е количеството (концентрацията, активността) на синтезирания целеви продукт от отделните варианти, селектирани при първичния подбор. Вероятността за изолиране на „диви“ щамове – свръхпродуценти на биопродукти от природата, непретърпели мутагенна или друга генетична обработка, на практика е много малка. Поради това повечето промишлени микробни продуценти на биопродукти обикновено са специално селектирани мутантни щамове. За да се увеличи биосинтетичният потенциал (продуктивността) на изолираните природни щам-продуценти, те се подлагат на насочен индуциран мутагенез. За целта се използват различни физични и химични мутагени, прилагани самостоятелно, но по-често в комбинация, в различна доза и време на експозиция. На мутагенна обработка обикновено се подлага микробна суспензия от скринирания перспективен природен (див) щам с висок титър на клетките. След обработка със съответния мутаген от микробната суспензия се прави посев върху подходяща твърда хранителна среда, откъдето се изолират получените мутанти и се прави оценка на активността им. За улеснено изолиране на регулаторни мутанти обикновено търсеното качество се съчетава с ауксотрофност, което позволява много лесното изолиране на мутантите от останалите щамове, които са прототрофи чрез посев на пълноценни и минимални хранителни среди. Понастоящем за генетично конструиране на промишлени щам-продуценти на биопродукти с предварително програмирани свойства, широко се прилагат методите на генното и метаболитното инженерство. Например широко приложение за индустриално производство на аминокиселини, като L-лизин, L-глутаминова киселина и др., намират т.нар. регулаторни мутанти от видовете *Brevibacterium flavum* и *Corynebacterium glutamicum*.

Една от основните задачи в сферата на индустриалната микробиология е създаването на условия за съхранение на щамовете, които да гарантират запазване на активността на културата, генетичната ѝ однородност и микробна чистота. Успоредно с това методите за съхранение трябва да позволяват адекватното обезпечаване на производствения процес с достатъчно количество качествен посевен материал. Счита се, че най-подходящи за съхранение са микробните култури, намиращи се в края на експоненциалната или началото на стационарната фаза на развитие. В науката липсва единно становище по въпроса дали културите трябва да се съхраняват на богати или бедни по състав хранителни среди. Според някои автори по-подходящи за съхранение на промишлените микроорганизми са бедните хранителни среди. В бедни на хранителни субстрати среди метаболитните процеси в микробните клетки протичат с много ниска скорост, което елиминира опасността от натрупване на отпадни метаболитни продукти, които инхибират съхранявания щам. Други автори са на коренно противоположното мнение. Според тях само богатите на хранителни субстрати среди могат да гарантират запазване на жизнеспособността на микробните клетки. В зависимост от срока на съхранение на промишлените микроорганизми методите се разделят на две групи:

1. Методи за непродължително съхранение (срок до 1 година) – съхранение чрез периодично препосиване (субкултивиране), съхранение под слой минерално масло, съхранение чрез обикновено замразяване или изсушаване. Срокът на съхранение между две последователни препосивания зависи от видовата принадлежност на конкретния микробен вид, от физиологичните и морфологичните му особености и се определя експериментално за всеки отделен продуцент. Методите за непродължително съхранение на промишлените микроорганизми се прилагат като допълнителна стъпка към методите за продължително съхранение или като единствена, в случай че конкретният микробен вид не понася съхранение чрез ултразамразяване или лиофилизация. Общ недостатък на методите за непродължително съхранение е необходимостта от препосиване през сравнително кратки интервали от време, което индуцира процесите на дегенерация и конта-

минация на производствените култури. Недостатъците на тази група методи са преодолявани при методите за продължително съхранение.

2. Методи за продължително съхранение (срок до 30 години) – лиофилизация и криоконсервация (ултразамразяване)

Льофилизация е най-съвременният и подходящ метод за дългосрочно съхранение на промишлените микроорганизми. Той се изразява в замразяване на микробната суспензия и отделяне на влагата от замразения продукт чрез сублимация. През първия етап на процеса микробната суспензия, която е в края на експоненциалната или началото на стационарната фаза на развитие, се замразява при температура от -20 до -30°C. Съществено влияние върху ефективността на този етап от процеса и запазване максималната жизнеспособност на микробните клетки оказва скоростта на замразяване и наличието на криопротектори. Те биват два вида – криопротектори, които лесно преминават през клетъчната мембрана и осигуряват вътре- и външноклетъчна защита от действието на ниските температури, а вторите не преминават през клетъчната мембрана и осигуряват само външна защита на клетката. Към първия тип се отнасят глицеринът и диметилсулфоксидът, а към втория – главно въглехидрати като захароза, глюкоза, манитол и др. Различните микробни култури имат различна криотолерантност, поради което скоростта на замразяване за всеки отделен продуцент се определя експериментално. На втория етап от процеса влагата се отделя от замразения продукт чрез сублимация, т.е. директно изпарение от твърдо състояние, без да се преминава през течна състояние. Сублимацията се провежда при парциално налягане и температура, разположени по-ниско от тройната критична точка на фазово равновесие на водата. Най-често лиофилизацията се осъществява в специални бавно оборотни хладилни центрофуги, където се осъществява изпарително охлаждане под вакуум. Ампулите с лиофилизираната култура се съхраняват в хладилни условия или във фризер за неограничен период от време. От съществено значение за запазване на биосинтетичния потенциал на културата е и процесът на реактивация на микробните клетки след лиофилно съхранение. Препоръчва се културите да се рехидратират с течна хранителна среда, в която е проведен процесът на замразяване, а не с дестилирана вода. Леофилното съхранение е най-сигурният метод за продължително съхранение на промишлени микроорганизми, като единственият му недостатък се изразява в използването на скъпоструващо специализирано оборудване.

Ултразамразяването е метод, който се изразява в замразяване на микробните култури при ултраниски температури -196°C с течен азот и пари на течен азот. Криогенното съхранение при ултраниски температури гарантира съхранението на различни биологични агенти с висока степен на преживяемост, жизнеспособност и генетична стабилност за период над 30 години. Задължително условие за успешното криогенно съхранение на микробните култури е физиологичното им състояние да съответства на средата на експоненциалната фаза на развитието им; титърът на микробната суспензия да бъде не по-малък от $1 \cdot 10^8$ cfu/cm³ и наличието на криопротектори. От технологична гледна точка най-съществено влияние върху преживяемостта на културите оказва скоростта на замразяване. За да се избегне образуването на вътреклетъчни кристали и електролитен дисбаланс, замразяването на ампулите с микроорганизми се осъществява на два етапа. Първоначално микробната суспензия се охлажда бавно със скорост на понижение на температурата 1°C/min до достигане на температура -30°C. На втория етап скоростта на охлаждане се увеличава на 15°C/min до достигане на температура -196°C – реактивацията на културата е много лесна и бърза. Ампулите със замразената култура се поставят на водна баня при 30 – 37°C за време 40 – 60 sek. Методът е много подходящ за съхранение на актиномицети, дрожди и млечнокисели бактерии, които не понасят лиофилизация. Установено е, че Грам-положителните бактерии са по-устойчиви на ултразамразяване от Грам-отрицателните. Предимствата на ултразамразяването като метод за продължително съхранение на м.о. се изразяват в пълно запазване на желаните свойства на промишлените продуценти, практически липсва вероятност за контаминация на производствената култура, както и във възможността за директна употреба на културата след кратка реактивация. Недостатъците на метода се изразяват в необходимостта от специални криостати и обезпечаване на безопасността на работа.

Изборът на един или друг метод за съхранение на промишлените микроорганизми и определянето на оптималните параметри за провеждането му зависят най-вече от физиологичните и генетични особености на конкретния микробен вид и спецификата на конкретното производство. По тази причина липсва единна и универсална стратегия за избора на най-подходящ метод за съхранение на промишлените микроорганизми, а се прилага индивидуален експериментален подход за всеки отделен щам-продуцент.

Култивирането е процес на изкуствено контролирано развитие на даден микробен вид или смесена микробна култура в лабораторни или промишлени условия при осигуряване на оптимални процесни параметри. То представлява най-съществен етап от биотехнологичния процес, по време на който се продуцират целевите метаболити от микробния синтез и се формират техните ценни биологични качества. Съществуват различни методи за култивиране на микроорганизмите, които могат да се класифицират по различни показатели. В зависимост от агрегатното състояние на хранителната среда и локализацията на клетките в средата култивирането бива: повърхностно – клетките се развиват по повърхността на тънък слой течна хранителна среда; дълбочинно – клетките се развиват в дълбочина на дебел слой течна хранителна среда и твърдофазово – клетките се развиват по повърхността на насипни хранителни среди, съдържащи водонерастворими субстрати. В зависимост от продължителността на процеса култивирането бива периодично, полунепрекъснато и непрекъснато. В зависимост от условията за провеждане на процеса – аеробно или анаеробно; асептично или неасептично, а в зависимост от обема на средата – лабораторно, полупромишлено или промишлено. Най-широко приложение в биотехнологичната практика намира периодичното култивиране. При този метод микробната култура се развива в затворения обем на биореактора, който съдържа постоянно количество хранителна среда. Единствените входящи и изходящи потоци в системата са тези на аериращия въздух и изходящите газове. За начало на култивирането се счита моментът на посев на стерилната хранителна среда, а за край на процеса – източването на културалната среда от биореактора и отделянето на клетките от средата. В технологично отношение култивирането се предхожда от измиване, проверка за херметичност и стерилизация на биореактора, подготовка, стерилизация и охлаждане на хранителната среда до температура на култивиране. При периодичното култивиране развитието на микробната култура преминава през няколко последователни фази, които графично могат да бъдат представени с растежна крива, имаща интегрален вид.

I фаза: Лаг-фаза – започва от момента на инокулация на хранителната среда и се характеризира с адаптация на микробната култура към условията на средата в биореактора (температура, рН, концентрация на хранителните вещества и др.). През тази фаза клетките не се делят. Незначителното увеличение на биомасата в края на фазата не се дължи на увеличаване броя клетки, а на увеличаване им обем. По време на лаг-фазата количеството на биомасата остава постоянно. Продължителността ѝ е различна за различните продуценти и зависи от адаптивните им способности и най-често се определя графично. Поради това, че тази фаза е непродуктивна, целта в промишлени условия е продължителността ѝ да бъде сведена до минимум.

II фаза: Експоненциална фаза – характеризира се с най-интензивното развитие на микробната култура с максимална скорост на растежа. Концентрацията на хранителния субстрат в средата е основният лимитиращ фактор за скоростта на растеж на микробната популация. В този начален етап от процеса концентрацията на хранителните вещества все още не е лимитираща и не са се натрупали отпадни метаболитни продукти от жизнената дейност на микроорганизмите, които инхибират микробния растеж. По време на тази фаза става най-интензивното нарастване на количеството на биомасата и максимален синтез на първични метаболити. За съжаление в производствени условия продължителността на тази фаза е сравнително кратка. Тя зависи от вида на продуцента, вида и количеството на хранителните вещества и от условията на култивиране. Цялостна представа за ефективността на стадия култивиране по отношение развитието на продуцента, респективно продукцията на целеви продукт, ни дава специфичната скорост на растеж μ , h^{-1} .

III фаза: Стационарна фаза – през тази фаза настъпва равновесие между броя на новообразуваните и броя на умиращите микробни клетки за единица време, в резултат на което количеството на биомасата остава постоянно. Причина за това са както намаляващата концентрация на хранителните вещества в средата, така и проявяващото се инхибиторно действие на някои отпадни метаболитни продукти от жизнената дейност на микробните клетки. По време на стационарната фаза се наблюдава максимум на продукцията на вторични метаболити.

IV фаза: Фаза на умиране – с течение на времето в затворената система биореактор – среда – микробна култура, настъпва момент, в който броят на умиращите за единица време клетки, надвишава броя на делящите се клетки. Фазата на умиране настъпва поради изчерпване на хранителните вещества от средата и засилване на инхибиторното действие на отпадните метаболити и автолизните продукти от умиращите клетки. Тя представлява интерес само за онези биотехнологични производства, при които целевият продукт се отделя в резултат на лизис на клетките.

Основни кинетични модели за описание на кинетиката на процеса периодично култивиране

Популацията от микроорганизми не е хомогенна, а нейното поведение и жизнена дейност зависят от редица фактори. Най-важната ѝ особеност е, че се намира в постоянен енергиен и материален обмен с околната среда, в която проявява висока устойчивост към външни въздействия и свойството саморегулиране. По аналогия с макрокинетиката на химичните реакции, изучаващи ролята на дифузията, топлопреминаването и конвекцията при протичане на химичната реакция, се развива и макрокинетиката на микробния синтез, изучаваща кинетиката на растеж, развитие и обмен на микроорганизмите в апарата при определени хидродинамични, топлинни и масообменни условия. Една от основните задачи на съвременната биотехнология е управлението и оптимизирането на периодичните биотехнологични процеси. Това е възможно с помощта на кинетични (математически) модели, които представляват функции или системи от уравнения, които описват основните зависимости, характеризиращи процеса: dX/dt – изменението на количеството на биомасата във времето, dS/dt – изменението на количеството на хранителния субстрат във времето и dP/dt – изменението на количеството на целевия продукт във времето. Математическият модел трябва да отразява най-съществените страни и взаимовръзки на изследвания микробиологичен процес.

Уравнението за експоненциалния растеж на микробна популация, известно като закон на Моно, е добре познато в науката и прилагането му е валидно при допускането, че микробната популация се размножава в условията на неограничени хранителни източници, в неограничено пространство и при липса на инхибиращи фактори.

$$X = X_0 \cdot e^{\mu \cdot \tau}$$

където: X – количество на биомасата, kg/m^3 ; τ – момент от време, h , e – Неперово число (2,71828), μ – специфична скорост на растеж на културата, h^{-1}

Анализът на уравнението показва безкрайно нарастване на броя на живите клетки. В действителност обаче клетките се инхибират от изменението на състава на хранителната среда, от отделените метаболитни продукти и от взаимното влияние на микроорганизмите при увеличаване на тяхната концентрация. Експериментално е установено, че уравнението на Моно е коректно само за малка част от общия цикъл на развитие на микробната популация в ограничени обем на биореактора. Моно установява, че специфичната скорост на растеж зависи от концентрацията на субстрата, лимитиращ развитието на микроорганизмите. Зависимостта на специфичната скорост на растеж от концентрацията на лимитиращия субстрат се подчинява на уравнение, аналогично на уравнението на Михаелис-Ментен за кинетиката на ензимните реакции.

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{S}{K_s + S}$$

където: μ – специфична скорост на растеж на културата, h^{-1} ; μ_{max} – максимална специфична скорост на развитие на културата, h^{-1} ; S – концентрация на субстрата, kg/m^3 ; K_s – константа на насищане, kg/m^3 .

Предимства на периодичното култивиране: висока мобилност на процеса – едни и същи апарати могат да бъдат използвани за култивиране на различни продуценти и получаване на различни биопродукти; по-малък риск от контаминация в сравнение с непрекъснатия метод; полесна поддръжка и ремонт на технологичното оборудване; в случаите на поява на спонтанни мутанти негативният им ефект върху ферментационния процес е много по-малък в сравнение с появата им при непрекъснатите ферментационни процеси.

Недостатъци на периодичното култивиране: сравнително ниски добиви; нестабилност на културата във физиологично отношение, която се намира в преходно състояние; условията на култивиране се променят бързо за сравнително кратък интервал от време; необходимост от многократна подготовка на посевен материал; целевите продукти се синтезират в кратък времеви интервал; по-трудно подлежи на автоматизиране и управление; периодичността на производствените цикли оскъпява производството.

Периодичното дълбочинно култивиране се прилага при биотехнологичното производство на антибиотици, витамини, аминокиселини, ензими и др. биопродукти. Вариант на периодичното култивиране е полунепрекъснатото култивиране. Този метод се изразява в периодично отнемане на определен обем от културалната среда в биореактора и добавянето на свежи порции стерилна хранителна среда. По този начин до известна степен се увеличава продължителността на експоненциалната фаза на развитие, а следователно и добивът от целевия продукт.

Върху развитието на продуцентите и синтеза на целеви продукти в условията на промишлено култивиране влияние оказват редица фактори на средата като температура, активна киселинност, аерация, интензивност на разбъркване, продължителност и др. Значимостта на отделните фактори е различна в зависимост от метода на култивиране и физиологичните особености на щам-продуцента, но могат да се посочат някои общи закономерности.

Влияние на температурата на култивиране. развитието на микроорганизмите и синтеза на продукти от тях е резултат от серия биохимични реакции. Подобно на всички химични реакции, и тяхната скорост на протичане зависи от температурата. Нормалното развитие на микробните култури и образуването на съответни продукти от тяхната жизнена дейност изискват поддържане на определена температура. Всеки продуцент се характеризира с оптимална температура на развитие: психрофилните продуценти имат оптимум на развитие при температура $12 \div 18^{\circ}\text{C}$; мезофилните продуценти – температура $30 \div 35^{\circ}\text{C}$, а термофилните – $40 \div 50^{\circ}\text{C}$. Обикновено индустриалните плесенни продуценти имат оптимум около 28°C , дрождите $25 \div 28^{\circ}\text{C}$, бактериите – $30 \div 37^{\circ}\text{C}$, а актиномицетите – около 28°C . Освен с оптимална температура за развитие, продуцентите се характеризират и с оптимална температура на биосинтез на целевия продукт, която невинаги съвпада с температурния оптимум за развитие. Например продуцентът на еритромицин *S. erythraea* има температурен оптимум на развитие през трофофазата 33°C , а температурен оптимум на синтез на антибиотика през идиофазата – 28°C . Температурата оказва влияние и върху процесите на молекулната дифузия, т.е. върху масопреминаването на хранителните вещества от средата в клетката и обратно. Провеждането на биотехнологичните процеси извън диапазона на температурния оптимум рязко увеличава продължителността на култивирането и понижава добива от целевия продукт. Поради това при съвременните биотехнологични производства за получаване на антибиотици ферментационният етап протичат при постоянен автоматичен контрол на температурата.

Влияние на рН. Активната киселинност на средата също оказва съществено влияние върху развитието на продуцентите и синтеза на целеви продукти. рН оказва пряко въздействие върху микробната клетка, като променя нейния заряд и косвено, като влияе върху степента на дисоциация на хранителните вещества в средата. Активността на клетъчните ензими, разтворимостта на хранителните вещества, междинните и крайни продукти и степента на тяхната дисоциация зависят най-вече от активната киселинност. В резултат на интензивното развитие на микробните продуценти и синтеза на целеви продукти бързо се изменя рН на ферментационната среда, което до голяма степен зависи от темповете на окисление на хранителните субстрати в средата. За неутрализиране на този ефект, по време на култивирането рН се регулира автоматично чрез подаване на киселини или основи и в състава на хранителните среди се влагат буфериращи агенти като калциев карбонат или се използват среди с висок буферен капацитет. Оптималните рН стойности за развитието на бактерии и актиномицети е в неутралната област на рН $6,8 \div 7,2$, на дрожди – в слабокиселата област на рН около 5,5. В най-широк рН-диапазон успешно се развиват и синтезират БАВ плесенните гъби.

Влияние на аерацията. развитието на микробната популация при аеробните биотехнологични процеси се осъществява в условията на обмен на вещества между хранителната среда (*течна фаза*), аериращия въздух (*газова фаза*) и микробния продуцент (*псевдотвърда фаза*). Необходимият за аеробните процеси кислород се осигурява при продухване на средата със стерилен въздух и много рядко от подаването на чист кислород. Аерацията на хранителната среда с въздух освен, че осигурява необходимия кислород за процеса, осигурява и изнасянето на някои

газообразни метаболити (най-често CO_2). Основният проблем на масообменния процес е ниската разтворимост на кислорода в хранителната среда, най-вече поради високите температури на култивиране. Като е известно разтворимостта на газовете намалява с увеличаване на температурата на течността. По тази причина за интензификация на масообменните процеси културалната среда се разбърква, което много често води до интензивно пенообразуване и свързаните с това проблеми. Култивирането на повечето продуценти в биотехнологията протича нормално при постоянно подаване на кислород, тъй като разтворимостта на кислорода в културалната среда е не висока от $6 - 9 \text{ g/m}^3$, а консумацията му от повечето аеробни микроорганизми е в границите $0,2 - 0,3 \text{ g/(m}^3 \cdot \text{s)}$. Аерацията на културалната среда се разглежда като съставена от два основни процеса: абсорбция на кислорода от газовата в течната фаза и консумация на кислорода от микроорганизмите. Първият от проблемите се решава чрез разнообразни методи за разбъркване и други процеси на химическата технология. Консумацията на кислорода от микроорганизмите, е в непосредствена връзка с тяхното физиологично състояние, което зависи от много фактори, в това число и от концентрацията на разтворения в културалната среда кислород. С величината степен на аерация означаваме количеството въздух, подавано в единица обем от хранителната среда за единица време. Степента на аерация при различните биотехнологични процеси е различна в зависимост от типа на продуцента и синтезирания продукт. Аерирането на растящите микробни култури има три цели: снабдяване на микроорганизмите с достатъчно количество кислород, отделяне на газообразните продукти на обмяна и частично отвеждане на отделената от микробния продуцент топлина. Микроорганизмите са в състояние да усвояват само разтворения в средата кислород, като оксидират в процеса на аеробно дишане субстратите до въглероден диоксид и вода, т.е. използват кислорода като краен акцептор на отделените електрони или водород. При дълбочинното аеробно култивиране

протичат 2 процеса: единият е разтваряне на кислорода в хранителната среда, а вторият е усвояването му от микроорганизмите. Ако усвояването на кислорода от клетките превишава скоростта на разтварянето му в хранителната среда, възниква кислороден дефицит. Необходимостта на микробната култура от кислород се обуславя от интензивността на дишане и клетъчната маса в единица среда. Интензивността на дишане зависи най-вече от възрастта на културата. По-младите клетки имат по-висока интензивност на дишане, а с увеличаването на възрастта тя намалява. Интензивността на дишане, респективно нуждата от кислород, зависи до голяма степен и от състава на хранителната среда, защото различните съединения се окисляват с различна скорост. Потребността от кислород е различна и в зависимост от количеството на клетките в средата. В началото през лаг-фазата, когато клетките са малко на брой, количеството на необходимия кислород е малко. През експоненциалната фаза броят на клетките рязко се увеличава, а оттам и потребността от кислород, която през стационарната фаза намалява по обясними причини. От всичко, казано до тук, става ясно, че през различните фази на стадия култивиране е необходимо различно количество разтворен кислород, поради което в промишлени условия се прилага степенна (градиентна) аерация, съобразена с физиологичното състояние на културата и състава на средата. Между трите фази в културалната среда се осъществява процес на масопренасяне на кислорода. Този процес протича по сложен физико-химичен механизъм и се контролира от съпротивлението на течната фаза. Най-интензивна аерация изискват процесите на биосинтез на антибиотици и като цяло биотехнологичните процеси, основаващи се на използването на актиномицетни култури. За правилното организиране на аерацията е необходимо да се знае не само критичната концентрация на разтворения кислород или зависимостта на някои от свойствата на клетката от неговата концентрация, но и необходимостта от кислород. Важна характеристика на микробната култура е специфичната максимална консумация на кислород (интензивност на дишането), чиито средни максимални стойности за повечето аеробни култури са в границите $0,6 - 1 \text{ kg/(m}^3 \cdot \text{h)}$. Известни са случаи, например при производството на дрожди, в които консумацията на кислород е значително по-висока и достига $10 - 12 \text{ kg/(m}^3 \cdot \text{h)}$. В повечето случаи аерацията е съпроводена с разбъркване на културалната среда. В лабораторни условия разбъркването се осъществява чрез разклащане на колбите, а в промишлените – чрез барботиране или в съчетание с механично разбъркване. Разбъркването е задължително условие за интензификация на процеса култивиране. Чрез него се осъществява: достатъчна интензивност на абсорбция на кислорода от аериращия въздух и досорбция на газообразните метаболитни продукти; достатъчно малък градиент на концентрациите в зоната около клетката и средната концентрация на хранителните вещества в апарата; равномерно разпределение на биомасата и субстрата в обема на апарата. Разбъркването

неизбежно е свързано с механично въздействие върху клетките. Последствията могат да бъдат благоприятни, ако се разрушават клетъчни конгломерати и вредни, ако се разрушават или повреждат микробните клетки. Следователно за всеки конкретен процес на култивиране разбъркването действа лимитиращо в едно от следните три направления: масопреминаване газ-течност, масопреминаване течност-клетка, механично въздействие.

Оптималните стойности на основните процесни параметри, като температура, рН и степента на аерация, осигуряващи най-интензивно развитие на продуцентите и максимален синтез на целевите продукти, обикновено се определят експериментално за всяка конкретна двойка продуцент – биопродукт, като зависят от генетичните и физиологични особености на продуцентите, от състава на хранителните среди и избрания метод за култивиране.

Антибиотиците (АБ) са специфични нискомолекулни биологично активни вещества (БАВ), продукти на вторичния метаболизъм на различни организми или техни аналози и производни, които притежават висока физиологична активност и избирателно потискат и/или задържат развитието на определени микроорганизми, протозои и някои злокачествени образувания. До момента в науката са открити и описани голям брой АБ вещества, изолирани от микроорганизми, лишеи, висши и низши растения, растителни и животински клетъчни култури, от които около 150 се произвеждат и прилагат в практиката. Те са изключително хетерогенна група съединения, като липсва единен критерий за класификацията им.

В зависимост от вида на продуциращите ги организми:

- ✓ АБ, синтезирани от актиномицети – тетрациклин, стрептомицин, еритромицин и др.;
- ✓ АБ, синтезирани от плесенни гъби – бензилпеницилин, цефлоспорин С и др.;
- ✓ АБ, синтезирани от бактерии – бацитрацин, вискозин и др.

В зависимост от спектъра на действие:

- ✓ Антибактериални – действат на бактерии;
 - С тесен спектър на действие – действат само на Грам-положителни бактерии (бензилпеницилин, линкомицин, олеандомицин и др.);
 - С широк спектър на действие – действат и на Грам-положителни, и на Грам-отрицателни бактерии (стрептомицин, тетрациклин, карбеницилин и др.);
- ✓ Противогъбни – действат на дрожди и плесенни гъби (нистатин, амфотерицин В);
- ✓ Антипротозойни – действат на протозои (тилозин);
- ✓ Противотуморни – действат на някои злокачествени образувания (дауномицин, адриамицин).

В зависимост от типа (силата) на действие:

- ✓ АБ със статично действие (бактериостатично, фунгистатично, цитостатично) – само потискат развитието на чувствителните организми, без да ги убиват;
- ✓ АБ с цидно действие (бактерицидно, фунгицидно, цитоцидно) – убиват чувствителните организми.

Какъв ще бъде типът на действие на АБ, статично или убийствено, зависи най-вече от концентрацията, в която се прилага.

В зависимост от механизма на биологично действие:

- ✓ АБ, които инхибитори на синтеза на клетъчна стена (бензилпеницилин, цефалоспорин С, ванкомицин);
- ✓ АБ, които инхибират биосинтез на белтъци (тетрациклин, стрептомицин, еритромицин);
- ✓ АБ, които инхибират репликацията на ДНК (митомицин, рубомицин, новобиоцин);
- ✓ АБ, които инхибират нормалната пропускливост на клетъчната мембрана (нистатин, амфотерицин В и др.);
- ✓ АБ, които инхибират синтеза на пуринови и пиримидинови бази (саркомицин, аскозин);
- ✓ АБ, които инхибират клетъчното дишане (патулин, антимицин);
- ✓ АБ, които инхибират процеса окислително фосфорилиране (валиномицин, грамицидин);
- ✓ АБ, които действат като антиметаболити – структурни аналози на нормалните клетъчни метаболити (пурамицин, ацидомицин);
- ✓ АБ с имуномодулаторно действие (циклоспорин, рубомицин).

β -Лактамните АБ спадат към класа на пептидните и механизмът на действието им се основава на инхибиране синтеза на пептидоглюкана муреин, като необратимо нарушават интегритета на клетъчната стена при бактериите и в този смисъл действието им е бактерицидно. АБ от тази група инхибират транспептидазите и D-аланинкарбоксипептидазата, които катализират полимеризацията на пептидоглюкановата верига. За някои пеницилини е доказано инхибиращото действие по отношение и на ендопептидази и трансглюкозилази, локализирани в плазматичната мембрана на бактериите. Към β -лактамните АБ се отнасят: (1) пеницилини, цефалоспорици и

цефеми – продуцират се от плесенни гъби от родовете *Penicillium* и *Cephalosporium*; (2) карбапеними и цефамицини – продуцират се от представители от род *Streptomyces* и (3) монобактами – продуцират се от представители от род *Nocardia*. Биосинтетичните β -лактамни АБ се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове в комплексни хранителни среди, съдържащи по-трудно метаболизируеми въглеродни източници, като царевично нишесте, соев шрот, соево масло и др., защото леснометаболизируемите източници, като глюкоза, репресират продукцията на вторични метаболити. Всички АБ от този клас са външноклетъчни и се изолират от културалната течност след филтрационно отделяне на мицела. Пеницилините се изолират чрез течност-течна екстракция с бутилацетат, а цефалоспориините – чрез йонообменна сорбция. Биосинтетичните пеницилини и цефалоспориини се използват за получаване на полусинтетични производни с по-широк антимикробен спектър на действие, като ампицилин, амоксицилин и др.

Към класа на **хиноновите АБ** се отнасят линейни кондензирани полициклически АБ (тетрациклини), нафтохинони (антрациклини) и бензохинони. Тетрациклините представляват голяма група субституирани полиокси поликарбонилни съединения с октахидронафтаценова структура. Към тях се отнасят голям брой биосинтетични и полусинтетични представители, които съдържат еднаква система от четири кондензирани ядра – тетрациклин, хлортетрациклин, окситетрациклин и др. Тетрациклиновите антибиотици проявяват широкоспектърно бактериостатично действие и са активни спрямо коки, спирохети, рикетсии, хламидии и амеби. Не са активни спрямо бактерии от род *Proteus* и вида *Pseudomonas aeruginosa*. Механизмът на антимикробното им действие се основава на инхибиране на белтъчната биосинтеза при бактериите. Те преминават през OmpF и OmpC пориновите канали и под формата на положително заредени координационни комплекси с йони на двувалентни метали проникват и се натрупват в периплазматичното пространство на клетките. Там комплексите между АБ и металните йони се дисоциират и под формата на незаредени слабо лиофилни молекули тетрациклините свободно дифундират през липидния бислой и постъпват в цитоплазмата на клетките. В цитоплазмата настъпва хелатиране на антибиотика с двувалентни метални йони. Счита се, че точно под формата на комплекс с Mg^{2+} тетрациклините се свързват с акцепторния сайт на 30S субчастицата на рибозомата. Съществуват доказателства, че в процеса участва специален протеин S7, а мястото на свързване на антибиотика с рибозомалната субчастица става в участъка, в който се формира от базите G693, A892, U1052, C1045, G1300 и G1338. По този начин тетрациклините възпрепятстват свързването на аминоксил-тРНК комплекс с рибозомата. Установено е още, че тетрациклините инхибират металоензими, като аминоксил-тРНК-синтетаза, като образуват хелатни комплекси с двувалентните метали (Mg^{2+}), намиращи се в активния център на тези ензими. Вероятно по този начин те пречат и на образуването на аминоксил-тРНК комплекси. Биосинтетичните тетрациклинови антибиотици – хлортетрациклин, тетрациклин и окситетрацикли, се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове от видовете *S. aureofaciens* и *S. rimosus*, в комплексни хранителни среди. В състава на средите като въглероден източник се влагат глицерол, нишесте, растителни масла и липиди, малтоза и млечна киселина. От комплексните източници на азот широко приложение намират соевото брашно, соевият, памучният и фъстъченият шрот, царевичен и дрождев екстракт. Тетрациклините са външноклетъчни и се изолират от културалната течност чрез екстракция, йонообменна сорбция или утаяване под формата на комплексни соли с дву- и поливалентни метали при алкални стойности на рН.

Към групата на антрациклините се отнасят около 70 различни АБ, продуцирани главно от актиномицети – *S. peuceticus* и *S. coelerubiddia*. Повечето от тях действат антибактериално, но някои като дауномицина и неговите производни адриамицин и карминомицин, проявяват противотуморна активност. Митомицините са АБ от групата на бензохиноните, които имат близки структури (митомицин А, В и С) и подобно на антрациклините проявяват противотуморно действие. Най-важният представител от тази група е митомицин С, който се продуцира от щамове *S. caespitosus*. Антибиотикът притежава широк антибактериален спектър на действие, потиска развитието на рикетсии и проявява противотуморно действие спрямо ексудативни форми на саркома, аденокарциноми и меланоми. Механизмът на действието му се основава на инхибиране на процеса репликация на ДНК.

Всички **аминогликозидни АБ** съдържат в молекулата си цикличен многоатомен аминоксхол (аминициклитол), който е глюкозидно свързан с аминоксхарен остатък. В зависимост от вида на аминоксциклитола аминогликозидните антибиотици се разделят на: производни на стреп-

тамина (стрептомицин), производни на 2-десоксистрептамина (гентамицин, тобрамицин), производни на актинамина (спектиномицин) и др. Проявяват широк антимикробен спектър на действие, а бактерицидният им ефект се дължи на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига. От аминогликозидните антибиотици по-широко приложение намират биосинтетичните антибиотици стрептомицин, продуциран от *S. griseus*, гентамицин, от продуциран от *Micromonospora purpurea*, тобрамицин, продуциран *S. tenebrarius*, канамицин, продуциран от *S. canamyceticus* и някои техни полусинтетични производни като амикацин. Проявяват широк антимикробен спектър на действие, а бактерицидният им ефект се дължи на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига. Аминогликозидните АБ се асоциират с клетъчната повърхност чрез йонни връзки и дифундират през клетъчната стена в периплазматичното пространство, като процесът е по посока на концентрационния градиент, т.е. протича без разход на енергия. АБ преодолява цитоплазмената мембрана чрез електротранспортната система и навлиза в цитоплазмата (енергозависима фаза I). В цитоплазмата аминогликозидите се свързват към 30S рибозомната субчастица при нуклеотиди 911 – 915 от 16S рРНК в участък, известен като „регион на точността“. Необратимото свързване на антибиотика с 30S субчастицата в региона на точността води до синтеза на аномален инициращ комплекс, като фиксира 30S/50S рибозомния комплекс към стартовия кодон на иРНК. Това блокира нормалната трансляция на иРНК, индуцира преждевременна терминация на белтъчната биосинтеза и образуването на аномални функционално неактивни късоверижни белтъци. Тези функционално неактивни белтъци се включват в клетъчната мембрана и необратимо нарушават пермеабилитета ѝ, като благоприятстват за по-лесното навлизане на нови порции от антибиотика в клетката и по този начин се засилва бактерицидният ефект на аминогликозидите. Недостатък на тази група АБ е бързата проява на резистентност и високата им ото- и нефротоксичност. Това ограничава приложението на класическите аминогликозиди до резервни АБ в терапията на инфекциозните заболявания, причинени от чувствителни микроорганизми, но са получени и полусинтетични аминогликозиди с понижена токсичност. Аминогликозидите се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на продуцентите в комплексни хранителни среди. Като въглеродни източници се използват глюкоза, малтоза, но най-вече нишесте и декстрини, защото щамовете проявяват висока амилалитична активност. От комплексните органични източници на азот се влагат соево и рибно брашно, царевичен екстракт и слънчогледов шрот, а от неорганичните – амониеви соли и карбамид. Повечето аминогликозидни АБ се изолират от културалната течност чрез йонообменна сорбция, като в производствени условия процесът се осъществява в батерия от последователно свързани йонообменни колони.

Макролидите представляват голям клас АБ, които съдържат в молекулата си алифатен макроцикличен лактонен пръстен, свързан глюкозидно със захарен или аминозахарен остатък. По мащаба си на производство макролидните антибиотици заемат второ място след пеницилините. В зависимост от антимикробния си спектър на действие те се разделят на две групи: антибактериални и противогъбни, като последните са наречени полиени. Антимикробният спектър на действие на макролидите е сходен с този на пеницилините. Проявяват висока антимикробна активност спрямо Грам-положителни и някои Грам-отрицателни бактерии. Механизмът на действието им се основава на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига, като образуват комплекс с 50S субчастицата на рибозомата. Макролидните АБ се свързват с пептидилния участък на 50S субчастицата на рибозомата и правят невъзможно преминаването на растящия аминоксил-тРНК комплекс от аминоксилния към пептидилния участък, т.е. възпрепятстват придвижването на рибозомата по дължина на иРНК. По този начин се синтезират късоверижни и функционално неактивни белтъци. От групата на антибактериалните макролиди едни най-широко произвеждани по биотехнологичен път са еритромицин от *S. erythraeus*, олеандомицин от *S. antibioticus*, авермектин от *S. avermectilis* и тилозин от *S. fradiae*. Биосинтетичните макролиди се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове в комплексни хранителни среди, които съдържат глюкоза, нишесте, хидрол, царевично брашно и др. От комплексните органични източници на азот се използва главно соево брашно, защото не е установено царевичният екстракт да стимулира антибиотичната продукция. Антибактериалните макролиди са външноклетъчни и се изолират от културалната течност чрез екстракция с бутилацетат.

Полиеновите макролидни АБ са изградени от 20- до 44-членен лактонен пръстен, който съдържа система от 2 до 8 конюгирани двойни връзки и е глюкозидно свързан с аминозахарен

остатък микозамин. При някои полиени, като кандицидина и леворина, лактонът е свързан и с ароматен амин *p*-аминоацетофенон. В зависимост от броя на двойните връзки полиеновите антибиотици биват тетраени, пентаени, хексаени, хептаени и октаени. Механизмът на антимикробно действие на полиеновите АБ се основава на образуването на стабилни комплекси между АБ и стеролите в състава на клетъчните мембрани на еукариотните микроорганизми, което обяснява и липсата на антибактериална активност. Образованите комплекси формират трансмембранни канали (пори) в мембраната и променят пропускливостта ѝ по отношение на вода и редица йони, което е свързано с нарушение на нормалните метаболитни процеси в клетките и води до тяхната смърт. Освен противоогъбна активност, някои полиенови АБ проявяват и противотуморна активност. Приложението на полиените до известна степен се лимитира от тяхната неразтворимост във вода, нестабилност и токсичност. От тази група най-широко по биотехнологичен път се произвеждат нистатин от *S. noursei*, амфотерицин В от *S. nodosus* и леворин от *S. levoris*. Полиените се получават чрез тристепенно аеробно култивиране на продуцентите в комплексни хранителни среди. В състава им се влагат глюкоза, хидрол, нишесте, соево брашно и растителни масла, които имат стимулиращо действие върху продуктивността на културата. Този ефект се дължи на ненаситените мастни киселини, влизащи в състава на маслата. Полиеновите АБ се продуцират вътреклетъчно и след края на култивирането, мицелът се отделя от средата чрез филтрация под вакуум и се суши в сушилня с псевдокипящ слой. АБ се екстрахират от изсушения мицел и се концентрират под вакуум.

Анзамицините са макролактамни АБ, съдържащи в молекулата си ароматно ядро, към което е свързана в две отдалечени позиции алифатна поликетидна верига чрез амидна, етерна, и/или С-С връзка, наречена „анза“-връзка. Те се различават по вида на ароматното ядро, което може да бъде бензолно или нафталиново. Съединенията с бензолно ядро, като гелданамицин или анзамитоцин, са активни главно спрямо еукариотни организми, а тези с нафталинова структура имат само антибактериално действие. Към антибактериалните анзамицини се отнасят рифамицините, халомицините и стрептоварицините. Рифамицините притежават висока активност спрямо Грам-положителни бактерии и микобактерии и са по-слабо активни спрямо Грам-отрицателни бактерии. Не предизвикват кръстосана резистентност. Механизмът на антимикробното им действие се изразява в инхибиране репликацията на РНК. Първите природни рифамицини са изолирани във вид на АБ комплекс от 5 компонента от културалната течност на *Nocardia mediterranei*. Общ предшественик на всички антибиотични съединения от комплекса е рифамицин S или SV. Търговският препарат рифамицин, съдържа главно рифамицин В. За да се потисне образуването на по-слабо активните компоненти от комплекса и да се стимулира продукцията на рифамицин В, в състава на ферментационната хранителна среда се влага диетилбарбитурова киселина. АБ се получава в резултат на дълбочинно аеробно култивиране при интензивна аерация, температура 24 – 28°C за време 5 – 9 дни, в зависимост от състава на средата и конкретния щам-продуцент.

Инфекциозният процес е резултат от навлизането, размножаването и взаимодействието на патогенни микроорганизми в организма на гостоприемника, като клиничната му изява може да варира от латентна (субклинична) инфекция до ясно изразена инфекциозна болест. Развитието, протичането и тежестта на заболяването се определят в значителна степен от биологичните свойства на инфекциозните агенти, както и от наличието и изразеността на техните фактори на патогенност и вирулентност. Към настоящия момент са описани голям брой микроорганизми, способни да причиняват заболявания при човека, включително бактерии, гъбички, хелминти, вируси, приони и протозои, като този спектър остава динамичен и непрекъснато се разширява с идентифицирането на нови патогени.

Взаимоотношенията между макроорганизма и живеещите по и в тялото му микроорганизми се обозначават като **симбиоза** (от гр. *συμβίωσις* (*symbiosis*): *σύν* (*syn*) – заедно; *βίος* (*bios*) – живот). Сред симбиотичните взаимоотношения се различават три значими в медицински и инфекциозен аспект форми на съжителство: **коменсализъм**, **мутуализъм** и **паразитизъм** според ползата или вредата за всеки от участниците.

Коменсализъм – представлява форма на съжителство, при която единият от организмите извлича полза, а на другия не се причинява вреда. Повечето представители на нормалната микробиота при човека са коменсални микроорганизми. За тях различни участъци от човешкото тяло (напр. лигавици, кожа и др.) са естествена среда за обитание, в която използват достъпни хранителни вещества при добри условия за развитие, без да причиняват вреда на макроорганизма в норма.

Мутуализъм – партньорите в такива симбиотични взаимоотношения извличат взаимна полза. Пример са представители на нормалната микробиота при човека като *Lactobacillus* sp., които поддържат хомеостазата в червата и влагалището; *Escherichia coli* (непатогенни щамове), които синтезират витамин К и някои витамини от група В, подпомагат храносмилането и потискат развитието на болестотворни микроорганизми.

Паразитизъм – Потенциалните причинители на инфекции и инфекциозни заболявания използват паразитизма като форма на съжителство с макроорганизма. Това е вид симбиоза, при която един организъм (паразит) – бактерия, вирус, гъбичка или паразитно животно – живее върху или вътре в друг организъм (гостоприемник) и използва неговите ресурси за собственото си развитие и размножаване, като причинява вреда, заболяване или отслабване на гостоприемника. Паразитизмът може да се проявява в различни степени. **Облигатните (задължителни) паразити** могат да се размножават и да съществуват само в макроорганизма или в негови живи клетки. **Факултативните паразити** са микроорганизми, които могат да причиняват инфекции и да се държат като паразити, но същевременно запазват способността да живеят свободно в околната среда.

Човекът и висшите животни притежават сложна система от защитни механизми срещу паразитиращи микроорганизми, включваща вроден (естествен) имунитет и клетъчен и хуморален придобит (адаптивен) имунитет. Когато тези механизми са сериозно нарушени, заболяванията могат да причинят и микроорганизми, които в нормални условия не са вредни за здрави индивиди. Такива микроорганизми се наричат **опортюнисти**. Обикновено те живеят в околната среда, лесно се приспособяват и не са вискателни към хранителните вещества. Често опортюнистичните микроорганизми проявяват повишена устойчивост към антибактериални средства, особено в болнична среда.

1. Инфекция, инфекциозен процес, инфекциозна болест

Инфекция е комплексът от всички биологични процеси, които започват от момента на проникването и/или размножаването на микроорганизми в тъканите и органите на макроорганизма, независимо от това дали се развива или не инфекциозна болест. Инфекцията представлява състояние на заразеност на даден макроорганизъм с конкретен микроорганизъм, което се проявява чрез взаимодействието между макроорганизма и макроорганизма в условията на околната среда.

Инфекциозен процес е динамичното взаимодействие между макроорганизма и инфекциозния агент (бактерия, вирус, гъба, паразит или прион), което възниква след проникването, ко-

лонизацията и/или размножаването на микроорганизма в организма на гостоприемника и се развива под влиянието на специфични и неспецифични защитни механизми. В хода на този процес се реализират различни по степен и характер структурни, функционални и имунологични процеси, които могат да доведат до елиминиране на причинителя, персистиране на инфекцията или развитие на клинично изявено инфекциозно заболяване.

Инфекциозният процес протича обичайно в следните етапи: **проникване → адхезия/колонизация → инвазия/разпространение → имунен отговор → изход.**

1. Контакт и проникване на инфекциозния агент. Инфекциозният причинител навлиза в организма през т.нар. входни врати, като кожата и лигавиците на дихателната, храносмилателната или уrogenиталната система. На този етап от съществено значение са вирулентността на микроорганизма и състоянието на локалните защитни бариери на гостоприемника. Различните микроорганизми имат предпочитани входни врати, напр. *Staphylococcus aureus* – през кожата, Influenza virus – през лигавиците на дихателните пътища, а *Salmonella* spp. – през лигавиците на храносмилателния тракт.

2. Адхезия и колонизация. Микроорганизмите се прикрепват към клетките на гостоприемника чрез специфични структури – адхезини – и започват локално размножаване. В зависимост от специфичното взаимодействие с определени клетъчни рецептори те колонизират различни тъкани и органи, напр. *Escherichia coli* – лигавиците на уринарния тракт, а HPV (Human papillomavirus) – епителните клетки. Успешната колонизация е ключова предпоставка за развитието на инфекцията. Така *Pseudomonas aeruginosa* ефективно колонизира рани и белодробна тъкан, а HSV (Herpes simplex virus) – кожа и лигавици.

3. Инвазия и разпространение. Инфекциозният агент преодолява тъканните бариери и може да се разпространи локално или системно – по кръвен или лимфен път. *Mycobacterium tuberculosis* проявява силен тропизъм към белодробната тъкан, където високото съдържание на кислород създава благоприятни условия за размножаването му. Бактериите най-често атакуват алвеолите, предизвиквайки възпаление, некроза и образуване на грануломи. Те могат да навлизат и да се размножават в белодробните макрофаги, като инхибират нормалния процес на фагоцитоза. Паралелно се активират неспецифичните защитни механизми на гостоприемника.

4. Имуnen отговор на гостоприемника. Активират се както вроденият, така и придобитият имунитет. Развиват се възпалителни реакции и специфичен имунен отговор, насочени към ограничаване и елиминиране на инфекциозния агент.

5. Изход от инфекциозния процес. Инфекциозният процес може да завърши с пълно оздравяване, персистиране на причинителя (латентна или хронична инфекция), безсимптомно носителство или развитие на клинично изявено инфекциозно заболяване. Например при инфекция с HCV (хепатит С вирус) в около 80% от случаите се развива хронична инфекция, докато при морбили (Measles virus) след острата фаза и оздравяване не се наблюдава заразноносителство и се изгражда траен пожизнен имунитет.

Възникването и протичането на инфекциозния процес са тясно свързани със свойствата на етиологичния агент, състоянието на макроорганизма и условията на околната среда, при които се осъществява взаимодействието между микро – и макроорганизма.

Фактори, определящи възникването и развитието на инфекциозния процес, свързани с инфекциозните агенти. Факторите, свързани с инфекциозните агенти, които определят възникването и развитието на инфекциозния процес, се обуславят от биологичните свойства на микроорганизмите и тяхната способност да взаимодействат с организма на гостоприемника. Те определят дали проникването на даден микроорганизъм ще доведе до безсимптомна инфекция, локализиран инфекциозен процес или развитие на клинично изявена инфекциозна болест. При оценка на способността на микроорганизмите да предизвикват инфекциозен процес се анализират следните основни показатели: инфекциозна доза, входна врата на инфекцията, локализация на микроорганизмите в макроорганизма и пътища на разпространение.

Инфекциозна доза. Инфекциозната доза представлява най-малкото количество микроорганизми, което е необходимо за предизвикване на инфекциозен процес. Тя е количествен показател за инфекциозността на даден патоген и се използва за сравнителна оценка между различни микроорганизми или различни щамове на един и същ микроорганизъм. За експериментално определяне на инфекциозната доза се използват следните показатели: ID₅₀ (Dosis infectiosa 50%) – доза от инфекциозния агент, която причинява инфекция при 50% от експериментално заразените

животни; LD₅₀ (Dosis letalis media 50%) – доза от микроорганизма, която води до смърт на 50% от заразените експериментални животни.

Инфекциозната доза зависи от два основни фактора: степента на вирулентност на патогена и нивото на чувствителност на гостоприемника, което се определя от наличието на специфични рецептори за патогена и от имунния статус на организма. Високовирулентните микроорганизми са способни да предизвикат инфекция при значително по-ниска инфекциозна доза, докато при по-нисковирулентните патогени е необходим по-голям инокулум. Аналогично, при висока чувствителност на гостоприемника инфекцията може да възникне при по-малка доза от инфекциозния агент.

Входна врата на инфекцията. Входната врата на инфекцията представлява мястото, тъканта или органа, през които патогенът прониква в организма на гостоприемника. Инфекциозната доза на един и същ микроорганизъм може да варира значително в зависимост от входната врата на инфекцията, тъй като различните анатомични и физиологични бариери притежават различна степен на защитна ефективност. Класически пример за значението на входната врата е *Bacillus anthracis*, който може да предизвика инфекция при проникване през кожата, дихателните пътища или гастроинтестиналния тракт. Най-ниска инфекциозна доза е необходима при кожната форма на антракс, при която спорите проникват през нарушена кожна бариера. За развитие на инхалационен антракс е необходима по-висока инфекциозна доза, а за гастроинтестиналната форма – най-висока, поради действието на защитните механизми в храносмилателната система. В този смисъл инфекциозната доза нараства в реда: кожа < дихателни пътища < храносмилателен тракт.

Локализация на микроорганизмите в макроорганизма и пътища на разпространение. След проникването си в организма микроорганизмите могат да останат локализиращи в мястото на входната врата или да се разпространят към други тъкани и органи. Локализацията на патогена определя характера на инфекциозния процес – локална инфекция (напр. повърхностни кожни или лигавични инфекции), фокална (огнищна) или генерализирана инфекция. Разпространението на микроорганизмите в макроорганизма може да се осъществява по различни пътища, включително лимфогенен, хематогенен, невrogenен или чрез директно разпространение по съседство. Хематогенното разпространение може да доведе до бактериемия, вирусемия или фунгемия, както и до метастатични инфекциозни огнища в отдалечени органи. Способността на макроорганизма да преодолява локалните защитни механизми и да се разпространява системно е важен показател за неговата вирулентност и за тежестта на инфекциозния процес.

Резултати от взаимодействието между микроорганизма и макроорганизма. Взаимодействието между инфекциозния агент и организма на гостоприемника може да доведе до различни изходи – от липса на инфекция до възникване на инфекциозен процес. При ефективно действие на бариерните механизми и на вродения имунитет патогенът може да бъде елиминиран, без да се развие инфекциозен процес. В тези случаи защитна роля играят нормалната микробиота, механичните механизми за пречистване на организма (перисталтика, отделяне на урина, кашлица, издишване), както и секреторната активност на лигавиците.

При преодоляване на естествената резистентност на макроорганизма микроорганизмът прониква в тъканите и органите, размножава се и нарушава хомеостазата на организма. В този случай възниква инфекциозен процес, който включва сложни взаимодействия между патогена и специфичните имунни механизми на гостоприемника и може да доведе до развитие на клинично изявена инфекциозна болест.

Фактори, определящи възникването и развитието на инфекциозния процес, свързани с макроорганизма. Чувствителността (възприемчивостта) на макроорганизма към инфекции се определя от редица физиологични и биологични характеристики:

- Възраст – ранната детска и напредналата възраст са свързани с по-висока честота и тежест на инфекциите поради незрялост на имунната система и възрастово обусловена имunosупресия (имунно стареене).
- Пол и хормонален статус – половите хормони модулират имунния отговор; естрогените обикновено стимулират хуморалния и клетъчния имунитет, докато тестостеронът проявява предимно имunosупресивен ефект.
- Ендокринни нарушения – хипо- или хиперфункция на жлезите с вътрешна секреция може да наруши имунната хомеостаза и да повиши податливостта към инфекции.
- Физическо и хранително състояние – преумората, белтъчно-енергийният дефицит и недостигът на витамини и микроелементи отслабват вродения и придобития имунен отговор.

Фактори, определящи възникването и развитието на инфекциозния процес, свързани с външната среда и социалните условия на живот. Външната среда и социалният контекст оказват съществено влияние върху възникването и разпространението на инфекциозните заболявания:

- Климатични и сезонни фактори – температурните колебания и влажността влияят върху преживяемостта на патогените, активността на векторите и резистентността на макроорганизма.
- Екологични фактори – замърсяването и експозицията на токсични вещества увреждат защитните бариери и имунната система.
- Йонизиращо лъчение – високите дози радиация потискат хемопоезата и имунния отговор чрез увреждане на костния мозък и лимфоидните органи.
- Социални и икономически условия – гъстота на населението, условия на живот и труд, хранене, санитарно-хигиенни мерки и здрава инфраструктура са ключови за разпространението на инфекциите и възникването на епидемии.

II. Свойства на инфекциозните агенти – патогенност, вирулентност, инвазивност, токсигенност

Патогенност е присъща, качествена характеристика на микроорганизмите, определяща способността на даден микробен вид да причинява инфекциозно заболяване с клинично изразени симптоми във възприемчив гостоприемник при подходящи условия. Патогенността е генетично детерминирана и се реализира чрез комплекс от фактори, включително наличие на вирулентни фактори, инфекциозна доза, път на проникване, както и видът, възприемчивостта и общото състояние на гостоприемника. Следва да се отчита разликата между инфекциозност и патогенност. Не всяка инфекция води до развитие на заболяване, тъй като инфекцията може да протича субклинично или асимптоматично. Различните микроорганизми, както и отделни щамове, се характеризират с различна степен на инфекциозност и патогенност.

Вирулентност е количествена мярка за патогенността и отразява степента, с която даден микроорганизъм или щам причинява заболяване. Докато патогенността е качествено свойство (патогенен или непатогенен), вирулентността е относителна и варира между различни видове и щамове. Тя често се определя експериментално чрез показатели като инфекциозна доза (ID_{50}) и летална доза (LD_{50}). Вирулентността е променливо свойство и може да се понижи при процеси на **атеноуация**, настъпващи под влияние на химични (феноли, жлъчка, водороден пероксид), физични (УВ лъчи, йонизиращо лъчение, топлина, рН и др.) и биологични (пасиране през животни) фактори.

Инвазивност е способността на патогенните микроорганизми да проникват през епителните и тъканните бариери на гостоприемника, да се разпространяват в тъканите и органите и да се размножават в тях. Тя се осъществява чрез специфични инвазивни фактори, включително ензими и повърхностни структури, които улесняват преодоляването на локалните защитни механизми и тъканните бариери.

Токсигенност е способността на микроорганизмите да синтезират и освобождават токсини, които увреждат клетките и тъканите на гостоприемника или нарушават нормалните му физиологични функции. Тя се реализира чрез продукция на екзотоксини и/или ендотоксини и има съществено значение за клиничната тежест и симптоматиката на инфекциозните заболявания. Токсините могат да предизвикат локални или системни патологични ефекти, включително възпаление, интоксикация и органна дисфункция.

Контагиозност (заразност) е свойство на някои патогенни микроорганизми да се предават лесно от един гостоприемник на друг и да се разпространяват в чувствителни популации. Количествено степента на заразност може да се характеризира чрез контагиозен индекс, изразяващ дела на заразените индивиди сред изложените на контакт с източника на инфекция. Контагиозността варира от висока (напр. морбили, варицела) до ниска (напр. туберкулоза).

Инфекциозност и инфекциозен спектър. **Инфекциозност** е способността на микроорганизма да предизвиква инфекция в макроорганизма, независимо от наличието или отсъствието на клинични симптоми. **Инфекциозен спектър** е съвкупността от видове макроорганизми (хора, животни, растения), в които даден микроорганизъм може да предизвика инфекция. Той може да бъде широк – при патогени, инфектиращи различни видове гостоприемници (напр. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), или тесен – при микроорганизми, инфектиращи само един вид, напр. *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella Typhi*, *Neisseria gonorrhoeae*.

III. Фактори на патогенност и вирулентност

Патогенността и вирулентността на микроорганизмите се реализират чрез структурни приспособления и метаболитна активност, които осигуряват успех в инфекциозния процес. Инфекцията настъпва, когато патогенът достигне до гостоприемника, успее да се прикрепят към „входната врата“ на инфекцията, навлезе и завладее тъканите. Това включва процеси на инвазия, колонизиране и размножаване. Патогените използват различни механизми за избягване на естествените защитни реакции на гостоприемника, включително образуване на капсули, токсини и ензими, както и механично, химично и молекулно увреждане на тъканите.

Фактори за адхезия и колонизация. Адхезините са повърхностни молекули, които определят способността на микроорганизмите да се прикрепят специфично към клетките и тъканите на гостоприемника, да колонизират входната врата на инфекцията и да инициират инфекциозния процес. Те могат да бъдат белтъци, гликопротеини, липопротеини или полизахаридни структури, локализирани по бактериалната повърхност или върху вирусния капсид. Адхезините взаимодействат със специфични рецептори на клетките на гостоприемника по принципа „ключ–ключалка“, което определя тъканния и видовия тропизъм на патогените.

Бактериални адхезини:

- Фимбриални (пилусни) – свързани с пили; пример: фимбриални адхезини на *Escherichia coli*, участващи в инфекции на пикочните пътища.
- Афимбриални – интегрални мембранни или повърхностни белтъци, които осигуряват директен контакт с клетъчните рецептори; пример: протеин А (SpA) на *Staphylococcus aureus*, който се свързва с Fc-фрагмента на IgG, инхибира опсонизацията и фагоцитозата.
- Полизахаридни адхезини – важни за колонизацията, биофилмообразуването и персистирането на инфекции; примери: капсулни глюкоани на *Streptococcus mutans* (дексрани и мутани), които осигуряват прикрепване към зъбния емайл и формиране на биофилм; алгинат на *Pseudomonas aeruginosa*, подпомага адхезията към епителни повърхности и формирането на биофилм.

М протеин на *Streptococcus pyogenes* е афимбриален белтък с множество функции:

- адхезия – прикрепване към епителните клетки чрез взаимодействие с фибронектин.
- избягване на имунния отговор – инхибира опсонизацията и фагоцитозата чрез фактор Н на комплемента.
- имунопатогенност – антигенна вариабилност и молекулна мимикрия, които могат да предизвикат постстрептококови усложнения (напр. остра ревматична треска).

Вирусни адхезини:

Структурни вирусни белтъци, отговорни за първия етап на инфекцията – прикрепване към клетките на гостоприемника. Те могат да бъдат капсидни белтъци или гликопротеинови „шипове“ и взаимодействат със специфични клетъчни рецептори. Примери: хемаглютинин (НА) на вируса на грипа – свързва сialова киселина на епителните клетки на дихателните пътища; gp120 на HIV – свързва CD4 и корецепторите CCR5/CXCR4, определящи тропизма към Т-хелперите; Spike (S) протеин на SARS-CoV-2 – разпознава ACE2 рецептор; G гликопротеин на вируса на бяс – свързва никотинови ацетилхолинови рецептори.

Биофилмообразуване. Биофилмите представляват структурирани микробни съобщества, които се прикрепят към органични или неорганични повърхности, обградени от екзополимерен матрикс. В това състояние микроорганизмите съществуват като организирана общност, която се различава съществено от планктонната (свободноживееща) форма. Процесът на биофилмообразуване протича на етапи и включва първична адхезия на микроорганизмите към повърхността, последвана от микроколонизация, продукция на екзополимерен матрикс и формиране на зрял биофилм. Матриксът е съставен основно от екзополisahариди, белтъци и екстрацелуларна ДНК и осигурява механична стабилност на структурата, както и защита на микроорганизмите от неблагоприятни фактори на средата.

Биофилмът се разглежда като комплексен вирулентен фактор, тъй като обединява няколко ключови механизма, които улесняват преживяемостта и задържането на патогените в организма на гостоприемника, включително адхезия и колонизация на повърхности, избягване на имунния отговор и повишена толерантност към антимикробни средства. Биофилмите значително ограни-

чават достъпа на антитела, компоненти на комплемента и фагоцити, затрудняват проникването и ефективността на антибиотиците и създават условия за дълготрайно оцеляване на микроорганизмите. В резултат на това биофилмообразуването е тясно свързано с развитието на хронични, персистиращи и рецидивиращи инфекции.

Фактори за инвазия и разпространение. Инвазивността определя способността на патогените да проникват през епителни и тъканни бариери, да се разпространяват и да се размножават. Важни са специфични ензими и повърхностни структури, които разрушават междуклетъчните връзки и модифицират извънклетъчния матрикс. Примери: *Streptococcus pyogenes* – хиалуронидаза и стрептокиназа, които улесняват разпространението в съединителната тъкан (напр. некротизиращ фасциит); стрептокиназата активира плазминоген → плазмин → разграждане на фибрин. *Clostridium perfringens* синтезира α -токсин (фосфолипаза C), колагеназа, хиалуронидаза и ДНК-аза, осигуряващи тъканно увреждане при газова гангрена и хранителни токсикоинфекции.

Фактори за избягване на имунния отговор (имуноевазия). Патогените използват различни механизми на имуноевазия, чрез които избягват или заобикалят имунния отговор на гостоприемника. Механизми:

- Антифагоцитни – капсули, протеин А (*Staphylococcus aureus*) потискат опсонизацията и фагоцитозата (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*).
- Антигенна вариация – промяна на повърхностни антигени (*Neisseria gonorrhoeae*, *Trypanosoma brucei*, HIV).
- Вътреклетъчно оцеляване – блокиране на фаголизозомното сливане (*Mycobacterium tuberculosis*), избягване на лизозомни ензими (*Listeria monocytogenes*), персистиране в макрофагите (*Salmonella*).
- Молекулна мимикрия и ензими – IgA-протеази (*Neisseria*, *Haemophilus influenzae*), протеин А (*S. aureus*).
- Биофилмообразуване – механична защита, препятстване на имунното разпознаване (*Pseudomonas aeruginosa*, *S. epidermidis*).
- Секреторни системи – бактериални транспортери за доставяне на токсини, ефектори и инвазини (напр. тип III T3SS при *Salmonella*, тип IV T4SS при *Legionella*).

Фактори за персистиране и хронифициране. Персистирането и хронифицирането се дължи на комбинация от механизми:

- Избягване на имунния отговор – патогените могат да потискат или модулират имунния отговор чрез антифагоцитни фактори, ензими или имуносупресивни ефектори.
- Антигенна вариация – промяна на повърхностните антигени, която затруднява разпознаването от адаптивния имунитет.
- Вътреклетъчно оцеляване – някои микроорганизми живеят вътре в клетките на гостоприемника, като по този начин избягват антителата и фагоцитите.
- Биофилмообразуване – образуването на структурирани микробни общности с екзополимерен матрикс, които осигуряват механична и имуноевазивна защита.
- Антибиотична устойчивост и ниска метаболитна активност на персистентните клетки – позволява преживяване при лечение и неблагоприятни условия.
- Латентни форми на инфекция – вируси и някои бактерии могат да преминат в неактивна фаза с последваща реактивация.

Примери:

- *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* – инфекции, свързани с катетри и протези.
- *Pseudomonas aeruginosa* – хронични белодробни инфекции при муковисцидоза.
- Herpes simplex virus (HSV) – латентно оцеляване в нервните ганглии; реактивация → херпес.
- Varicella-zoster virus (VZV) – латентност и реактивация като херпес зостер.
- Human immunodeficiency virus (HIV) – вътреклетъчно персистиране в CD4⁺ Т-клетки.
- Hepatitis B и C вируси (HBV и HCV) – хронична инфекция на черния дроб → фиброза и цироза.

Генетична обусловеност на вирулентността. Вирулентността се определя основно от генетичния състав на микроорганизма. Специфични гени, кодиращи токсини, адхезини, капсули, ензими и секреторни системи, могат да се намират в хромозомите, плазмиди, бактериофаги или патогенни острови (pathogenicity islands). Много вирулентни гени се придобиват чрез фагова конверсия (интеграция на ДНК от лизогенни бактериофаги) или чрез преносими плазмиди, които често съдържат гени за токсини, адхезини и антибиотична резистентност. Генетични промени

чрез мутации, хоризонтален трансфер и рекомбинация позволяват адаптация към гостоприемника и околната среда. Примери:

- *E. coli* – Shiga токсин (Stx) от бактериофаги; плазмиди, носещи гени за резистентност към β -лактами.
- *Corynebacterium diphtheriae* – дифтерийният токсин (tox) от бактериофаги.
- *Vibrio cholerae* – холера токсин (ctxAB) от CTXф фаг; плазмиди с тетрациклинова резистентност.
- *Staphylococcus aureus* – вирулентни гени (токсини и адхезини) в състава на бактериофаги и плазмиди
- *Salmonella enterica* – патогенни острови и T3SS; плазмиди с антибиотична резистентност

1. Гъбите като причинители на микотични инфекции

Гъбите представляват еукариотни микроорганизми, които се различават съществено от бактериите по своята структура и жизнен цикъл. Клетъчната им стена съдържа хитин и глюкани, а не пептидоглюкан като при бактериите. Този факт определя и различния терапевтичен подход при лечението на микотичните инфекции. Гъбите са хетеротрофни организми, които получават енергия чрез разграждане на органични субстрати. В природата те играят важна роля в разграждането на органичния материал, но при определени условия могат да причинят инфекции при човека.

Морфологично гъбите се разделят на две основни групи: дрождеподобни (едноклетъчни форми) и мицелни (филаментозни форми). Дрождите се размножават чрез пъпкуване и формират отделни овални или кръгли клетки с размери 3 – 6 μm . При някои видове се наблюдава образуване на псевдохифи – вериги от удължени клетки, които не са се отделили една от друга и имат явно стеснение при септите. Истинските хифи са тръбовидни структури с диаметър 2 – 6 μm , които растат апикално и се разклоняват, формирайки мицел. При мицелните гъби хифите могат да бъдат септирани (с прегради) или несептирани (ценоцитни), което е важен диагностичен белег. Някои гъби притежават способността да променят морфологията си в зависимост от условията на средата – явление, наречено термален диморфизъм.

Съвременната таксономия разделя гъбите в няколко основни групи: мукормицети (отдел *Mucoromycota* – ценоцитни форми), аскомицети (отдел *Ascomycota* – септирани форми, включващи повечето патогенни видове) и базидиеви гъби (отдел *Basidiomycota* – рядко патогенни). От медицинска гледна точка по-важно е функционалното разделение на гъбите според тяхната екология и патогенен потенциал. Геофилните видове обитават почвата, зоофилните се асоциират с животни, а антропофилните са адаптирани към човешкия организъм. Някои гъби са първични патогени, способни да предизвикат заболяване при имунокомпетентни индивиди, докато други са опортюнистични патогени, които причиняват инфекции предимно при имунокомпрометирани пациенти. Гъбите могат да проникнат в организма чрез различни пътища – инхалация на спори, директна инокулация при травма, катетри и други медицински устройства, или ендогенно активиране на коменсална микрофлора.

Според анатомичната локализация микотичните инфекции се разделят на повърхностни (засягат само епидермиса или косата), кожни и субкожни инфекции, субкутанни инфекции и системни или дълбоки микози. Според патогенния потенциал те биват ендемични микози, причинени от първични патогени (хистоплазмоза, кокцидиоидомикоза, бластомикоза, паракокцидиоидомикоза), и опортюнистични микози (мукормикози, аспергилози, кандидози). Системните микози включват инфекции на вътрешни органи и тъкани, като белите дробове са най-честата „врата“ за навлизане. Основните опортюнистични патогени, включват *Candida* spp., *Aspergillus* spp., разред *Mucorales*, *Cryptococcus* spp., *Pneumocystis jirovecii*, *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. и *Trichosporon* spp.

2. Общи принципи на диагностиката на микотичните инфекции

Диагностиката на микотичните инфекции представлява комплексен процес, който изисква интеграция на клинични, епидемиологични, микробиологични, серологични, молекулярни и други данни. Нито един метод сам по себе си не е достатъчен за окончателна диагноза, поради което се налага мултидисциплинарен подход. Клиничната оценка включва анамнеза за имунен статус, географски район на пребиваване, експозиция към потенциални източници на инфекция, съпътстващи заболявания и медикаменти. Клиничната картина е често неспецифична, като симптомите могат да наподобяват бактериални или вирусни инфекции.

Директната микроскопия на клинични материали е първа и незаменима стъпка в диагностичния процес. Тя позволява бърза ориентация за наличие и морфология на гъбни елементи, което може да насочи терапията още преди културалната идентификация. За микроскопско изследване се използват различни препарати: нативен препарат с калиева основа (КОН 10-20%), която разтваря кератина и клетъчния материал, но запазва микотичната структура; препарат с Калкофлуор Уайт – флуоресцентно багроли, което се свързва с хитина и целулозата в клетъчната стена на гъ-

бите; хистологични оцветявания на тъканни проби (хематоксилин-еозин (HE), перйодна киселина по Шиф – PAS, метенаминово сребро по Гомори – GMS), които позволяват визуализация на хифите в тъкани и оценка на тъканната реакция. Специални оцветявания като Фонтана-Масон (за меланин) и Муцикармин (за капсула на *Cryptococcus*) се използват при специфични индикации.

Културалната диагностика остава златен стандарт за окончателна идентификация на етиологичния агент. Стандартните среди включват: Сабуро агар (SDA) със слабо кисело рН и високо съдържание на глюкоза, благоприятстващи растежа на гъбите; Мозъчно-сърдечен инфузионен агар (ВНІ), обогатена среда за термално диморфни видове и бавно растящи патогени. Специализирани среди като CHROMagar Candida позволяват бързо ориентировъчно разграничаване на най-честите видове от род *Candida* по цвета и морфологията на колонииите. Инхибиторна среда с циклохексимид (Mycosel, Mycobiotic agar) потиска растежа на сапрофитни замърсители. Култивирането се извършва на две температури: 25 – 30°C за мицелна фаза и 35 – 37°C за дрожева фаза при диморфни видове. Времето за растеж варира – от 2 – 5 дни за дрожди и бързо растящи плесенни гъби до 2 – 6 седмици за бавно растящи патогени. Идентификацията се основава на макроскопска морфология (цвет, текстура, скорост на растеж), микроскопска морфология (тип хифи, конидии, споруляция) и биохимични тестове (асимиляция и ферментация на въглехидрати).

Молекулярната диагностика придобива все по-голяма роля в съвременната медицинска микология. PCR базирани методи включват панфунгална PCR детекция (ITS регион на рибозомална ДНК) на широк спектър гъби и видово специфичен PCR (*Aspergillus*, *Mucorales*, *Candida*, *Cryptococcus*). Секвенирането (Sanger или Next Generation Sequencing) позволява точна видова идентификация. MALDI-TOF масова спектрометрия революционизира идентификацията на дрожди и някои плесенни гъби въз основа на протеинов профил с резултат за минути. Флуоресцентна *in situ* хибридизация (FISH) позволява бърза идентификация от позитивни хемокултури.

Мукормикозите, кандидозите и аспергилозите представляват три основни групи опортюнистични микотични инфекции с различна етиология, патогенеза и клинична презентация, но с общи характеристики – засягат предимно имунокомпрометирани пациенти, имат висока смъртност при дисеминирани форми и изискват бърза и точна диагностика за навременно лечение. Диагностичният процес изисква интеграция на клинични, образни, микробиологични, серологични и молекулярни методи. Директната микроскопия и културалната диагностика остават фундаментални, но съвременните серологични, антигенни и молекулярни методи значително повишават чувствителността и скоростта на диагностиката, особено при негативни култури или при пациенти на антифунгална терапия.

3. Мукормикози – етиология, патогенеза и диагностика

Мукормикозите са инвазивни, често фатални микотични инфекции, причинени от плесени от отдел *Mucoromycota*, разред *Mucorales*. Основните етиологични агенти включват *Rhizopus* spp. (най-чести, особено *R. arrhizus*), *Mucor* spp., *Rhizomucor* spp. (*R. pusillus*), *Lichtheimia corymbifera*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Apophysomyces elegans* и *Saksenaea vasiformis*. Различните видове имат различна географска разпространеност и клинична презентация. Род *Rhizopus* са повсеместно разпространени и причиняват повечето случаи в умерен климат, докато род *Apophysomyces* се среща предимно в тропични и субтропични региони и често е свързан с травматична инокулация. Мукормицетите са широко разпространени сапрофитни организми, които обитават околната среда и хранителни продукти. Те образуват многобройни спорангиеспори, които се разпространяват въздушно и могат да бъдат вдишани. Спорите на разред *Mucorales* са относително големи (3 – 11 µm), но могат да достигнат до долните дихателни пътища при масивна експозиция или при нарушено мукоцилиарно почистване на дихателните пътища. Инфекцията може да възникне и чрез директна инокулация при травма или чрез гастроинтестинален тракт при инфекция при новородени или чрез храна. Патогенезата на мукормикозите е тясно свързана с имунния статус на гостоприемника. Ключови аспекти на патогенезата включват аниоинвазивност – уникална характеристика на *Mucorales* е способността им активно да инвазират кръвоносни съдове. Хифите проникват през стените на артерии и вени, причинявайки тромбоза, съдова оклузия и тъканен инфаркт с последваща некроза. Усвояването на желязо е критично за растежа на *Mucorales* – те произвеждат сидерофори и усвояват желязо от хемоглобин и трансферин. При ацидоза и при повишен свободен серумен феритин (диабетна кетоацидоза) се улеснява достъпът до желязо. Бързият растеж на мицела с проникване през тъкани и съдове определя агресивния ход на заболяването. Некрозата на тъканите нарушава локалното кръвоснабдяване и ограничава достъпа на

антифунгални медикаменти и имунни клетки до огнището на инфекция. Неутрофилите играят централна роля в защитата срещу *Mucorales* чрез фагоцитоза и производство на реактивни кислородни радикали. При неутропения или функционален дефект на неутрофилите инфекцията прогресира бързо. Макрофагите също участват в ранна защита чрез разпознаване и фагоцитоза на спори. Клиничните форми на мукормикоза включват риноцеребрална – инфекцията започва в носните синуси и се разпространява към орбитата и мозъка, белодробна, кожна (след травма, изгаряния, окултни инжекции) – некротични лезии с черни струпеи, гастроинтестинална, дисеминирана и изолирани форми.

Диагностичният процес при мукормикоза включва клиничен анализ въз основа на рискови фактори и характерна клинична картина. Директната микроскопия на респираторни секрети, биопсичен материал или некротична тъкан е ключова. Характерни са широки (6 – 25 μm , средно 12 μm) несептирани или слабо септирани хифи с неправилна ширина и разклоняване под различни ъгли (често 90°), в контраст с род *Aspergillus*. Хифите са често сгънати и усукани поради липса на вътрешна опора, тъй като са несептирани. Оцветяването с метенаминово сребро по Гомори е вариабилно и хифите са по-добре видими с хематоксилин-еозин или оцветяване по Шиф. Характерна за разред *Mucorales* е вродената резистентност спрямо ехинокандини и някои азоли (вориконазол).

Отрицателния културален тест не изключва диагнозата (чувствителност 50 – 60%). Специални мерки включват внимателна пробоподготовка – тъканта трябва да се раздели механично, а не да се хомогенизира, тъй като мицелът се разрушава при смилане. Използват се стандартни среди без циклохексимид, който инхибира *Mucorales*, при температура 25 – 37°C. Времето за растеж е 1 – 5 дни. Характеристиките на колонииите включват бърз растеж, запълващ петритото; рехав подобен на вата мицел; цвят – първоначално бял, по-късно сив до кафяв или черен. Микроскопската морфология показва широки несептирани хифи; спорангии на върха на спорангиеносци; спорангиеспори вътре в спорангиите; ризоиди при някои родове (*Rhizopus*, но не при *Mucor*). Молекулярната диагностика чрез PCR от тъкан или респираторни проби и секвениране на ITS регион позволява видова идентификация. Налични са панели (AsperGenius, MucorGenius) за детекция директно от клинични материали. Хистопатологично изследване на биопсичен материал показва характерна ангиоинвазия – хифи в лумена на кръвоносни съдове; тромбоза и съдова оклузия; тъканна некроза и инфаркти; остра или смесена възпалителна реакция (при неутропения може да е минимална).

4. Кандидози – етиология, патогенеза и диагностика

Кандидозите са най-честите системни микотични инфекции. Те се причиняват от дрожди от род *Candida*, които са са коменсални организми в гастроинтестиналния тракт, оралната кухина, вагиналната мукоза и кожата. Те са хетеротрофи, които се размножават чрез пъпкуване и могат да формират псевдохифи и истински хифи при някои видове. Колонизацията е често първа стъпка към инфекция, като ендегенният източник е най-чест. Екзогенното придобиване се установява при здравни работници, замърсено оборудване или хранителни продукти. *Candida auris* има особена способност да персистира в болнична среда и да предизвиква вътреболнични огнища.

Патогенезата на кандидозата включва нарушение на нормалните бариери – увреждане на кожата или мукози, позволяващо навлизане в кръвообращението; нарушение на нормалната микробиота чрез широкоспектърни антибиотици, което елиминира конкурентните бактерии и позволява свръхрастеж на *Candida*; и имуносупресия, която намалява способността на организма да контролира коменсалната колонизация. Вирулентни фактори на *Candida albicans* включват морфологична пластичност (способност да превключва между дрождева и хифална форма – хифите са по-инвазивни), адхезивни молекули (Als протеини за прикрепване към епителни клетки и катетри), секреция на хидролитични ензими (протеинази и фосфолипази, които разграждат тъканни бариери), и формиране на биофилми върху катетри и импланти, които са резистентни към антифунгали и имунна защита. Клиничните форми на кандидозата са множествени. Мукокожната кандидоза включва орофарингеална кандидоза (млечница), езофагеална кандидоза (дисфагия, одинофагия), вулвовагинална кандидоза и кожна кандидоза (интертриго, пелени дерматит). Кандидемията (*Candida* в кръвта) често е свързана с премахване на централен венозен катетър и високо натоварване на организма.

Диагностичният процес започва с директната микроскопия на клинични материали (вагинални, орални, урина, респираторни секрети), като се очаква да покаже овални дрожди (3-6 μm)

с пъпкуване, псевдохифи с ясни стеснения при септите и истински хифи без стеснения. *Candida albicans* обикновено формира и псевдохифи, и истински хифи *in vivo*. *Candida glabrata* образува само малки овални клетки (2 – 5 µm) без хифи, често в групи. Оцветяването с Калкофлуор Уайт или по Грам (дрождите са Грам-позитивни) подпомага визуализацията. Хемокултурата е златен стандарт за диагностика на кандидемия, но има ограничения с чувствителност 50 – 70% при инвазивна кандидоза. Необходимо е адекватно количество кръв (20 – 30 ml от възрастни) и използване на автоматизирани системи. Времето за детекция е 24 – 72 часа за повечето *Candida* spp. От положителни хемокултури може да се направи бърза идентификация с MALDI-TOF MS (минути до час), или мултиплексна PCR. Културалната идентификация използва стандартни среди (Сабуро агар, Кръвен агар, хромогенен агар). Хромогенните среди са предпочитани, като позволяват начална идентификация по цвят на колонииите (*C. albicans* – зелено, *C. tropicalis* – синьо-зелено, *C. krusei* – розово). Времето за растеж е 24 – 48 часа при 35 – 37°C. Окончателната идентификация е чрез биохимични тестове (асимиляция и ферментация на въглехидрати – класически API Candida, API 20C), автоматизирани системи, MALDI-TOF MS или молекулярни методи за трудно идентифицируеми видове.

5. Аспергилози – етиология, патогенеза и диагностика

Аспергилозите се причиняват от представители на род *Aspergillus*. Етиологичните агенти включват *Aspergillus fumigatus* (най-чест, 50 – 70% от инвазивни инфекции), *Aspergillus flavus* (10 – 15%, често синузални и кожни инфекции), *Aspergillus niger* (5 – 10%, отоDOMикоза, пулмонални фибрози с калциево-оксалатни кристали), *Aspergillus terreus* (5 – 10%, резистентен към амфотерицин В), и по-редки видове като *A. nidulans* (при хронична грануломатозна болест) и *A. calidoustus*. *Aspergillus* spp. са сапрофитни плесенни гъби, разпространени в околната среда, зърнени храни и строителни материали. Образуват обилни безполови спори (2 – 3 µm), които се разпространяват въздушно. Здрави индивиди вдишват стотици спори на род *Aspergillus* дневно без клинични последици благодарение на ефективни защитни механизми. Патогенезата зависи от имунен статус, като при имунокомпетентни индивиди мукоцилиарно почистване предотвратява достигане до алвеолите. Алвеоларните макрофаги фагоцитират и унищожават конидиите, като неутрофилите играят критична роля в убиване на прорасли хифи чрез оксидативен взрив и дегранулация. При неутропения или дефект на неутрофилна функция конидиоспорите прорастват в хифи, които инвазират тъкани и кръвоносни съдове. Род *Aspergillus* се характеризира с ангиоинвазивност – хифите имат тропизъм към кръвоносни съдове и ги инвазират активно, прониквайки през ендотела. Това води до тромбоза, съдова оклузия, тъканна исхемия и инфаркти. Протеази и токсини улесняват проникването през тъкани и потискат локалния имунен отговор. При хронични форми се наблюдава грануломатозна реакция с фиброза. Конидиалните структури на спороносният апарат могат да се формират в аерирани кухни.

Диагностичният процес включва образна диагностика с високорезолуционна томография на белите дробове. Директната микроскопия на респираторни проби или биопсиен материал показва септирани хифи (3 – 6 µm диаметър) с дихотомично разклоняване при 45° ъгъл. Характерна радиална подредба на хифите, които растат като спици на колело от огнище към тъкан. Спороносни апарати с колумела, стеригми и конидии могат да се видят в аерирани кухни. Оцветяването с GMS или PAS показва ясно хифните структури. Културалната диагностика използва стандартни среди без циклохексимид при 25 – 37°C с време за растеж 2 – 5 дни. Колониите показват бърз растеж, различен цвят според вида (*A. fumigatus* – сиво-зелено, *A. flavus* – жълто-зелено, *A. niger* – черно), и кадифен или гранулиран външен вид. Микроскопската морфология показва септирани хифи, конидиефори (изправени, често със удебеляване в горната част), колумела на върха, стеригми (от колумелата директно или от метули) и верижки конидии от стеригмите.

6. Антимикотични средства

В клиничната практика за лечение на кандидози се използват четири основни групи антимикотични препарати – азоли, алиламини, ехинокандини и полиени, които се различават по структура и механизъм на действие. Изборът на конкретно антимикотично средство зависи от типа на засегнатия орган, от обхвата и хронификацията на инфекцията и особености на пациента.

6.1. Азоли – Азолните препарати като имидазол, бифоназол, кетоконазол, миконазол, флуконазол, вориконазол и др., са водещите лекарствени средства, използвани за борба с гъбичните инфекции. Те инхибират ензима 14α-деметилаза, който използва цитохром Р-450 като кофактор и

катализира деметилирането на ланостерола и превръщането му в ергостерол. Ергостеролът определя флуидността и пропускливостта на дрождевата мембрана. Натрупването на метилирани междинни метаболити като ланостерол, 24-метилендихидроланостерол, зимостерол и 14-метилфекостерол увеличава флуидността на мембраната и пропускливостта ѝ за калиеви йони и фосфати, което нарушава нормалното протичане на метаболитните процеси. Азолите инхибират и вътреклетъчната пероксидаза, като така количеството на H_2O_2 в клетката достига токсични нива. Тази група препарати са в състояние да инхибират и биофилми от медицински значими гъбички от род *Candida*. Недостатък на азолните препарати е, че те не действат изборително само на микроорганизми, а инхибират и биосинтеза на холестерол при бозайници, макар и в концентрации много по-високи от тези, които действат при дрождите, а също така към тях се развива резистентност.

6.2. Алиламини – Алиламините, като тербинафин и нафтифин, потискат биосинтеза на ергостерол в дрождевата клетка, но по химична структура и механизъм на действие се различават съществено от азолите. Алиламините потискат биосинтеза на ергостерол на много по-ранен етап от азолите, като инхибират ензима сквален епоксидаза. По този начин в мембраната намалява количеството на ергостерола и се натрупват значителни количества сквален, които достигат токсични нива. Токсичността за дрождите се дължи на високите нива на сквален, а не намаленото съдържание на ергостерол и увеличената пропускливост на мембраната. Предимство на алиламините е, че те действат на някои азол-устойчиви щамове от род *Candida*, но в същото време проявяват кръстосана резистентност с флуконазол.

6.3. Ехинокандини – Мишена за действието на ехинокандините като капсофунгин, микафунгин и анидулафунгин е β -1,3-глюкана, който е характерен компонент на клетъчната стена на гъбичките, което предполага селективност на действието им. Ехинокандините са неконкурентни инхибитори на β -1,3-глюкан синтезата като по този начин потискат синтеза му в клетките. Страничен ефект от инхибирането на ензима, освен понижаване съдържанието на ергостерол и ланостерол, е и увеличаване съдържанието на хитин в дрождевата клетъчна стена. В резултат на това в нея настъпват ултраструктурни промени съпроводени с изтъняване на клетъчната стена, невъзможност за отделяне на пъпките от майчината клетка, осмотична чувствителност и лизис. Продължителната употреба на ехинокандини може да има хепатотоксичен или ембриотоксичен ефект. Сред основните пациентски недостатъци на ехинокандините се явява това, че те са само под формата на препрати за венозна инфузия, които се прилагат в болнични условия.

6.4. Полиенови антибиотици – До откриването на азолите, макролидните ароматни полиенови антибиотици като амфотерицин В, нистатин и кандицидин са основен избор в терапията на системните микози. Механизмът им на действие се изразява в увеличаване пропускливостта на клетъчната мембрана. Хидрофобната част от антибиотичната молекула се свързва с ергостерола в дрождевата мембрана и води до образуване на хидрофилни пори. През тях дрождите губят калиеви и фосфатни йони, и други важни фосфорилирани съединения, което нарушава нормалните метаболитни процеси в клетката и води до нейната смърт. Основен недостатък на полиеновите антибиотици е сравнително ниският им терапевтичен индекс, тъй като трудно достигат необходимите ефективни концентрации в организма и проявяват нефро- и хепатотоксичност. Независимо от това полиеновите антибиотици се използват като резервни в терапията на инвазивните микози.

Типът обединява над 6000 вида изключително паразитни едноклетъчни, по-голямата част от които са вътреклетъчни паразити както в безгръбначни, така и в гръбначни животни (включително и по човека).

Характерна морфологична особеност на спорите е наличието на т. нар. апикален комплекс от органели, улесняващи проникването на паразитите в клетките на гостоприемниците. Той се състои от полярен пръстен, коноид, роптрии, микронемии и субпеликулни микротръбички.

Всички спорови имат сложни жизнени цикли и голяма продуктивност. При много видове съществува редуване на безполово размножаване, полов процес и спорогония. Безполовото размножаване се осъществява чрез множествоно делене и се нарича шизогония. Тя се извършва в клетките на различни органи на гостоприемниците. При шизогонията се получават голям брой едноядрени индивиди, наречени шизонти или мерозоити, които нападат нови клетки на гостоприемника, като процесът може да се повтаря многократно. Половият процес е изогамна или анизогамна копулация. Той се изразява в сливането на цели физиологически зрели индивиди (гамонти) или на мъжки и женски гамети и образуване на зигота, която след обвиване с още една или няколко защитни обвивки, се превръща в ооциста. При повечето спорови ооцистите се изхвърлят във външната среда, където продължават развитието си, и чрез спорогония в тях се образуват една или повече спори (спороцисти) с множество спорозоити. Заразяването на нови гостоприемници става обикновено чрез поглъщане на спори или ооцисти, като спорозоитите излизат извън спората и с помощта на апикалния комплекс проникват в клетките на гостоприемника и започват безполово размножаване (шизогония). При друга част от спорите (например кръвните) зиготата не се изхвърля във външната среда. При тях пренасянето на паразитите от един гостоприемник в друг се осъществява с помощта на вектори (различни кръвосмучещи безгръбначни животни, в които най-често се извършва половото размножаване на спорите). Следователно, гостоприемникът, в който се извършва половият процес на паразита, се нарича краен, а междинен е този, в който се извършва безполовото размножаване.

Повечето спорови са обединени в едноименния подтип Sporozoea, който включва три класа: Gregarinia (Грегариини), Coccidia (Кокцидии) и Naematizoea (Кръвни спорови). Важно ветеринарно и медицинско значение имат последните два класа.

Клас Coccidia – Кокцидии

Към този клас се отнасят вътреклетъчни паразити в червата на безгръбначните животни и в епитела на вътрешните органи на гръбначни животни и човека. Тези вегетативни форми са неподвижни, докато екстрацелуларните (извънклетъчните) спорозоити и мерозоити могат да се движат активно. За жизнения цикъл на голям брой кокцидии са характерни три етапа: шизогония, гаметогония и спорогония. Кокцидите са групирани в няколко разряда, въз основа на жизнения цикъл и броя на спорозоитите в спороцистата. Важно ветеринарно и медицинско значение имат представителите на разред същински кокцидии.

Разред Eucoccidia – Същински кокцидии

Към този разред се отнасят по-голямата част от видовете на клас Кокцидии. По време на гаметогонията макро- и микрогаметите при едни видове се образуват в една клетка на гостоприемника, а при други – в различни клетки. В резултат на копулацията на макро- и микрогаметите се получава зигота, която се обвива в допълнителна обвивка и се превръща в ооциста. Интерес от медицинска гледна точка представлява *Toxoplasma gondii*, който причинява заболяването токсоплазмоза.

Токсоплазмоза

Причинител на заболяването е едноклетъчният интрацелуларен паразит *Toxoplasma gondii*, който съществува в три форми: вегетативна (трофозоит, тахизоит), циста (брадизоит) и ооциста.

Вегетативната форма прилича на полумесец или на лимоново резенче и е с дължина 4 – 7 μm . Паразитира вътреклетъчно и се размножава безполово (чрез надлъжно делене) и полово. Цистите имат сферична форма и съдържат голям брой бразидиозити. Размерите им варират от 50 до 200 μm в диаметър. Локализирани са в различни тъкани (мускули, ЦНС и др.) и органи на междинните гостоприемници. Освен истински цисти, които имат собствена обвивка, могат да се образуват и псевдоцисти. Ооцистите са с овална или кръгла форма и диаметър от 9 – 14 μm . Те са незрели и чрез фекалиите на котките се изхвърлят във външната среда, където при благоприятни условия (влага, кислород и топлина) се развиват в зрели ооцисти. Във всяка зряла ооциста се получават по две елипсовидни спороцисти, съдържащи по четири спорозоити.

Биологичният цикъл на *T. gondii* преминава през три етапа: шизогония, гаметогония и спорогония. Той се осъществява с участието на два гостоприемника: краен – котката и близки до нея видове от сем. Felidae (Коткови) и междинен – предимно гризачи, други бозайници (включително човека), птици и влечуги. Крайният гостоприемник се заразява при изядане на междинните гостоприемници или техни органи, съдържащи цисти. При заразяване с цисти в стомаха на котката обвивката на цистата се разрушава и в лумена на червото попадат съдържащите се в нея инвазиоспособни форми – бразидиозити. Те навлизат в клетките на чревния епител и се размножават безполово (шизогония), превръщайки се в мерозоити. Там те се делят многократно, като разрушават епителните клетки и навлизат в нови такива. Чрез това безполово размножаване инвазията се разпространява в чревните епителни клетки на котката. След няколко шизогонии се образуват микро- и макрогамети (гаметогония), които се оплождат (копулация) и в края на половия процес зиготите се превръщат в ооцисти. Те са незрели и чрез котешките фекалии се изхвърлят във външната среда, където при благоприятни условия (влага, кислород и топлина) се развиват в зрели ооцисти. Процесът на зрееене на ооцистите се нарича спорогония и трае 1 – 5 дни. Чрез него във всяка зряла ооциста се получават по две елипсовидни спороцисти, съдържащи по четири спорозоити.

Междинните гостоприемници се заразяват при поглъщане на храна или вода, контаминирана със зрели ооцисти от котка, или чрез консумация на сурово месо и животински продукти, съдържащи цисти или псевдоцисти на *T. gondii*. Освободените спорозоити проникват през чревната стена и чрез кръвния ток се установяват в клетките на черния дроб, бъбреците, белите дробове, сърцето, ЦНС и мускулите. Там се размножават по безполов път, при което се образува вегетативната форма на паразита. Размножаването на тахизоитите се осъществява чрез ендодиогения – вътрешно пъпкуване, при което от майчината клетка се получават две дъщерни. В резултат на многократно последователна ендодиогения се унищожават голям брой гостоприемникови клетки и на тяхното място се образуват големи струпвания от паразити, наречени псевдоцисти. Постепенно интензивността на ендодиогенията намалява и размножилите се паразити не разрушават клетката, а се обвиват от плътна обвивка. Получава се истинска циста, която има почти сферична форма и съдържа стотици бавно делящи се паразити, наречени бразидиозити. Тези цисти могат да просъществуват до края на живота на междинния гостоприемник, без да предизвикват заболяване. Те представляват латентни инвазиоспособни форми и се локализируют най-вече в мозъка и мускулите. Крайните гостоприемници – котките се заразяват при поглъщане на цисти или псевдоцисти от инвазирани гризачи. С това биологичният цикъл на развитие на паразита се затваря.

Човекът, като междинен гостоприемник, може да се зарази с *T. gondii* по различни пътища, но като основен се приема пероралният. Заразяването се осъществява при консумиране на недобре термично обработено месо и месни продукти, съдържащи цисти или псевдоцисти; при поглъщане на ооцисти, отделени от заразени котки при пряк контакт или чрез замърсени ръце, плодове и зеленчуци. Възможно е и трансплацентарно заразяване на плода. Макар и рядко, заразяването може да стане чрез кръвопреливане или през кожата и лигавицата.

Болестта, причинена от *T. gondii*, се нарича токсоплазмоза. В зависимост от начина на заразяване (чрез външни източници или по време на бременността) тя се дели на придобита и вродена. Придобитата токсоплазмоза се проявява различно в зависимост от броя на паразитите и тяхната локализация в засегнатите органи, както и от съпротивителните сили на човека. В едни случаи протича под формата на пневмония, заболяване на главния и гръбначния мозък, черния дроб, бъбреците, сърцето, а в други протича тежко и може да доведе до смърт. Вродената токсоплазмоза се наблюдава при трансплацентарно пренасяне на тахизоити от майката у плода. Проявите ѝ зависят от стадия, в който настъпва увреждането на плода. Характеризира се с хидроцефалия на фетуса, калцификати в мозъка, хориоретинит и забавено нервно-психично развитие след раждането. Наблюдават се още хепато- и спленомегалия, спонтанни аборти и мъртви раждания.

Токсоплазмозата се доказва много трудно чрез установяване на паразита в тъканни препарати. Най-важно място в диагностиката заемат серологичните методи, чрез които се откриват специфични антитела. При повишаване на титъра на IgG антителата и при наличие или увеличение на IgM може да се предполага наличие на остра форма на токсоплазмоза. PCR е алтернативен високоспецифичен и чувствителен метод за откриване на ДНК на *T. gondii* в кръвта, ликвора, амниотичната течност и други биологични материали.

Клас Naematozoa – Кръвни спорови

Към този клас принадлежат паразитни спорови, при които част от жизнения цикъл преминава в хепатоцитите (чернодробните клетки) и еритроцитите на гръбначни животни и човека. В тези клетки протича безполовото им размножаване. Гаметогонията и копулацията се осъществяват в храносмилателната система на кръвосмучещи двукрили насекоми и кърлежи. За разлика от кокцидиите, при които спорогонията протича във външната среда, при кръвните спорови тя се извършва в тялото на кръвосмучещите кърлежи и насекоми, които се явяват вектори на тези паразитни едноклетъчни. В зависимост от наличието или отсъствието на пигмент в цитоплазмата на шизонтите, видовете от този клас са обединени в два разряда: Naemosporida и Piroplasmida.

Разред Naemosporida – Кръвни спорови

Към разряда се отнасят голям брой кръвни едноклетъчни паразити, чийто жизнен цикъл се характеризира със смяна на гостоприемниците и при това във външната среда не попада нито един стадий. Междинни гостоприемници са различни гръбначни животни и човекът, а крайни – кръвосмучещи насекоми. Към разряда принадлежи и род *Plasmodium*, обединяващ над 156 вида кръвни паразити на гръбначни животни. Тук се отнасят и причинителите на най-значимите тропически болести при човека – малариите.

Малария

Причинители на маларията са едноклетъчни интрацелуларни паразити от род *Plasmodium*. У човека паразитират четири вида маларийни паразити, които причиняват различни видове малария: *Plasmodium vivax* – malaria tertiana (vivax malaria, тридневна малария); *P. ovale* – ovale malaria (тридневна малария); *P. falciparum* – malaria tropica (falciparum malaria, тропическа малария) и *P. malariae* – malaria quartana (malariae malaria, четиридневна малария).

Биологичният цикъл на всички маларийни плазмодии преминава през три етапа: шизогония, гаметогония и спорогония. Той се осъществява с участието на два гостоприемника: краен – женски комари от род *Anopheles* и междинен – човек. Шизогонията и образуването на незрели полови клетки (гаметоцити) се осъществява у човека. Незрелите мъжки полови клетки са по-малки и се наричат микрогаметоцити, докато незрелите женски полови клетки са по-големи и се наричат макрогаметоцити. Шизогонията на маларийните плазмодии в чернодробните клетки се означава като тъканна (екзоеритроцитна, прееритроцитна), а тази в червените кръвни клетки – като еритроцитна (ендоеритроцитна). Гаметогонията и спорогонията се извършват у комара.

Когато женски комар от род *Anopheles* смуче кръв от маларийно болен, в храносмилателната му система заедно с кръвта попадат микро- и макрогаметоцити. Тук те се превръщат в зрели гамети (микро- и макрогамети), които копулират и се превръщат в зигота. Отначало тя е кръгла, но скоро се удължава и се превръща в подвижна клетка, наречена оокинета. Последната преминава през стомашната стена, локализира се под външната ѝ обвивка, под която се обгръща с още една обвивка и се превръща в ооциста. Следва спорогония, по време на която чрез множество делене на ядрото на много части и обособяване на цитоплазмата около всяка от тях в ооцистата се образуват дълги вретеновидни спорозоити. Ооцистата се спуква и спорозоитите с хемолимфата попадат в слюнчените жлези на комара. В това състояние той е инвазиоспособен и при следващо кръвосмучене инокулира спорозоитите в тъканите на здравия човек и така го заразява.

Тъканната (екзоеритроцитна) шизогония започва с навлизането на спорозоитите в кръвта на ухапвания от заразен комар човек. След около един час с кръвния ток те попадат в паренхимните клетки на черния дроб и започват да се размножават. Чрез множество делене от тях се получават хиляди тъканни мерозоити. Това е т. нар. първична екзоеритроцитна шизогония. Една част от тъканните мерозоити се развиват веднага в хепатоцитите и постъпват в еритроцитите, поради което се наричат тахиспорозоити. Те предизвикват заболяване с къс инкубационен период. Друга част обаче не започват развитието си, а живеят в хепатоцитите месеци и години,

поради което се наричат брадиспорозоити. След време те могат да извършат вторична екзоеритроцитна шизогония. Брадиспорозоитите предизвикват малария с дълъг инкубационен период и причиняват рецидивите при различните видове маларии. Единствено при тропическата малария няма рецидиви, тъй като *P. falciparum* образува само тахиспорозоити, които веднага след първичната тъканна шизогония постъпват в кръвта. При него не се образуват брадиспорозоити и липсва вторична тъканна шизогония.

С образуването на тъканните мерозоити се разрушават голям брой чернодробни клетки. Характерна особеност на тъканната шизогония е и липсата на пигмент в цитоплазмата на всички маларийни плазмодиуми.

Еритроцитната (ендоеритроцитна) шизогония започва с навлизането на тъканните мерозоити в еритроцитите чрез рецепторно-медирана ендоцитоза. Този етап от биологичния цикъл на различните видове плазмодиуми протича със съществени различия, докато спорогонията и тъканната шизогония се извършват почти еднакво при всички тях. През този стадий плазмодиумите имат две основни форми: едноядрена, наречена трофозоит, и многоядрена (с две и повече ядра) – шизонт. По време на своето развитие трофозоитът последователно придобива морфологични характеристики, въз основа на които са обособени три негови междинни форми: пръстенен трофозоит, амевовиден трофозоит и зрял трофозоит, а за шизонта – две междинни форми: незрял (делящ се) шизонт и зрял шизонт (морула).

- пръстенен трофозоит – паразитът нараства като образува голяма вакуола във вътрешността си. По периферията ѝ (като халка на пръстен) се разполага тънка ивица от цитоплазма с периферно разположено ядро (като камъче на пръстена).
- амевовиден трофозоит – цитоплазмата на пръстения трофозоит се увеличава за сметка на намаляващата вакуола и започва да издава псевдоподи, чрез които се движи в еритроцита и се храни с неговия хемоглобин. В цитоплазмата на амевовидния трофозоит се наблюдават гранули от тъмнокафяв пигмент – хемозоин, получен вследствие от разрушаването на хемоглобина от ензимите на паразита. Петнистост се наблюдава и в опаразитения еритроцит, като петната са с определена форма, големина, брой и наименование при различните видове маларийни плазмодиуми. Този стадий има диагностично значение при диференцирането на отделните видове, защото те се различават по компактност на цитоплазмата и по наличие на псевдоподи. Амевовидният трофозоит на *P. malariae* е с лентовидна форма.
- зрял трофозоит – плазмодиумът нараства почти колкото еритроцита, заобля се и спира да образува псевдоподи. Загубва подвижността си, вакуолата му изчезва и пигментът се събира на 1 – 2 места. След този стадий ядрото се дели и формите се наричат шизонти.
- незрял (делящ се) шизонт – ядрото се дели и се виждат две или повече ядра, но цитоплазмата е обща.
- зрял шизонт (морула) – ядреното делене е завършено и цитоплазмата е разпределена около всяко ядро. Образувани са мерозоити, които са разположени по характерен начин в еритроцита около купчинка пигмент. Този стадий има важно диагностично значение, защото всеки вид малариен паразит има определен брой мерозоити, разположени по характерен за вида начин.

Еритроцитните мерозоити са с кръгла форма и големина 1 – 2 μm , а в средата им е разположено кръгло или овално ядро. Еритроцитите се разрушават и освободените мерозоити навлизат в нови червени кръвни клетки и еритроцитната шизогония се повтаря. Еритроцитната фаза при *P. vivax* продължава 48 часа; при *P. ovale* – 48 часа; при *P. falciparum* – 48 часа и при *P. malariae* – 72 часа. След образуване на няколко генерации мерозоити част от тях дават начало на незрелите полови клетки – микро- и макрогаметоцити. Гаметоцитите на *P. vivax*, *P. ovale* и *P. malariae* са с кръгла или овална форма, а тези на *P. falciparum* имат полулунна форма. Гаметоцитите нямат вакуола, не издават псевдоподи и не се движат, но съдържат пигментни зърна. Когато маларийно болният има гаметоцити в периферната си кръв, той е инвазиоспособен за женския малариен комар, с което биологичният цикъл на паразита се затваря.

Освен по трансмисивен път, чрез специфичен преносител (анофелен комар), маларията може да бъде предадена и чрез други механизми: трансплацентарно, при кръвопреливане, чрез медицински инструменти, при трансплантация на тъкани и органи.

Маларията е една от най-разпространените тропически паразитни болести в света. Има ендемично разпространение в над 100 страни в Африка, Азия, Централна и Южна Америка, някои

от Карибските острови и Океания. През 1965 г. СЗО обявява България за страна, в която маларията е напълно ликвидирана, но връзките ни със страни от тропическите и субтропическите райони водят до ежегоден внос на малария. В периода от 1965 до 2013 г. у нас са регистрирани 2978 случаи на внесена малария от четирите вида. Този процес на внасяне на малария в бъдеще ще продължава и епидемиологичната опасност от местно разпространение остава.

Основни клинични прояви на маларията са цикличните температурни пристъпи, анемията и хепатоспленомегалията. Маларийният пристъп настъпва внезапно, продължава 6 – 12 часа и протича в три фази: втрисане (студени тръпки, чувство на студ), висока температура (40 – 41 °C) и обилно изпотяване. След тях настъпва безтемпературен период, който при *P. vivax*, *P. ovale* и *P. falciparum* е 48 часа, а при *P. malariae* – 72 часа, след което пристъпът се повтаря. Масивната хемолiza води до анемия. След 2 – 3 пристъпа се установява хепатоспленомегалия.

Диагнозата „малария“ се поставя на базата на епидемиологични данни за пребиваване в страни с тропически и субтропически климат, типичната клинична симптоматика (циклични температурни пристъпи, анемия, хепатоспленомегалия) и лабораторни изследвания (хематологични, биохимични и паразитологични), като решаващо значение има доказването на маларийните паразити в кръвните препарати (кръвна натривка и дебела кръвна капка).

Разред *Piroplasmida* – Пироплазми

Към този разред се отнасят вътреклетъчни паразити по всички гръбначни животни. Най-голям брой видове обаче паразитират в бозайниците. Апикалният комплекс при тези едноклетъчни е без коноид. Развитието им протича със смяна на гостоприемниците. Векторите обикновено са кърлежи от семействата Ixodidae и Argasidae. Заразяването с различните видове пироплазми се осъществява при кръвосмученето. В слюнчените жлези на кърлежите се намират спорозоитите на паразита, образувани след копулацията на гаметите в червото и последвалата спорогония, които се внасят в тялото на гостоприемника (т.е. инокулативно). Те попадат в еритроцитите, където се превръщат в трофозоити. В резултат на шизогония, за разлика от другите спорови, се получават малък брой мерозоити. Заразяването на кърлежите става при поемането на заразени с пироплазми еритроцити. В епителните клетки на червото, чрез шизогония се получават няколко мерозоита, които нападат нови клетки. Част от тях, попаднали в слюнчените жлези на кърлежа, се превръщат в спорозоити.

Пироплазмите причиняват тежки заболявания по домашните животни. Особено важно значение имат видовете от род *Babesia* и род *Theileria*. *Babesia bovis* паразитира по говедата, *Babesia ovis* – по кози и овце. Заразяването е съпроводено с разрушаването на еритроцитите и кръвопиене. Първите открити причинители на заболявания при хората са *B. microti* (паразит по гризачите) в Америка и *B. divergens* (паразит при говедата) в Европа.

1. Природоогнищни инфекции

Природната огнищност е явление, при което причинителят на заболяване, неговият преносител и животин-резервоар на причинителя в продължения на поколения съществуват в природата. Природната огнищност е характерна за много заболявания – вирусни – Хеморагични трески, рикетсиози – Кърлежови петнисти трески, вкл. Марсилска треска, борелиози – Кърлежов възвратен тиф, Лаймска болест, бактериални – Туларемия и др. Природните огнища (ПО) са съставени от биотични и абиотични компоненти. Основната триада на биотичните компоненти включва причинител, вектор преносител и животин-гостоприемник. Абиотичните компоненти са фактори от околната среда. ПО може динамично да се променя и продължителността на неговото съществуване зависи от редица условия – жизнения цикъл на преносителя, численост на популацията на преносителя, срокове на размножаване, способност за запазване и предаване на причинителя, степен на устойчивост към неблагоприятни фактори на външната среда. Целенасочената човешка дейност може да разшири или потуши тези огнища.

2. Кърлежово-преносими инфекции

а) ККХТ – Конго-Кримска хеморагична треска (ККХТ)

Определение: ККХТ е вирусна трансмисивна, особено опасна природно-огнищна инфекция, която се характеризира с тоksi-инфекциозен (ТИС), кранио-фарингеален синдром (КФС) и животозастрашаващи кръвоизливи. Вектори са кърлежи от рода *Hyalomma marginatum*. **Етиология:** ККХТ се причинява от *Congo Crimean haemorrhagic fever virus*, род *Orthonairovirus*, семейство *Nairovirus*, разред *Bunyavirales*. Виремията у човек продължава 10 дни, а у кърлежите е пожизнена. **Епидемиология:** Основен механизъм на предаване – трансмисивен, при ухапване от кърлеж във всяка фаза, освен яйце. Вирусът се съдържа във всички течности на кърлежа и заразяването е чрез кръвосмучене и попадане на слюнка в раничката, възможно е при размачкване на заразен кърлеж, през конюнктивата (пръскане), както и от кръв на заразен и болен в периода на виремия. Възможно е възникване на вътрешболнични инфекции!!! Резервоар на инфекцията са иксодови кърлежи, дребни гризачи, таралежи, домашни животни. Възприемчивостта на човека е висока, но $\frac{3}{4}$ от заболялите са мъже, чиято работа е на открито. **Сезонност** – свързана с активността на кърлежите – топлият месец – май-септември. **Имунитет** – след преболяване остава траен имунитет. **Клинични прояви:** Инкубационен период – 1 – 15 дни. Прехеморагичен период – заболяването започва остро, при пълно здраве, с развитие на ТИС, а до края на първото денонощие – и на КФС. Състоянието на болните е увредено от самото начало. Характерно е силното, мъчително главоболие. Установяват се брадикардия и хипотония. Хеморагичен период – след 2–4 дни температурата се нормализира и се появяват кръвоизливи – кожни, лигавични, епистаксис, кухинни кръвоизливи (гастроинтестинален тракт, мозък), които могат да са животозастрашаващи. Реконвалесцентният (възстановителен) период започва през втората седмица със спиране на кървенето и подобряване на състоянието. Възстановяването е продължително, с паметови нарушения, депресии, косопад. **Диагноза** – комплексна – епидемиологични данни – ухапване от кърлеж или друг контакт, ендемичен регион, мъжки пол, клинични данни – свръхостро начало, ТИС, КФС и кръвоизливи. Диагнозата се потвърждава най-често със серологични методи (установяване на специфични антитела – ELISA), а до 10-ти ден от началото на заболяването – с молекулярно-биологични – PCR. **Лечение** – болните се изолират и лечението се провежда при режим на работа с особено опасни инфекции. Няма етиологично лечение. СЗО препоръчва приложението на Рибавирин в началото. Доскоро е прилаган хиперимунен гамаглобулин – ККХТ – булин – мускулно. Той е произвеждан в България. В чужбина е прилаган и ККХТ – венин – прилаган венозно. Основното лечение е патогенетично – борба с кръвоизливите, с шок. **Профилактика** – неспецифична – борба с кърлежите, обезпаразитяване на животни, дезакаризационни мероприятия в природните огнища, здравна просвета сред населението. Специфична профилактика – ваксина, особено подходяща за рисковите групи. Има разработена уникална българска ваксина, съдържаща ваксиналния щам V42/81 вирус, изолиран от пациент. Ваксината е с висока имуногенност, стабилност и малка реактогенност. В света усилено се работи за създаване на рекомбинантна ваксина.

б) Средиземноморска (Марсилска) петниста треска (МТ)

Определение: МТ е остро инфекциозно заболяване, което се характеризира с ТИС, КФС, характерни изменения на входната врата (Tache noire de Pieri) и пъпчест обрив. **Етиология:** МТ

е рикетсиоза от групата на петнистите трески, причинява се от *Rickettsia conorii*. **Епидемиология:** МТ е широко разпространена рикетсиоза в Европа. Ареалите и са Черноморието и Средиземноморието. Вектори са кърлежи, най-често – кучешкият кърлеж *Rhipicephalus sanguineus*. Те са и основен резервоар на инфекцията, предават я трансфазално и трансвариално. Човек не е източник на инфекция. Механизъм на заразяване: трансмисивен, ухапване от кърлеж – основен, а също при размачкване на заразен кърлеж и чрез конюнктивата. **Сезонност** – МТ се среща в периодите на активност на векторите – пролет – есен. Доброкачествена рикетсиоза, боледуват както възрастни, така и деца. **Имунитет:** след преболедуване се изгражда траен имунитет. **Клинични прояви:** **Инкубационен период:** 3 – 15 дни, средно 7 дни. Началото е остро, с развитие на ТИС и КФС. В този период се откриват характерни изменения на мястото на ухапване: *черно петно, eschara, tache noire de Pieri*. То е представено от некротична круста с различни размери и може да бъде открито навсякъде по торса, лицето, крайниците, в окосмената част на главата. Среща се в 70% от случаите и е *патогномоничен белег* на заболяването. Когато входна врата е конюнктивата, окото е с оточни клепачи, а конюнктивата – зачервена, възможни са и кръвоизливи. 3 – 4 дни по-късно, на фона на повишена температура, се появява обрив, който бързо обхваща тялото, крайниците, длани и ходила, както и окосмена част на главата. Обривът е макулозен, макуло-папулозен, пъпчест, а понякога и хеморагичен. Представен е от няколко до множество лезии, НЕ е сърбящ и може да се появи на няколко тласъка. Преминава за 7 – 10 дни с кафеникави пигментации, които преминават за месец. При преглед освен описаните кожни промени се установяват брадикардия и хипотония, хепатомегалия, но рядко иктер. Продължителността на фебрилния период зависи от времето на започване на антибиотично лечение и обикновено 2 – 3 дни след неговото начало температурата се нормализира или показва тенденция към по-ниски стойности. При възрастни и полиморбидни болни по-често се установяват усложнения от различни органи и системи. **Диагноза:** комплексна – *епидемиологични данни* – ухапване от кърлеж или друг контакт, контакт с кучета, *клинични данни* – остро начало, ТИС, черно петно и обрив, а за *потвърждаване на диагнозата* най-често се използват серологични методи – установяване на специфични антитела *IgM*, а по-късно и *IgG*. Молекулярно-биологични методи (PCR) също могат да намерят приложение в диагностиката на тази широко разпространена рикетсиоза. **Лечение:** етиологично лечение – средство на избор – антибиотици от тетрациклинова група, на първо място – *Doxycyclin*. Голямо значение има и патогенетичното лечение. **Профилактика** – *неспецифична* – борба с кърлежите, поддържане на тревните площи с редовно косене, обезпаразитяване на домашните любимци. Към момента няма разработена ваксина.

в) **Лаймска болест (борелиоза) (ЛБ)**

Определение: ЛБ е мултисистемно кърлежово-преносимо заболяване, което се характеризира с поражения на кожата, нервната система, ставите и сърцето. **Етиология:** ЛБ се причинява от бактерии от комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Те са Gram(-) отр. подвижни микроорганизми, притежават повърхностни антигени (OspA, OspB, OspC), които имат значение за оцеляване на микроорганизмите в кърлежите и за дисеминацията на инфекцията в човека. Борелиите са взискателни към хранителни среди, култивират се трудно и бавно. **Епидемиология:** ЛБ е най-често срещаното кърлежово заболяване в Европа, северните части на Азия и Северна Америка, където е ендемично. Основен вектор са кърлежи от рода *Ixodes* – за Европа това са *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus*. Кърлежите предават трансфазално и трансвариално инфекцията и освен вектор са и резервоар. Източник на инфекцията са и различни гръбначни животни – гризачи, бозайници, птици. **Механизъм на заразяване** – при ухапване от заразен кърлеж като значение има времето, в което кърлежът остава впит и смуче кръв. Рискът от заразяване нараства при престой на кърлежа повече от 24 часа. **Сезонност** – топлите месеци – май – септември. Възприемчивостта е всеобща. **Клинични прояви:** ЛБ преминава през няколко стадия – ранен локализиран, ранен десиминиран и късен стадий. **Ранен локализиран стадий:** *инкубационният период* е 3 – 30 дни. Най-честата и типична изява е кожната еритема – *Erythema migrans /EM/*. Тя представлява зачервена макула (петно) или папула (надигната над кожата), която много бавно нараства периферно и може да достигне големи размери. Може да се открие навсякъде по тялото, вкл. и в окосмената част на главата. Лезията е бледо розова, по-интензивно оцветена по ръбовете и ливиден център. При затопляне става по-интензивно оцветена. ЕМ е *патогномоничен белег* на ЛБ и не се налагат тестове за доказване, за да се постави диагноза и да се започне лечение. Много рядко може да има общи прояви като отпадналост, субфебрилна температура и артромииалгии. **Ранен дисеминиран период:** *инкубационен период* – няколко седмици до няколко месеца – проя-

вява се най-често с прояви от кожа, нервна система (ранна невроборелиоза), сърце. В този период се срещат системни прояви като отпадналост, лесна уморемост, артромиалгии. Кожното засягане е под формата на множествена еритема, отделните лезии приличат на ЕМ, но са по-малки по размери. Специфична, но рядко срещана кожна проява на ЛБ е борелийният лимфоцитом – възпалителен инфилтрат като възелче, разположен най-често на ушната висулка или гърдата. При засягане на нервната система се наблюдават парези и парализи на черепно-мозъчни нерви, характерно е двустранното засягане на лицевия нерв, менингит, радикулоневрит и др. Засягането на сърцето е рядко срещано и се характеризира основно с нарушена проводимост и развитие на сърдечен блок. *Късен стадий* – инкубационен период от месеци до години и се засяга кожа, нервна система и стави. Най-честа проява е артритът – моноартрит на големи стави (коленни), но без зачервяване. Неврната система се засяга като енцефалопатия, полиневропатия и др. За късната ЛБ са характерни кожни промени – Acrodermatitis chronica atrophicans. Те се наблюдават предимно при възрастни жени. **Диагноза:** комплексна: *епидемиологични данни* – скорошно ухапване от кърлеж, пребиваване в ендемичен за болестта регион, *клинични данни*: бавно нарастваща еритема около мястото на ухапване от кърлеж. Лабораторната диагноза на ЛБ е трудна поради неспецифичните прояви, освен ЕМ, и особеностите на микроорганизма. CDC препоръчва извършване на серологични тестове в два последователни етапа: **1.** ELISA, имуноензимен анализ (EIA) или имунофлуоресцентен анализ за доказване на общия титър *IgM, IgG*. **2.** Western blot – потвърдителен тест, който се назначава при потвърдителен резултат или при неопределен такъв. Диагнозата Лаймска болест е трудна и внимателно трябва да се интерпретира всеки резултат поради много кръстосани реакции с други заболявания и фалшиво положителен резултат. **Лечение:** ЛБ се лекува с антибиотици. Какви и какъв режим – зависи от стадия на заболяването. Антибиотичните курсове са продължителни. **Профилактика:** *неспецифична*: борба с кърлежите, поддържане на тревните площи, дезакаризационни мероприятия. При разходка в планина или при игра в тревни площи да се обличат подходящи дрехи, да се ползват репеленти и след прибиране в дома – да се изтупат дрехите навън и да се огледа тялото за запит кърлеж, тъй като кърлежовото ухапване е безболезнено.

2) Други кърлежово преносими заболявания, които се срещат в България

Макар и рядко и в България са регистрирани случаи на **Кърлежов енцефалит** – заболяване, което протича с неврологични прояви – развива се възпаление на мозъчното вещество, състоянието е сериозно, а изходът – несигурен.

Кърлежовият възвратен тиф се среща и на Балканския полуостров, но най-често остава недиагностициран поради сходни симптоми и с други трансмисивни инфекции и поради липса на тестове за изследване. Протича с ТИС, КФС и редуване на фебрилни с афебрилни периоди.

Туларемията е бактериална зооноза, която може да се предава и от кърлеж, макар че основният механизъм на предаване при човека не е трансмисивен. Познати са много и различни форми на болестта. Тя протича с продължителна температура, която се понася добре от болния (болните са еуфорични, а не вяли и отпуснати, нямат халюцинации и бълнуване). Развива се специфичен лимфодулит, който рядко има склонност към нагнояване, описват се поражение на редица органи и системи и има възможност за генерализация на процеса.

Ку-треската, която често се среща и диагностицира у нас също може да се предава и при ухапване от кърлеж, но това при човека е рядко. Заболяването протича с ТИС и с развитие на атипична пневмония. Възможно е да хронифицира, при което се засяга сърцето с развитие на ендокардит.

Хеморагична треска с бъбречен синдром (ХТБС) рядко се предава чрез ухапване от кърлеж. ХТБС е една от двете хеморагични тески, които се срещат в България (заедно с ККХТ). За нашата страна е характерен алиментарен път на предаване. Заболяването протича в първия период с ТИС, КФС, зрителни нарушения. Във втория период водещ синдром е бъбречната недостатъчност и може да се наложи диализно лечение, в този период се наблюдават и различни по вид и тежест кръвоизливи.

1. Увод

Питейната вода е ключов фактор за общественото здраве, поради което качеството ѝ подлежи на строг и системен санитарен контрол. Водата представлява естествена среда, благоприятна за съществуване и развитие на разнообразни микроорганизми, като количественият и качественият състав на микробната популация се определя от физико-химичните характеристики на водата и степента на антропогенно въздействие. Микробиологичните показатели имат особено значение, тъй като контаминацията на водата с микроорганизми, особено от фекален произход, е свързана с риск от възникване на водно-преносими инфекции и епидемични взривове. Водата играе съществена роля в разпространението на бактериални и вирусни инфекции, предавани по фекално-орален механизъм. Водните епидемии се характеризират с бързо и масово обхващане на населението, използващо контаминиран водоизточник, както и с бързо затихване след прекъсване на експозицията и провеждане на адекватна дезинфекция. За разлика от химичните замърсители, микробиологичният риск може да се прояви в кратки срокове и да засегне значителни групи от населението при нарушения във водоснабдителната система или при неефективна дезинфекция. Санитарно-микробиологичната оценка на водата се основава на използването на индикаторни микроорганизми, чрез които се оценяват вероятността от фекално замърсяване, ефективността на пречистването и дезинфекцията и състоянието на водоснабдителната система.

2. Микрофлора на водата – обща характеристика

Микрофлората на водата представлява съвкупност от микроорганизми, присъстващи във водната среда, включително бактерии, вируси, микроскопични гъби и протозои. Количественият и качественият ѝ състав зависи от типа водоизточник, съдържанието на органични и неорганични вещества, температурата, рН и наличието на разтворен кислород. От екологична и санитарно-микробиологична гледна точка микрофлората на водата се разделя на автохтонна и алохтонна. Водната среда съдържа разнообразни органични и минерални съединения, които могат да бъдат използвани от микроорганизмите като хранителни вещества, а също така до известна степен ги предпазва от неблагоприятното действие на ултравиолетовото лъчение. Значителна част от микроорганизмите във водата произхождат от почвата, въздуха и стопанската дейност на човека. Тази внесена микрофлора се означава като алохтонна и има съществено санитарно значение. Типични представители на автохтонната микрофлора са сапрофитни и условно автотрофни микроорганизми, адаптирани към водната среда и бедни на хранителни вещества условия. Сред тях се срещат представители на родовете *Pseudomonas*, *Aeromonas* и *Flavobacterium*, участващи в разграждането на органични вещества. Железобактериите от родовете *Gallionella* и *Leptothrix*, както и серобактериите от род *Thiobacillus*, имат значение за биогеохимичните процеси във водните екосистеми и могат да участват в образуването на микробни асоциации и биофилми. Алохтонната микрофлора постъпва във водата от външни източници – отпадъчни води, почва, животновъдни обекти и фекално замърсяване. Тя включва микроорганизми с потенциална патогенност, сред които *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* и *Campylobacter spp.*, както и вируси и паразити. Наличието им е индикатор за фекално замърсяване и потенциален риск за общественото здраве. В природните води протичат непрекъснати процеси на естествено самопречистване, обусловени от физико-химични и биологични фактори – разреждане, утаяване на суспендирани частици, действие на слънчевата радиация, микробен антагонизъм и активност на зоопланктона и бактериофагите. В резултат на тези процеси количеството на микроорганизмите постепенно намалява. Санитарното значение на микрофлората на водата е свързано и с възможността за образуване на биофилми във водоснабдителната мрежа. Биофилмите представляват микробни общности, прикрепени към вътрешните повърхности на тръбите и съоръженията, обвити в екстрацелуларна матрица. Те могат да задържат и акумулират микроорганизми и органични вещества, създавайки условия за преживяване и периодично отделяне на микроби във водата. Дори след ефективно пречистване на водоизточника е възможно вторично микробиологично замърсяване по време на транспортиране и

съхранение на водата. Това може да доведе до повишаване на общия брой микроорганизми и до наличие на опортюнистични патогени, включително представители на род *Legionella*. Поради това контролът върху състоянието на водоснабдителната система и ограничаването на биофилмообразуването са съществен елемент от санитарно-микробиологичния контрол. Микробиологичната оценка на питейната вода има и прогностично значение, тъй като проследяването на показателите във времето позволява ранно установяване на неблагоприятни тенденции в състоянието на водоснабдителната система. По този начин санитарно-микробиологичният контрол не се ограничава до констатиране на отклонения, а подпомага тяхното своевременно предотвратяване.

3. Микробиологична оценка на питейната вода – цели и подход

Микробиологичната оценка на питейната вода има за цел да установи нейната безопасност за потребителя, да докаже липсата на фекално замърсяване и да контролира ефективността на процесите на пречистване, дезинфекция и разпределение във водоснабдителната система. Тя се основава на система от количествени и качествени микробиологични показатели, които позволяват оценка както на моментното състояние на водата, така и на промените във времето. Необходимостта от постоянен санитарно-микробиологичен контрол се обуславя от ролята на водата като потенциален фактор за разпространение на инфекции, предавани по фекално-орален механизъм. При нарушения в процесите на пречистване, дезинфекция или в целостта на водоснабдителната мрежа съществува риск от бързо разпространение на водно-преносими инфекции, поради което мониторингът на питейната вода е основен елемент от превенцията на епидемични взривове. Микробиологичната оценка обхваща контрол както на водоизточника, така и на отделни точки от водоснабдителната система – след пречистване, в резервоари и в разпределителната мрежа. Това позволява да се установят отклонения, вторично замърсяване или развитие на микрофлора във водопроводната система. Особено внимание се отделя на възможността за формиране на биофилми, които могат да служат като резервоар за микроорганизми и да доведат до влошаване на микробиологичното качество на водата в крайните точки на потребление. На санитарно-микробиологичен контрол подлежат води от централно и местно водоснабдяване, минерални извори, открити водоеми и плувни басейни. Рутинният текущ контрол се осъществява основно върху питейната вода, като честотата на изследванията се определя в зависимост от капацитета на водоизточника, броя на обслужваното население и характеристиките на водоснабдителната система. Другите категории води се изследват при епидемични показания или при съмнение за санитарно замърсяване. Микробиологичното качество на водата се оценява чрез система от индикаторни микроорганизми, които дават информация за евентуално фекално замърсяване, ефективността на дезинфекцията и хигиенното състояние на водоснабдителната мрежа. Наличието на *Escherichia coli* или термотолерантни колиформи се приема като индикатор за пряко фекално замърсяване и налага незабавни коригиращи действия, докато повишените стойности на общия брой микроорганизми могат да сигнализират за вторично замърсяване или развитие на микрофлора във водоснабдителната система. Санитарно-микробиологичният контрол на питейната вода се извършва в съответствие с действащите нормативни изисквания и стандартизирани методи, включително международни ISO стандарти, национални стандарти (БДС) и нормативната база за качеството на водата, предназначена за питейно-битови нужди. Това осигурява научно обоснована оценка на безопасността на водата и възможност за своевременно откриване и ограничаване на рисковете за общественото здраве. Интерпретацията на резултатите от микробиологичните изследвания не се основава единствено на еднократни анализи, а изисква проследяване на показателите във времето и съпоставянето им с технологичните характеристики на водоснабдителната система. Отклоненията в отделни проби могат да бъдат свързани с временни нарушения в дезинфекцията, с ремонтни дейности по мрежата или с вторично замърсяване в резервоари и тръбопроводи. Поради това микробиологичният контрол има не само диагностично, но и управленско значение – той подпомага оценката на риска и вземането на решения за коригиращи мерки, включително усилване на дезинфекцията, промиване на мрежата и допълнително пробовземане.

4. Индикаторни микроорганизми

Санитарно-микробиологичната оценка на питейната вода се основава на използването на индикаторни микроорганизми, които служат като непряк, но надежден показател за хигиенното състояние на водата, за наличието на фекално замърсяване и за ефективността на процесите на пречистване и дезинфекция. Поради разнообразието от възможни патогенни микроорганизми и труд-

ностите при тяхното рутинно доказване, в практиката се използва система от индикаторни показатели, които позволяват да се оцени санитарният риск. За да бъдат надеждни, индикаторните микроорганизми трябва да отговарят на определени изисквания: да са характерни за фекален произход или за общо микробно замърсяване; да се срещат в по-висока концентрация от патогенните микроорганизми; да не се размножават съществено в питейната вода; да притежават устойчивост към факторите на средата и към дезинфекцията, сходна или по-висока от тази на патогените; както и да се доказват чрез стандартизирани, възпроизводими и сравнително бързи методи.

4.1. Общ брой микроорганизми (ОБМ)

Общият брой микроорганизми представлява неспецифичен показател, характеризиращ общото микробно натоварване на водата. Той отразява хигиенното състояние на водоизточника и водоснабдителната система, както и ефективността на процесите на пречистване и дезинфекция. Показателят не е пряк индикатор за фекално замърсяване, но има съществено значение за проследяване на измененията във времето, за установяване на технологични отклонения и за наличие на микробен растеж или биофилми във водоснабдителната система.

4.2. Колиформни бактерии

Колиформните бактерии представляват група грам-отрицателни, факултативно анаеробни, неспорообразуващи пръчици, които обитават чревния тракт на хората и топлокръвните животни, но могат да се срещат и в околната среда. Те се използват като основен индикатор за хигиенното състояние на питейната вода и за евентуално фекално или вторично замърсяване на водоснабдителната система. Колиформните микроорганизми се доказват чрез култивиране за 24 часа при 37°C върху селективни и диференциращи хранителни среди, съдържащи жлъчни соли и лактоза, с образуване на киселина и газ. Термотолерантните колиформи проявяват същите свойства при култивиране при по-висока температура – 44°C. Наличието на колиформни бактерии във водата се приема като индикатор за нарушена хигиена или компрометирана цялост на водоснабдителната система.

4.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli е най-специфичният индикатор за прясно фекално замърсяване, тъй като е типичен представител на чревната микрофлора на хората и топлокръвните животни и не се размножава в питейната вода. Предполагаемите *E. coli* се отнасят към термотолерантните колиформи, които освен това образуват газ от лактоза и индол от триптофан при култивиране при 44°C. Откриването на *Escherichia coli* в питейната вода се приема като сериозен сигнал за санитарен риск и налага незабавна оценка на водоснабдителната система, повторно пробовземане и предприемане на коригиращи мерки. Въз основа на тези индикаторни микроорганизми се прилагат стандартизирани методи за количественото им определяне, сред които широко приложение намира мембранно-филтрационният метод. В практиката на санитарно-микробиологичния контрол при определени ситуации могат да се използват и допълнителни индикаторни микроорганизми, като ентерококи и *Clostridium perfringens*. Те се прилагат предимно при оценка на по-стари фекални замърсявания или при изследване на повърхностни водоизточници. Тяхното наличие може да даде допълнителна информация за устойчивостта на микроорганизмите към дезинфекция и за ефективността на технологичните процеси при пречистване на водата.

5. Мембранно-филтрационен метод – принцип, апаратура и приложимост

Мембранно-филтрационният метод представлява основен и широко прилаган подход в санитарната микробиология за количествено определяне на микроорганизми във води с ниска микробна концентрация, каквито са питейните и бутилираните води. Методът се основава на механичното задържане на бактериалните клетки върху стерилен мембранен филтър с номинален размер на порите 0,45 µm, който осигурява ефективното им задържане върху повърхността на филтъра. В съответствие с нормативните изисквания и утвърдените стандартизирани методи при анализ на водопроводна (питейна) вода обикновено се филтрира обем 100 ml, а при анализ на бутилирани и трапезни води – 250 ml, при условие че микробното съдържание позволява коректно отчитане. При наличие на повишена мътност или по-високо микробно число могат да се използват по-малки обеми или предварителни разреждания на пробата. След филтрацията мембранный филтър се пренася асептично върху повърхността на подходяща селективна или неселективна хранителна среда и се култивира при определени температурни и времеви режими в

зависимост от изследвания микробиологичен показател и съгласно приложимия стандартизиран метод. След инкубацията порасналите колонии се преброяват, като резултатите се изразяват като колониеобразуващи единици (КОЕ) за съответния обем вода.

Мембранно-филтрационният метод има редица предимства:

- позволява изследване на сравнително големи обеми вода;
- осигурява висока чувствителност при ниски концентрации на микроорганизми;
- предоставя директен количествен резултат;
- подходящ е за рутинен санитарно-микробиологичен контрол;
- сравнително бърз и икономически ефективен.

Ограниченията на метода са свързани със затруднения при работа с мътни проби, възможно запушване на мембранный филтър и влияние на инхибиторни вещества, поради което при необходимост се прилагат разреждания или адаптирани методични подходи. Въз основа на този принцип мембранно-филтрационният метод се използва за количествено определяне на основни микробиологични показатели във водата, включително общ брой микроорганизми, колиформни бактерии и *Escherichia coli*, като конкретните условия на култивиране и отчитане се определят в зависимост от изследвания показател. Поради високата си чувствителност и възможността за изследване на сравнително големи обеми вода мембранно-филтрационният метод е утвърден като референтен подход при рутинния контрол на питейни води. Той позволява ранно установяване на отклонения в микробиологичното качество и подпомага оценката на ефективността на пречистването и дезинфекцията. В комбинация с правилно организирано пробовземане и проследяване на резултатите във времето методът има ключово значение за поддържане на безопасно водоснабдяване.

6. Определяне на общ брой микроорганизми, колиформни бактерии и *Escherichia coli* чрез мембранна филтрация

Определянето на общия брой микроорганизми чрез мембранна филтрация се извършва върху неспецифична хранителна среда за развитие на хетеротрофна микрофлора, най-често агар с дрождев екстракт. Култивирането се провежда при два температурни режима – 22°C и 37°C. Развитието при 22°C е показателно предимно за автохтонната микрофлора, адаптирана към водната среда, докато растежът при 37°C отразява наличието на алохтонни микроорганизми с произход от човешката и животинската дейност. След инкубацията се преброяват всички развити колонии, а резултатите се изразяват като КОЕ за съответния обем вода. За доказване и количествено определяне на колиформни бактерии и *Escherichia coli* мембранный филтър се поставя върху селективна и диференцираща хранителна среда, съдържаща лактоза. Култивирането се провежда при 37°C за колиформни бактерии и при по-висока температура – 44°C за термотолерантни колиформни бактерии и *E. coli*. Преброяват се колонии с характерна морфология, като при необходимост се извършват потвърдителни тестове, включително образуване на газ от лактозата и продукция на индол от триптофан. В практиката в България след 2015 г. широко се използват хромогенни среди за колиформни бактерии, при които *Escherichia coli* образува сини или синьо-зелени колонии, а останалите колиформни бактерии – розови колонии. При определяне на общия брой колиформни бактерии се отчитат както розовите, така и синьо-зелените колонии, а при определяне на *E. coli* – само синьо-зелените. Отчитат се само мембранните филтри, върху които броят на колонии е в интервала 20 – 80, като се преброяват единствено типични и потвърдени колонии. Резултатите се изразяват като КОЕ за 100 ml питейна вода или за съответния изследван обем. Нормативното изискване за *Escherichia coli* в питейната вода е отсъствие в изследвания обем.

Заклучение и значение за общественото здраве

Микробиологичната оценка на питейната вода е ключов елемент от системата за опазване на общественото здраве, тъй като позволява своевременно откриване на санитарни рискове и предотвратяване на водно-преносими инфекции. Използването на индикаторни микроорганизми осигурява надеждна и практично приложима оценка на хигиенното състояние на водата и ефективността на процесите по пречистване и дезинфекция. Мембранно-филтрационният метод, като чувствителен и стандартизиран подход, позволява количествен контрол дори при ниска микробна обсемененост и е основен инструмент в рутинния санитарно-микробиологичен мониторинг. Системното прилагане на тези методи и показатели е предпоставка за гарантиране на безопасна питейна вода и за поддържане на устойчиво водоснабдяване, отговарящо на нормативните изисквания и нуждите на населението.

1. Увод

Млякото и млечните продукти са хранителни субстрати с висока водна активност и богат химичен състав, включващ белтъци, въглехидрати, липиди, минерални вещества и витамини, което ги прави изключително благоприятна среда за развитие на микроорганизми. Поради това те са сред най-рисковите хранителни продукти от микробиологична гледна точка и изискват строг контрол по време на добив, преработка, съхранение и дистрибуция. Микробиологичното качество на суровото и преработеното мляко се определя от здравословното състояние на животните, хигиената при доене, условията на съхранение и технологичната обработка, поради което се прилага системен микробиологичен контрол за оценка на технологичната хигиена и безопасността на продукта.

Микробиологичният контрол на млякото се основава на показатели, отразяващи както хигиенното състояние на производството, така и потенциалния риск за потребителя. Особено значение имат общият брой микроорганизми и коагулазо-положителните стафилококи, които служат като индикатори за технологична хигиена, ефективност на термичната обработка и възможно вторично замърсяване.

2. Микробиологична характеристика на млякото и динамика на микрофлората

Млякото е отлична среда за развитие на микроорганизмите. Нормалната микрофлора на млякото е представена от млечнокисели, маслено-кисели, пропионово-кисели и протеолитични бактерии, коли бактерии, дрожди, плесени и др. Микрофлората на суровото мляко е количествено и качествено променлива и зависи от здравословното състояние на животните, хигиената на кожата и вимето при доене, състоянието на доилните апарати и съдовете, хигиената на персонала и доилните помещения, както и от качеството на използваната вода. Микроорганизми постъпват в суровото мляко от вътрешността на вимето, повърхността на тялото, храната, въздуха, водата и доилната апаратура. Преобладаващите микроорганизми от здраво виме са: *Micrococcus sp.*, *Streptococcus sp.* и *Corynebacterium sp.* При маститни крави преобладават *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, колиформи *Pseudomonas sp.* и то в големи количества. Преобладават млечнокисели бактерии, *Micrococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Bacillus spp.* и представители на семейство *Enterobacteriaceae*, и спори на *Clostridium sp.* и Грам-отрицателни пръчици. Патогенни микроорганизми като *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* се откриват в някои продукти. Оборудването е източник на Грам-отрицателни пръчици, като *Pseudomonas sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Flavobacterium sp.*, а също и Грам-положителни *Micrococcus sp.* и *Enterococcus*. Част от тези микроорганизми са способни да предизвикват различни типове микробиологична развала, водещи до промени в органолептичните и технологичните свойства на млякото. Част от микроорганизмите, установявани в прясното сурово мляко, се отнасят към т.нар. първична микрофлора, която постъпва в млякото още по време на доенето и непосредствено след него. Поради особеностите на живот на селскостопанските животни, млякото съдържа значимо количество микроби още при доенето. Дори при високо ниво на хигиена първоначалната микробна обсемененост може да достигне до 10^4 – 10^5 CFU/ml. Тя формира изходната микробна обсемененост на млякото и в значителна степен определя последващата динамика на микробиологичните изменения по време на съхранение. При влошени хигиенни условия микробната обсемененост на прясното мляко надхвърля 10^6 cfu/cm³. Развитието на микрофлората се влияе силно от температурата на съхранение. При умерени температури се развива мезофилна микрофлора, водеща до подкиселяване и коагулация на млякото, докато при хладилно съхранение доминират психротрофни микроорганизми с протеолитична и липолитична активност, които постепенно влошават качеството на продукта.

В прясното мляко се съдържат бактерицидни фактори – лизоцим, лактенин, лактоферин, нормални антитела и левкоцити, които в първите часове след издождането потискат развитието на попадналите в него микроорганизми. Този период се означава като бактерицидна фаза и про-

дължителността му зависи от началната микробна обсемененост и температурата на съхранение. За удължаване на бактерицидната фаза е необходимо млякото да бъде охладено възможно най-скоро след издояването. С изчерпването на бактерицидните фактори настъпва фаза на смесена микрофлора, последвана от млечнокисела фаза, в която млечнокиселите бактерии стават доминираща част от микрофлората поради способността си да усвояват лактозата и да синтезират млечна киселина и бактериоцини, потискащи развитието на съпътстващата микрофлора. Повишаващата киселинност постепенно потиска самите млечнокисели бактерии. В млякото, подложено на пресичане, се създават условия за фаза на развитие на плесени и дрожди. Тази фаза се явява заключителна за всички процеси на микробиологично изменение на млякото. Дрождите и плесените усвояват млечната киселина, настъпва пълна пептонизация на млякото.

3. Източници и пътища на микробна контаминация на млякото

Микробната контаминация на млякото започва още по време на доенето и може да се засилва при последващото съхранение, транспорт и технологична обработка. В зависимост от произхода на микроорганизмите тя се разделя на ендегенна и екзогенна.

Ендегенното замърсяване произхожда от самото животно и е свързано със здравословното състояние на млечната жлеза. При възпалителни процеси на вимето (мастити) в млякото могат да попаднат микроорганизми като *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* и други бактерии с ветеринарно и санитарно значение. При системни инфекции на животните е възможно в млякото да се установят и други патогени, което налага ветеринарен контрол и изключване на болни животни от доене. Екзогенното замърсяване възниква при контакт на млякото с външната среда. Основни източници са повърхността на вимето и кожата на животното, доилната апаратура, съдовете за съхранение и транспорт, ръцете и облеклото на персонала, водата за почистване и дезинфекция, както и въздухът в производствените помещения. Особено значение имат микроорганизмите с фекален произход, включително представители на семейство *Enterobacteriaceae*, които се използват като индикатори за хигиенното състояние на производствения процес. При недостатъчно охлаждане по време на съхранение и транспорт се развиват психротрофни микроорганизми, най-често представители на род *Pseudomonas*, както и *Listeria* и *Yersinia*. Тяхното развитие води до повишаване на общия брой микроорганизми и до влошаване на технологичните и органолептичните свойства на млякото. Спорообразуващите бактерии, широко разпространени в почвата и фуражите, също могат да попаднат в млякото. Те се отличават с висока устойчивост към неблагоприятни условия и могат да преживяват технологични въздействия, поради което имат значение за трайността и безопасността на млечните продукти. Разграничаването на ендегенно и екзогенно замърсяване има важно практическо значение, тъй като позволява прилагане на целенасочени хигиенни, технологични и ветеринарно-санитарни мерки за ограничаване на микробната контаминация по цялата производствена верига.

4. Микробиологични показатели и критерии за качество, безопасност и технологична хигиена

Микробиологичните показатели се използват за оценка на качеството, безопасността и хигиенното състояние на млякото и млечните продукти. Те предоставят информация за степента на микробна контаминация, ефективността на прилаганите технологични процеси и възможното наличие на микроорганизми с патогенно или технологично значение.

В практиката микробиологичните показатели се използват както като критерии за безопасност, така и като критерии за технологична хигиена. Критериите за безопасност се отнасят до отсъствието или допустимите нива на специфични патогенни микроорганизми в крайния продукт и са пряко свързани със защитата на здравето на потребителите. Критериите за технологична хигиена отразяват хигиенното състояние на производствения процес и условията на добив, обработка и съхранение на млякото и служат за оценка на правилното функциониране на технологичната верига. Основните микробиологични показатели при контрола на млякото и млечните продукти включват общия брой микроорганизми, колиформните бактерии и представители на семейство *Enterobacteriaceae*, наличието на *Escherichia coli*, както и броя на коагулазо-положителните стафилококи (*Staphylococcus aureus*). Като критерии за безопасност се прилага и доказването на отсъствие на патогенни микроорганизми като *Salmonella spp.* и *Listeria monocytogenes*. В зависимост от вида на млечния продукт и особеностите на технологичния процес могат да се използват и допълнителни микробиологични показатели, включително наличие на дрожди и пле-

сени, спорообразуващи бактерии и други микроорганизми с значение за трайността и органолептичните свойства на продукта. Сред плесените с практическо значение за млечните продукти се открояват представители на родовете *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* и *Cladosporium*, които могат да предизвикат повърхностен растеж, промени във вкуса и миризмата и скъсяване на трайността. Микробиологичните показатели и техните гранични стойности се определят в съответствие с действащите нормативни изисквания и стандартизирани методи за анализ. Интерпретацията на резултатите позволява да се направи обоснована оценка за качеството, безопасността и технологичната хигиена на млякото и млечните продукти и служи като основа за предприемане на коригиращи и превантивни мерки при установени отклонения

5. Патогенни микроорганизми в млякото

Млякото може да служи като носител на патогенни и условно патогенни микроорганизми, които попадат в него както при ендегенно замърсяване, свързано със здравословното състояние на животните, така и при екзогенно замърсяване по време на добива, съхранението и преработката. Пастеризираното мляко не трябва да съдържа патогенни микроорганизми, поради което контролът върху тяхното наличие е съществен елемент от микробиологичната оценка на безопасността. Използването на мляко от животни, болни от заразни заболявания (туберкулоза, бруцелоза, антракс и др.), е недопустимо и подлежи на ветеринарен контрол. При възпалителни процеси на млечната жлеза (мастити) в млякото могат да попаднат коагулазо-положителни стафилококи, стрептококи и други микроорганизми с патогенно значение. Сред най-значимите бактериални патогени, свързани с млякото и млечните продукти, са *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, патогенни щамове на *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Те могат да попаднат в млякото чрез фекално замърсяване, контакт с контаминирани повърхности, оборудване или персонал, както и при недостатъчна хигиена в производствения процес. *Salmonella spp.* и патогенните *E. coli* се свързват основно с фекално замърсяване и са чувствителни към пастеризация, но вторичното замърсяване след термична обработка представлява сериозен риск за безопасността на продукта. *Listeria monocytogenes* е психротрофен микроорганизъм, способен да се развива при ниски температури, включително при хладилно съхранение. Тя може да контаминира млякото и млечните продукти след пастеризацията и представлява особена опасност за уязвими групи от населението. *Staphylococcus aureus* има значение както като причинител на мастити при животните, така и като източник на хранителни интоксикации поради способността си да продуцира термостабилни ентеротоксини, които могат да се запазят в продукта дори при липса на жизнеспособни клетки. В суровото мляко могат да се срещат и други микроорганизми с патогенно или условно патогенно значение, включително *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium bovis* и други. Част от тях се инактивират при правилно проведена пастеризация, но могат да представляват риск при консумация на сурово или недостатъчно термично обработено мляко. Освен бактериалните патогени, в млякото и млечните продукти могат да се развиват и плесени, включително представители на родовете *Aspergillus*, *Penicillium* и *Fusarium*, които при подходящи условия могат да продуцират микотоксини. Макар по-рядко срещани в течните млечни продукти, те имат значение за някои млечни изделия и за условията на съхранение.

Наред с патогенните микроорганизми, съществено значение имат и психротрофните бактерии от род *Pseudomonas*, които доминират в микрофлората на хладилно съхраняваното мляко. Те не се разглеждат като типични хранителни патогени, но продуцират термоустойчиви протеази и липази, които водят до влошаване на органолептичните свойства и трайността на продукта, включително след пастеризация. Контролът върху патогенните и условно патогенните микроорганизми в млякото се осъществява чрез прилагане на добри хигиенни и производствени практики, ветеринарно-санитарен контрол върху животните, ефективна термична обработка и системен микробиологичен мониторинг на всички етапи от производствената верига. Спазването на температурните режими при съхранение и транспорт, както и предотвратяването на вторично замърсяване след пастеризацията, са ключови фактори за осигуряване на безопасността на млечните продукти. Поради това микробиологичното изследване на млякото включва определяне на индикаторни показатели и целенасочено търсене на микроорганизми със санитарно и епидемиологично значение.

6. Определяне на общ брой микроорганизми (ОБМ) в пастеризирано мляко

Определянето на общия брой микроорганизми (ОБМ) е основен микробиологичен показател за оценка на хигиенното качество и технологичната пригодност на пастеризираното мляко.

Този показател отразява степента на остатъчна микрофлора и възможно вторично замърсяване след термичната обработка. Пробите се анализират възможно най-скоро след вземането им, при съхранение в охладено състояние. Пробите се опаковат, маркират и транспортират по начин, който запазва тяхната идентичност и предотвратява вторично замърсяване. Пастьоризираното мляко се изпраща за изследване в оригиналната опаковка. Преди анализ пробата се хомогенизира чрез внимателно разбъркване с механична бъркалка или чрез многократно обръщане на съда. Определянето на ОБМ се основава на метода на дълбочинния посев на десетични разреждания върху подходяща хранителна среда, най-често Plate Count Agar (PCA), която позволява развитие на широк спектър мезофилни аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми. Един милилитър мляко се смесва с девет милилитра стерилен разреждател и се приготвят последователни десеткратни разреждания. От избраните разреждания по 1 ml се посява в стерилни петриевы панички и се залива с 18 – 20 ml разтопен и охладен до 45°C агар. След внимателно размесване и втвърдяване на средата петриевите блюда се инкубират при 30°C за 72 часа. За броими се приемат блюда с брой колонии в интервала 25 – 300. Резултатите се изразяват като брой колониеобразуващи единици в 1 ml мляко (CFU/ml), като се отчита използваното разреждане. Колониите върху PCA обикновено са малки до средни по размер, кръгли, сивкаво-бели до кремави и представляват сборна популация от различни мезофилни микроорганизми.

7. Определяне на коагулазо-положителни стафилококи (*Staphylococcus aureus*) в пастьоризирано мляко

Коагулазо-положителните стафилококи, и по-специално *Staphylococcus aureus*, са сред най-значимите патогенни микроорганизми, свързани с млякото и млечните продукти. Тяхното наличие в пастьоризирано мляко е показател за недостатъчна хигиена при добива и преработката, за вторично замърсяване след пастьоризацията или за ендегенно замърсяване, свързано с мастити при млечните животни. Стафилококите се характеризират със сравнително висока устойчивост към изсушаване, замразяване и неблагоприятни фактори на средата. Патогенните щамове на *Staphylococcus aureus* продуцират редица ензими и токсини, включително термостабилни ентеротоксини, които могат да предизвикат хранителни интоксикации без видими органолептични промени в продукта. Източник на замърсяване могат да бъдат както болни животни (мастити), така и персоналът при неспазване на хигиенните изисквания. Определянето на коагулазо-положителните стафилококи се извършва чрез посевка върху селективно-диференцираща хранителна среда Бърд-Паркър агар, съдържаща калиев телурит и яйчен жълтък. Десет милилитра проба се хомогенизират в 90 ml буферирана пептонна вода (разреждане 1:10), след което се приготвят серийни десеткратни разреждания. От всяко разреждане по 0,1 ml се посява върху две петрита с Бърд-Паркър агар и се инкубира при 37°C за 24 – 48 часа.

Типичните колонии на коагулазо-положителните стафилококи са черни, блестящи, изпъкнали, заобиколени от светъл ореол и зона на преципитация вследствие на лецитиназна активност. Подозрителните колонии се подлагат на потвърдителни тестове (каталаза и плазмокоагулаза). Само колонии с положителна коагулазна реакция се отчитат като коагулазо-положителни стафилококи. Резултатите се изразяват като CFU/ml пастьоризирано мляко, като се отчита степента на разреждане и броят на преброените колонии.

8. Заключение

Микробиологичното изследване на млякото и млечните продукти е съществен елемент от контрола върху безопасността на храните и технологичната хигиена на производството. Определянето на общия брой микроорганизми и на коагулазо-положителните стафилококи в пастьоризирано мляко позволява оценка на ефективността на термичната обработка, условията на съхранение и риска от вторично замърсяване. Системното прилагане на стандартизирани методи за анализ осигурява надеждна информация за микробиологичното качество на продукта и подпомага поддържането на високо ниво на хигиена и безопасност в млечната индустрия.

1. Анализ на опасностите и критичните контролни точки (HACCP)

Основно нормативно задължение на всеки оператор в хранителната верига е да гарантира безопасността на храните за човешкото здраве. С тази цел доставчиците на храни са длъжни да разработят, внедрят и поддържат система за управление на безопасността на храните (СУБХ), като част от цялостната система за управление в организацията. Аббревиатурата HACCP е съкратено наименование на „Hazard Analysis and Critical Control Points“, което означава „Анализ на опасностите и контрол на критичните точки“.

Системата HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) представлява международно признат, научно обоснован и превантивен подход за осигуряване безопасността на храните. Тя е насочена към систематично идентифициране, оценка и контрол на опасностите, които могат да компрометират безопасността на храните на различните етапи от производствения процес.

По своята същност HACCP се основава на анализ на риска, управление на риска и предотвратяване на риска. В контекста на микробиологичната безопасност особено значение имат биологичните опасности, свързани с наличието, преживяемостта и развитието на патогенни микроорганизми, както и с образуването на микробни токсини в храните.

Системата HACCP обхваща всички участници в хранителната верига – от първичното производство, през преработката, съхранението и транспорта, до търговията и общественото хранене. Всяка организация, която произвежда, преработва, манипулира, опакова, транспортира или предлага храни, е задължена да прилага принципите на HACCP, като ги адаптира към спецификата на своята дейност.

2. Принципи и обхват на системата HACCP

Системата HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) представлява системен и превантивен инструмент за управление на безопасността на храните, основан на научни доказателства и логическа последователност при анализа на рисковете. Тя има за цел да идентифицира, оцени и контролира опасностите, които могат да възникнат на различните етапи от хранителната верига и да застрашат здравето на потребителите.

HACCP се прилага във всички звена на веригата „от фермата до трапезата“ и обхваща първичното производство, преработката, съхранението, транспортирането, дистрибуцията и предлагането на храни. Системата позволява преминаване от традиционния контрол на крайния продукт към превантивно управление на процесите, при което основният акцент се поставя върху предотвратяването, елиминирането или намаляването на опасностите до приемливи нива.

Основата на HACCP се състои от седем принципа, които осигуряват структурирана рамка за анализ на рисковете и въвеждане на ефективни контролни мерки. Тези принципи гарантират последователност и проследимост при управлението на безопасността на храните и служат като основа за разработване на HACCP план.

В обхвата на системата се включват три основни групи опасности – биологични, химични и физични. Сред тях биологичните опасности имат водещо значение поради честотата си, способността на микроорганизмите да се размножават в храните и потенциала им да предизвикват хранителни инфекции и интоксикации. Поради това управлението на микробиологичния риск заема централно място при разработването и прилагането на HACCP планове.

3. Седем принципа на HACCP – съдържание и практическо приложение

3.1. Принцип 1 – Анализ на опасностите

Анализът на опасностите представлява основополагащ етап при разработването на HACCP и има за цел да идентифицира всички потенциални опасности, които могат да възникнат по време на производството, обработката и дистрибуцията на храните. На този етап се оценява вероятността от възникване на всяка опасност и тежестта на възможните неблагоприятни последици за здравето на потребителите.

Опасностите в системата HACCP се групират в три основни категории:

- **биологични**,
- химични,
- физични.

Особено значение в HACCP анализа имат биологичните опасности, свързани с патогенни микроорганизми (*Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), тъй като те представляват директен риск за здравето на потребителите. При биологичните опасности мониторингът е особено критичен, тъй като отклоненията често са свързани с време–температура, хигиенни условия и риск от бързо нарастване на микробната популация.

При анализа на биологичните опасности се отчитат фактори като:

- първоначалната микробна обсемененост на суровините;
- условията на съхранение (температура, време, влажност);
- възможностите за кръстосано замърсяване;
- ефективността на термичните и други технологични обработки;
- хигиената на персонала и производствената среда.

Химичните опасности включват остатъци от ветеринарномедицински препарати, пестициди, почистващи и дезинфекционни средства, както и естествени токсини, докато физичните опасности са свързани с наличието на чужди тела като метални, стъклени или пластмасови частици. Въпреки значението им, тези опасности се разглеждат като второстепенни в сравнение с биологичните, когато се оценява микробиологичната безопасност на храните.

Резултатът от анализа на опасностите е определянето на онези рискове, които изискват контрол чрез системата HACCP, като основна цел е предотвратяване на условията, благоприятстващи развитието и преживяемостта на патогенни микроорганизми.

3.2. Принцип 2 – Определяне на критични контролни точки (ККТ)

След извършване на анализа на опасностите следва определянето на критичните контролни точки (ККТ) в технологичния процес. Критичната контролна точка представлява етап, операция или процедура, при която може да бъде приложен контрол и която е от съществено значение за предотвратяване, елиминиране или намаляване на идентифицирана опасност до приемливо ниво.

За определяне на критичните контролни точки се препоръчва прилагането на алгоритъм за вземане на решения, известен като „дърво на решенията“. Дървото на решенията се прилага за всяка идентифицирана опасност на всеки етап от технологичния процес. То се състои от четири последователни въпроса, на които се отговаря с „да“ или „не“, като в зависимост от получените отговори се определя дали съответният етап представлява критична контролна точка или не. Определянето на ККТ се основава на систематичен анализ на технологичния поток и на резултатите от анализа на опасностите.

В контекста на биологичните опасности критичните контролни точки имат ключово значение, тъй като именно на определени етапи от процеса може ефективно да се контролира или прекъсне развитието на патогенни микроорганизми. Типични примери за ККТ, свързани с микробиологичната безопасност, са:

- термичната обработка (пастьоризация, стерилизация, готвене), при която се цели унищожаване на вегетативните форми на патогенни микроорганизми;
- охлаждането и съхранението при контролирани температури, ограничаващи размножаването на мезофилни и психротрофни бактерии;
- предотвратяването на кръстосано замърсяване между сурови и готови за консумация продукти;
- хигиенните операции, при които съществува риск от вторично микробиологично замърсяване.

Важно е да се подчертае, че не всяка контролна точка в процеса е критична. ККТ са само тези етапи, при които загубата на контрол би довела до неприемлив риск за здравето на потребителите. При правилно разработен HACCP план броят на критичните контролни точки е ограничен, което позволява ефективен мониторинг и управление на процеса.

Определянето на ККТ създава основата за следващите принципи на HACCP, свързани с установяване на критични граници, мониторинг и коригиращи действия, като осигурява структурирана рамка за управление на микробиологичните рискове в производството на храни.

3.3. Принцип 3 – Установяване на критични граници

След определянето на критичните контролни точки следва установяването на критични граници за всяка ККТ. Критичната граница представлява измерима стойност, която разделя приемливото от неприемливото състояние на процеса и служи като обективен критерий за контрол на идентифицираната опасност.

Критичните граници се определят въз основа на научно обосновани данни, нормативни изисквания, утвърдени добри производствени практики и технологични спецификации. В контекста на биологичните опасности те са пряко свързани с факторите, които влияят върху преживяемостта и развитието на микроорганизмите.

Най-често използваните критични граници при управление на микробиологичния риск включват:

- **температура и време** на термична обработка (напр. пастьоризация, стерилизация), осигуряващи унищожаване или значително намаляване на патогенните микроорганизми;
- **температурни режими на охлаждане и съхранение**, които ограничават размножаването на мезофилни и психротрофни бактерии;
- **pH, водна активност и концентрация на сол или захари**, когато тези параметри имат значение за микробния растеж;
- **максимално допустими микробиологични нива**, определени чрез нормативни критерии.

При превишаване или неспазване на критичната граница съответната критична контролна точка се счита за извън контрол и се създава риск за безопасността на храните. Поради това критичните граници трябва да бъдат ясно дефинирани, лесно измерими и приложими в реални производствени условия.

Установяването на адекватни критични граници е ключов елемент за ефективното функциониране на HACCP системата, тъй като осигурява връзката между идентифицираните биологични опасности и практическите мерки за техния контрол.

3.4. Принцип 4 – Установяване на процедури за мониторинг на критичните контролни точки

Мониторингът на критичните контролни точки представлява систематично наблюдение или измерване на параметрите, определени като критични граници, с цел своевременно установяване на отклонения от допустимите стойности. Чрез мониторинга се осигурява текущ контрол върху процеса и се гарантира, че всяка критична контролна точка остава под управление.

Мониторингът на критичните контролни точки представлява планирана система от наблюдения и измервания, чрез която се установява дали дадена ККТ е под контрол и дали критичните граници се спазват. За целите на ефективния мониторинг и оформянето на карти за контрол се прилагат пет основни въпроса: **какво** се контролира, **как** се извършва контролът, **кога** се осъществява мониторингът, **кой** отговаря за изпълнението му и **къде/как се документират** резултатите. Отговорите на тези въпроси осигуряват яснота, проследимост и възпроизводимост на мониторинговите процедури и са основа за навременно откриване на отклонения, особено по отношение на биологичните опасности.

Процедурите за мониторинг трябва да бъдат ясно дефинирани и да отговарят на следните изисквания: да са подходящи за конкретната ККТ, да се извършват с достатъчна честота, да осигуряват надеждни и възпроизводими резултати и да позволяват навременно предприемане на коригиращи действия. Мониторингът може да бъде непрекъснат или периодичен в зависимост от естеството на процеса и риска.

При управление на биологичните опасности мониторингът често е свързан с контрол на температурно-временните режими, условията на съхранение и хигиенните параметри на производствената среда. В определени случаи той се допълва и от микробиологични анализи, които имат важно значение за потвърждаване на ефективността на контролните мерки, макар че поради времето за получаване на резултатите не се използват като оперативен мониторинг на ККТ.

Всички резултати от мониторинга трябва да бъдат документирани, като записите служат като доказателство за функционирането на HACCP системата и са основа за последваща оценка, верификация и одит. Ефективно организираният мониторинг позволява ранно откриване на отклонения и предотвратяване на разпространението на небезопасни продукти.

3.5. Принцип 5 – Определяне на коригиращи действия

Коригиращите действия представляват предварително планирани мерки, които се прилагат при установяване на отклонение от критичните граници на дадена критична контролна точка. Тяхната цел е да възстановят контрола върху процеса и да предотвратят пускането на небезопасен продукт на пазара.

Коригиращите действия трябва ясно да определят отговорностите, начина на действие и съдбата на засегнатия продукт. В контекста на биологичните опасности те често включват повторна термична обработка, изолиране или бракуване на продукцията, както и анализ на причините за отклонението с цел предотвратяване на повторната му поява

3.6. Принцип 6 – Верификация на HACCP системата

Верификацията има за цел да потвърди, че HACCP системата функционира ефективно и че установените контролни мерки осигуряват управление на идентифицираните опасности. Тя се извършва чрез планирани дейности, които могат да включват преглед на документацията, вътрешни одити, анализ на записите от мониторинга и резултатите от микробиологичния контрол.

При управлението на биологичните рискове микробиологичните изследвания имат особено значение като инструмент за верификация, тъй като те предоставят обективна информация за ефективността на прилаганите хигиенни и технологични мерки.

3.7. Принцип 7 – Документация и водене на записи

Документацията и воденето на записи са съществен елемент от HACCP системата и служат като доказателство за нейното ефективно прилагане. Те включват описание на HACCP плана, процедурите за мониторинг, коригиращите действия, резултатите от верификацията и всички записи, свързани с управлението на критичните контролни точки.

4. Разработване на HACCP план

Разработването на HACCP план представлява структуриран и систематичен процес, който се осъществява на базата на седемте принципа на HACCP и е съобразен със спецификата на конкретното производство или дейност. Основните етапи при изготвянето на HACCP план включват:

1. **Сформиране на HACCP екип**, включващ специалисти с познания по технология на храните, микробиология, хигиена и управление на качеството.
2. **Описание на продукта**, включително състав, физико-химични характеристики, микробиологични параметри, условия на съхранение и трайност.
3. **Определяне на предназначението на продукта и целевите групи потребители**, като се отчитат уязвими групи от населението при необходимост.
4. **Изготвяне на технологична схема (поточна диаграма)** на процеса, обхващаща всички етапи – от прием на суровини до крайния продукт.
5. **Потвърждаване на технологичната схема на място**, с цел осигуряване на нейната пълнота и съответствие с реалния производствен процес.
6. **Прилагане на седемте принципа на HACCP**, чрез анализ на опасностите, определяне на критичните контролни точки, установяване на критични граници, процедури за мониторинг, коригиращи действия, верификация и документация.

В резултат на тези етапи се разработва HACCP план, който представлява основен инструмент за управление на безопасността на храните и за осигуряване на контрол върху биологичните, химичните и физичните опасности, с водещо значение на микробиологичния риск.

HACCP планът е динамичен документ, подлежащ на актуализация при промени в производствените условия и нормативните изисквания, и е основен инструмент за управление на микробиологичната безопасност на храните

5. Системи за управление на безопасността на храните, базирани на HACCP

Системата HACCP представлява основополагаща методологична рамка, върху която са изградени съвременните системи за управление на безопасността на храните, разработени и прилагани чрез международно признати стандарти и сертификационни схеми. В практиката HACCP не се прилага изолирано, а се интегрира с добрите производствени и хигиенни практики (GMP, GHP), както и със стандартизирани системи за управление, които осигуряват цялостен и устойчив контрол на рисковете.

Най-разпространените системи за управление на безопасността на храните, базирани на HACCP, включват:

- ISO 22000 – система за управление на безопасността на храните;
- FSSC 22000 – схема за сертификация, базирана на ISO 22000;
- IFS и BRCGS – стандарти, прилагани основно в хранително-вкусовата промишленост и търговските вериги.

Общ за всички тези системи е подходът, основан на анализ и управление на рисковете, като HACCP принципите формират ядрото на контрола върху биологичните, химичните и физичните опасности. Интегрирането на HACCP в системите за управление на безопасността на храните осигурява систематичен, превантивен и проследим подход, който надхвърля контрола на крайния продукт и е насочен към управление на процесите.

6. Сертификация на системите за управление на безопасността на храните

Сертификацията представлява процедура, при която независим сертифициращ орган оценява съответствието на системата за управление на безопасността на храните с изискванията на определен стандарт. Тя е доброволен, но широко разпространен инструмент за доказване на надеждността и ефективността на прилаганите контролни мерки.

Сертификацията по стандарти, базирани на HACCP, потвърждава, че:

- системата е внедрена и функционира в съответствие с международно признати изисквания;
- идентифицираните опасности са адекватно управлявани;
- са осигурени процедури за мониторинг, коригиращи действия и верификация;
- документацията и записите гарантират проследимост и контрол.

В контекста на микробиологичната безопасност сертификацията има значение като външна оценка на ефективността на хигиенните и технологичните мерки, но не замества вътрешния контрол и лабораторния мониторинг. Тя служи като допълнителна гаранция за партньори, контролни органи и потребители.

7. Акредитация – значение и връзка с микробиологичния контрол

Акредитацията представлява официално признаване на компетентността на органи за оценяване на съответствието, включително лаборатории за изпитване, сертифициращи и инспектиращи органи. За разлика от сертификацията, която се отнася до системи за управление, акредитацията е насочена към доказване на техническата и организационната компетентност.

В областта на микробиологичната безопасност на храните акредитацията има ключово значение за:

- надеждността и валидността на микробиологичните изпитвания;
- възпроизводимостта и проследимостта на резултатите;
- доверието в лабораторния контрол като част от HACCP и СУБХ.

Акредитираните микробиологични лаборатории работят по утвърдени методи, прилагат вътрешен контрол на качеството и участват в междублабораторни сравнения. Това осигурява обективна оценка на микробиологичните показатели и подпомага верификацията на HACCP системите.

Специалност

„Молекулярна биология“

КОНСПЕКТ ЗА ДЪРЖАВЕН ИЗПИТ

СПЕЦИАЛНОСТ „МОЛЕКУЛЯРНА БИОЛОГИЯ“

**ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНО-КВАЛИФИКАЦИОННА СТЕПЕН
„БАКАЛАВЪР“**

ПРОФЕСИОНАЛНА КВАЛИФИКАЦИЯ „МОЛЕКУЛЯРЕН БИОЛОГ“

1. Организация на прокариотната клетка. Бактериална клетъчна стена. Цитоплазмена мембрана и вътреклетъчни мембранни системи. Бактериална цитоплазма. Включения. Нуклеоид. Капсула и слизести слоеве. Фимбрии, пили, флагелуми. Бактериални ендоспори.
2. Структурна организация на еукариотната клетка. Двумембранни клетъчни органели – структура и функция.
3. Хромозомите – клетъчни структури, носители на наследствеността. Морфология и молекулен строеж. Кариотип.
4. Мъжки и женски полови клетки – образуване и видове. Оплождане. Етапи на ембрионалното развитие при животните.
5. Генетика на пола. Детерминиране на пола при мъжка и женска хетерогаметност. Половосвързана наследственост.
6. Типове тъкани при животните – произход, функция, устройство и класификация (с кратка характеристика на подвидовете).
7. Ензими. Общи свойства на ензимите. Субстратна специфичност на ензимното действие. Кинетика на ензимната реакция. Регулация на ензимната активност.
8. Ферментации – алкохолна, млечнокисела, мравченокисела, маслено-кисела, пропионово-кисела. Представители, биохимизъм, приложение.
9. Метаболизъм на въглехидрати. Гликолитичен обменен път. Цикъл на лимонената киселина, глиоксалатен цикъл и пентозо-фосфатен цикъл. Биосинтеза на олиго- и полизахариди. Регулация на въглехидратния метаболизъм.
10. Нуклеинови киселини. Първична и вторична структура на ДНК и РНК. Денатурация и ренатурация, хибридизация. Секвениране по Сенгър.
11. Репликация. Полуконсервативен модел. Молекулен апарат – репликон, ДНК полимерази. Механизъм и основни етапи – инициация, удължаване (синтез на водещата и изоставащата верига) и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти.
12. Транскрипция. Молекулен апарат – транскрипционна единица, РНК-полимерази. Механизъм и основни етапи – инициация, удължаване и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти.
13. Транслация. Генетичен код. Молекулен апарат – иРНК, тРНК и рибозоми. Механизъм и основни етапи на транскрипция – натоварване на аминокиселините върху тРНК, инициация, удължаване и прекратяване, особености при прокариоти и еукариоти.
14. Регулация на генната експресия при прокариоти – основна цел, координирана регулация на прокариотните гени, лактозен оперон. Регулация на генната експресия при еукариоти – основни цели, нива и механизми на регулация.
15. Репликация и регулация на генната експресия при вируси с РНК геноми.
16. Подвижни генетични елементи (транспозони) – класификация, теории за геномната функция. Примери за функционални подвижни елементи.
17. Вектори за молекулярни клониране – плазмидни и фагови вектори, космиди. Клонирание в плазмидни вектори, скрининг и селекция на рекомбинанти – инсертна инактивация, синьо-бяла селекция.
18. Получаване на индивидуални ДНК клонове – геномни и кДНК библиотеки. Получаване на клонове посредством PCR. Клонирание в pGemT Easy.

19. ДНК маркери: основни видове, характеристики и прилагането им в екологични проучвания.
20. Биологични бази данни – структура. NCBI – GeneBank. Сравняване на секвенции и BLAST.
21. Дизайн и анализ на биологичен експеримент: принципи, етапи и методи за обработка и интерпретация на експериментални данни.
22. Микробни продуценти на биопродукти – морфологични, физиологични, генетични и технологични характеристики. Индустриални микробни биотехнологии за получаване на биологично активни вещества (антибиотици и витамини).
23. Растителна клетка – специфични структури. Цитологична характеристика, местоположение и функции на растителните тъкани.
24. Обща характеристика и класификация на талусни и кормусни растения.
25. Фотосинтеза. Обща характеристика. Пигментни системи. Механизми на фотосинтезата.
26. Растителни *in vitro* култури; видове култури, начини на култивиране, значение и практическо приложение. Тотипотентност.
27. Тип *Arthropoda* (Членестоноги) – обща характеристика. Подтип *Chelicerata* (Паякообразни) – морфология на тялото при различните разреди и представители.
28. Произход и еволюция на надклас *Tetrapoda* (Четирикراки).
29. Основни принципи в структурата и организацията на нервната система. Краен мозък – външно описание и вътрешен строеж на хемисферите. Цито- и миелоархитектоника на мозъчната кора. Локализация на функциите в кората.
30. Физиология на възбудимите системи. Мембранен потенциал и потенциал на действие. Невронът като възбудима структура. Синапси и видове медиатори.
31. Структурни и функционални характеристики на петте класа човешки имуноглобулини IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие – генетика на VDJ пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности, ензими.
32. Пътища на сигнална трансдукция при ембрионалното развитие. Wnt сигнализация и Wnt рецептори. Hedgehog сигнализация и Hedgehog рецептори.
33. Принципи на регенерацията. Модели за изучаване на регенерацията. Регенеративна медицина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бечев, Д. Морфология и систематика на насекомите. 2010, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
2. Влахов, С. Микробиология. Акад. изд. „Проф. М. Дринов“, София, 2006.
3. Воденичаров, Д. Систематика на растенията. Част I. Прокариотни водорасли и талусни растения. Пенсофт, София, 2000.
4. Гочев, В. Биотехнология на антибиотици и витамини. 2015, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
5. Джамбазов, Б., Бацалова, Т. Практически занятия по клетъчна биология. 2010, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
6. Донеv, А., А. Стоянова, П. Бояджиев. 2009. Ръководство за лабораторни упражнения по зоология на безгръбначните. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
7. Драганов, М., Попов, Н. Клетъчна биология. 2010, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
8. Дюкянджиев, Ст., С. Наимов. Генно инженерство. 2006, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
9. Иванова, Е. Генетика във въпроси и отговори. 2003, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
10. Иванова, Е., Стайкова Т., Андрееvко Е. Генетика с биологични осvоvи на поведението и психогенетика. 2011, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
11. Иванова, Е., Стайкова, Т., Ирикова, Т. Генетика на човека. 2001, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
12. Иванова, Е., Стайкова, Т., Ирикова, Т. Ръководство за упражнения по генетика. 2002, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
13. Коева, И., Атанасова, П., Петрова, Е., Пенкова, Н., Тричкова, В. Цитология, обща хистология, ембриология. 2005, ИК „ВАП“, Пловдив.
14. Косекова, Г., Митев, В., Алексеев, А., Николов, Т., Лекции по биохимия, 2^{po} преработено издание, 2010, Централна медицинска библиотека, София.

15. Минков, И., Баев, В., Даскалова, Е., Денев, И., Яхубян, Г., Гозманова, М., Гечев, Ц., Молекулярна генетика. 2013, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
16. Митев, Д. 2010. Зоология на гръбначните животни. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
17. Младенов, Р, Тенева, И. 2011. Фикология. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив
18. Николова, М., С. Тинешев. Учебно пособие за тестова проверка върху опорно-двигателен апарат, 2011, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив
19. Нинова, Д., Анатомия и морфология на растенията, 2003. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив
20. Овчаров, Вл., Такева, Цв. 1996. Цитология, обща хистология и обща ембриология. МИ „Арсо“.
21. Петков, П. 2003. Цитология, обща хистология и ембриология. Изд. „Знание“.
22. Петкова, С., Рукмански, К., Делчев, И. 1999. Генетика. София, Земиздат.
23. Пирьова, Б., Начев, Н. Физиология на човека. 2006, Изд. Арсов, София,
24. Попов, П., Ирикова, Т. Обща генетика. 2003, УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
25. Попова, М., Чешмеджиев, И., Терзийски, Д. Систематика на растенията. 2012, Акад. издателство на Аграрния университет, Пловдив.
26. Синельников, Р. Д. *Атлас анатомии человека: I, II, III, том* 1972.
27. Тачев, А. Физиология на човека и животните. 2010, Университетско издателство „П. Хилендарски“, 2010.
28. Тенева, И. Фикология. – Второ преработено и допълнено издание. 2025.
29. Физиология на животните, Колос, Хасково, под ред. на Авр. Петков, 2000.
30. Чучков, Х., Йотовски, П. Цитология, обща хистология, обща ембриология. Университетско издателство „Св. Климент Охридски“, София, 2011.
31. Шмидт, Т. Физиология человека. Мир, Москва, 1996.
32. Яхубян, Г. 2025. Регулация на генната експресия при еукариоти: Транскрипция и Транскрипционен контрол. УИ „Паисий Хилендарски“, Пловдив.
33. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A. Essential Cell Biology, 3rd ed., Garland Science. ISBN 0815341296, 2009.
34. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. Molecular Biology of the Cell 4th ed., New York: Garland Publishing, 2002.
35. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. Biochemistry. New York: W. H. Freeman and Co, 2002.
36. Claverie, J.-M. Notredame. Bioinformatics For Dummies, 3rd ed., 2008.
37. Cooper, G. M. The Cell – A Molecular Approach. 2nd ed., Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc. 2000.
38. Encyclopedia of life sciences. WILEY ONLINE LIBRARY. [www.els.net]
39. Gilbert, S. F. Developmental Biology (online), 9th ed., Sinauer Associates, Inc. [www.devbio.com], 2011.
40. Krebs J. E. Lewin's Genes X. J&B Publishers. 2011.
41. Lee, R. E. Phycology, 4th ed., Cambridge, Cambridge University Press, 2008.
42. Leninger, A., Nelson, DL., Cox, MM., Leninger Principles of Biochemistry, 5th ed., Plagrove Macmillan, 2008.
43. Norkin, L. C. Virology Molecular Biology and Pathogenesis, 2010.
44. Willey, J., Sherwood, L., Woolverton, C. Prescott, Harley, Klein's Microbiology. 7th ed., McGraw- Hill Higher Education, 2008.
45. Willey, J., Sherwood, L., Woolverton, Cr. Prescott's Microbiology, 9th ed., McGraw-Hill Higher Education, 2017.

Растенията, животните и висшите протисти са **еукариоти**. Бактериите и цианобактериите са **прокариоти**. Основните характеристики на прокариотната клетка са следните: (1) Липсва морфологически обособено ядро, генетичният материал е локализиран в нуклеоид, който не е ограничен от ядрена мембрана; (2) Слаба компартментализация; липсват мембранни органели като митохондрии, хлоропласти, апарат на Голджи, ендоплазматичен ретикулум; (3) Клетъчната мембрана не съдържа стероли, като холестерол; (4) Рибозомите са 70S, с 30S и 50S субединици; (5) Прокариотната клетка е хаплоидна; дели се чрез проста фузия.

Прокариотите се разделят на две големи таксономични групи – Еубактерии и Архебактерии. **Еубактериите** (същински бактерии) съдържат пептидогликан (муреин) в клетъчната си стена. Основен компонент на муреина е мурамовата киселина. Клетъчните стени на някои **архебактерии** съдържат псевдомуреин, в който липсва мурамова киселина. В прокариотната клетка са установени редица структури: клетъчна стена, цитоплазмена мембрана, цитоплазма, рибозоми, нуклеоид, капсула и слизести слоеве, фимбрии, пили, флагелуми, ендоспори.

Клетъчна стена

Всички прокариотни клетки с изключение на родове *Mycoplasma* и *Thermoplasma* (архебактерии без клетъчна стена) притежават стена. Клетъчната стена е един от най-съществените компоненти на прокариотната клетка по няколко причини: (1) стената е здрава, придава форма на клетката и я предпазва от осмотичен лизис; (2) клетъчната стена участва в патогенезата при редица патогенни бактерии; (3) стената защитава клетката от токсични субстанции; (4) стената е място за действие на някои антибиотици.

През 1884 г. Кристиан Грам разработва оцветителен метод, по който бактериите се разделят на две групи. Грам-положителните бактерии (Грам⁺) се оцветяват в синьо-виолетово, а Грам-отрицателните (Грам⁻) в розово-червено. Оцветяването по Грам корелира със съществени структурни особености на бактериите и е важен таксономичен признак. Грам⁺ и Грам⁻ бактерии се различават помежду си, преди всичко по устройството на клетъчните стени.

Основен компонент на клетъчната стена е хетерополимерът **пептидогликан** (муреин). Пептидогликанът се състои от полизахариден скелет и странична верига съдържаща D- и L-аминокиселини. Скелетът на веригите е съставен от редуващи се остатъци на N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамова киселина, свързани с β -1,4-гликозидни връзки. N-ацетилмурамова киселина представлява N-ацетилглюкозаминлактат. С карбоксилната група на лактилния остатък на N-ацетилмурамовата киселина е свързана къса пептидна верига, включваща аминокиселините L-аланин, D-глутаминова киселина, *meso*-диаминопимелинова киселина (*meso*-DAP) и D-аланин. При повечето Грам⁺ бактерии, *meso*-DAP е заместена от L-лизин. Три от аминокиселините (D-глутаминова киселина, *meso*-DAP и D-аланин) не се срещат в природните белтъци.

Страничните вериги на пептидогликана са свързани чрез пептидни връзки, които варират. Диаминокиселините (*meso*-DAP и L-лизин) изпълняват важна роля в междумолекулното свързване, тъй като образуват пептидни връзки и с двете си аминокиселини. При Грам⁻ бактерии карбоксилната група на терминалния D-аланин е свързана директно с аминокиселината на *meso*-DAP. Грам⁺ бактерии осъществяват напречното свързване чрез пептиден мост, съставен от 1 до 5 аминокиселинни остатъка (най-често пентаглицинов мост). В резултат на напречното свързване, пептидогликанът добива структурата на мрежа, която здрава и поддържа формата на клетката. Мурамовата киселина, D-аминокиселините и *meso*-DAP не се синтезират от бозайниците.

Клетъчна стена при Грам-положителни бактерии. Грам⁺ бактерии са обвити от плътна, хомогенна клетъчна стена съставена предимно от многослоен пептидогликан с дебелина 20-80 nm. Стената съдържа също голямо количество **тейхоеви киселини** – полимери на глицерол или рибитол, свързани с фосфатни групи. Към глицероловите или рибитоловите групи се присъединяват аминокиселини (най-често аланин) или захари (глюкоза). Тейхоевите киселини се свързват с пептидогликана или с липидите на цитоплазмената мембрана; този случай се наричат липотейхоеви киселини. Тейхоевите киселини са отрицателно заредени и концентрират метални йони около

молекулите си; достигат до повърхността на пептидогликана и придават на клетъчната стена отрицателен заряд. Тези молекули са от значение и за поддържане структурата на клетъчната стена.

Клетъчна стена при Грам-отрицателни бактерии. Грам-отрицателната клетъчна стена има комплексна структура. Тя включва тънък (1-3 nm) пептидогликан, съставен от 1 или 2 слоя, обкръжен от **външна мембрана**. Пространството между цитоплазмената и външната мембрана се нарича периплазмено пространство (периплазма). Пептидогликанът при Грам⁻ бактерии се намира в периплазменото пространство. Размерите на периплазмата варират при различните Грам⁻ бактерии, най-често от 30 до 70 nm. Периплазмата съдържа редица протеини – предимно хидролитични ензими (**екзоензими**) и транспортни белтъци. Само при някои Грам⁺ бактерии се установява подобна тясна цепнатина между цитоплазмената мембрана и пептидогликана, поради което за периплазма се говори предимно при Грам⁻ бактерии.

Външната мембрана на стената е съставена от белтъци, липиди и липополизахариди. Липополизахаридите са най-съществените компоненти на външната мембрана и са съставени от три части: липид А, сърцевинен полизахарид и О-странична верига. Липополизахаридът (LPS) е проучен детайлно при род *Salmonella*. Липид А се състои от два фосфорилирани остатъка на глюкозамин, естерифизирани с дълговерижни мастни киселини. Сърцевинният полизахарид е прикрепен към липид А. При *Salmonella* е изграден от 10 захарни остатъци, повечето със специфична структура. Сърцевинният полизахарид съдържа заредени захари и фосфатни групи и допринася за отрицателния заряд на бактериалната повърхност. О-страничната верига или **О антигенът** е къса, повтаряща се последователност от захарни остатъци, някои от които са специфични.

Липополизахаридът предпазва патогенните Грам⁻ бактерии от имунната защита на гостоприемника. О-страничната верига се нарича **О антиген**, защото предизвиква имунен отговор. Много Грам⁻ бактерии са в състояние бързо да променят състава на странични вериги, като по този начин преодоляват защитните механизми на гостоприемника. Липид А често е токсичен; в резултат на това LPS може действа като **ендотоксин**. Външната мембрана има по-голяма пропускливост от цитоплазмената, поради наличието на поринови канали, съставени от три молекули, наречени порини. През каналите преминават молекули с размери 600 – 700 Da.

Цитоплазмена мембрана

Цитоплазмената мембрана е най-динамичната структура в прокариотната клетка. Тя е определяща за контакта на клетката с обкръжаващата я среда. Мембраната е **селективна полупропусклива бариера**, която регулира както постъпването на вещества в клетката, така и извеждането им от клетката в средата. Бактериалната мембрана позволява свободно движение на вода и незаредени молекули с маса около 100 Da. По-големи молекули и заредени субстанции се придвижват само с участие на специални мембранни транспортни процеси и **транспортни системи**. Прокариотите са лишени от вътреклетъчни органели, поради което в мембраната са локализираны редица важни метаболитни процеси: **аеробно дишане, фотосинтеза и синтез на АТР**. Освен транспортни протеини, медиращи постъпването на вещества в клетката прокариотната мембрана съдържа **рецепторни молекули – сензорни протеини**, които определят концентрацията на молекулите в средата и изпращат сигнали в цитоплазмата. Чрез тях, клетката може да установи и отговори на химични сигнали от обкръжаващата я среда. Мембраната съдържа **ензими**, участващи в синтеза клетъчната стена, формирането на септа в делящи се клетки, мембранный синтез, репликацията на ДНК, фиксацията на CO₂ и окислението на амоняк.

Бактериалните мембрани са съставени от около 40% фосфолипиди и 60% белтъци. Фосфолипидите са амфипатични молекули с полярни, хидрофилни глицеролови „глави“, свързани чрез естерни връзки с две неполярни, хидрофобни мастнокиселинни „опашки“. Тези свойства на липидите им позволяват да формират бислой в мембраната, в който са диспергирани различни структурни и ензимни протеини, които изпълняват повечето мембранни функции. Бактериалните мембрани се различават от клетъчните мембрани на еукариотите по това, че съдържат **наситени** или **мононенаситени** мастни киселини и нормално **не съдържат стероли**, като холестерол. Редица бактериални мембрани, обаче съдържат пентациклични стерол-подобни молекули наречени **хопаноиди**, които стабилизират мембраната.

Мембраните при архебактериите са различни, което е свързано с адаптирането им към екстремални местообитания. Мембраните формират бислой, но липидите са наситени, разклонени, повтарящи се изопреноидни субединици, свързани с глицерола чрез етерни връзки.

Независимо, че прокариотите нямат мембранни органели, като митохондрии и хлоропласти, някои бактерии притежават **вътреклетъчни мембранни структури**. Често цитоплазме-

ната мембрана образува **вгъвания**, които заемат голяма част от вътреклетъчното пространство при фототрофните и нитрифициращите бактерии. При нитрифициращите бактерии (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*) вътрешните мембранни структури осигуряват по-голяма повърхност във връзка с интензивното дишане. Мембранните системи при фототрофните бактерии съдържат пигменти, поглъщащи светлина (бактериохлорофил и каротеноиди), а също компоненти на фотосинтетичната електрон-транспортна верига и фосфорилиращата система.

Друга мембранна структура при бактериите е **мезозомата**. Мезозомите са инвагинации на цитоплазмената мембрана под формата на везикули, тубули или ламели. Въпреки, че мезозомите се свързват с различни функции (напр. координация на репликацията на ДНК, формиране на септа при деленето на клетката) много бактериолози смятат, че те са артефакти, получени по време на химическата фиксация на бактериите за електронна микроскопия.

Цитоплазма и включения

Цитоплазмата е съдържанието на клетката, ограничено от цитоплазмената мембрана. Цитоплазмената фракция, която има хомогена консистенция и съдържа растворими РНК, ензими, продукти и субстрати на метаболитни реакции се нарича **цитозол**. Друга част от цитоплазмата е представена от структурни елементи: рибозоми, нуклеоид и включения. Включенията в цитоплазмата са органични и неорганични, и най-често са резервни вещества. Някои от включенията нямат собствена мембрана и лежат в цитоплазмения матрикс, напр. гликоген, цианофицин. Други включения имат обвивка, която е еднослойна и може да се състои само от протеини или да бъде мембранна структура, съставена от протеини и фосфолипиди. Включения с мембрана са поли- β -хидроксibuтират, карбоксизоми, газови вакуоли.

Органичните включения обикновено са резервен източник на въглерод и енергия. **Гликогенът** е разклонен полимер на глюкозата. Глюкозните остатъци са свързани в дълги вериги с α -1,4-връзки; в местата на разклоненията, връзките са α -1,6. Гликогенът е диспергиран равномерно цитоплазмения матрикс под формата на малки гранули и може да се наблюдава само с електронен микроскоп. Гликогенът, наричан още животинска скорбяла, се синтезира от *Escherichia coli*, *Salmonella* и други ентеробактерии, някои видове *Bacillus*, дрожди.

Поли- β -хидроксibuтиратът е полиестер, разтворим в хлороформ, съставен от приблизително 60 остатъка на β -хидроксимаслена киселина, свързани с естерни връзки. Полихидроксibuтиратът се натрупва във включения, които могат да достигнат до 80% от сухата маса на клетката. Наричат се суданофилни, т.к. се оцветяват с багрилото суданово черно и могат да се наблюдават със светлинен микроскоп. Поли- β -хидроксимаслена киселина синтезират видове на род *Pseudomonas*, *Bacillus megaterium*, анаеробни фототрофни бактерии.

Гликогенът и поли- β -хидроксibuтиратът са двете основни съединения, които бактериите използват като резервни източници на въглерод и енергия. Обикновено, бактериите синтезират само гликоген или поли- β -хидроксibuтират, но някои пурпурни серни бактерии образуват и двете.

Скорбяла като резервен източник на въглерод и енергия, образуват бактериите от род *Neisseria* и *Acetobacter pasteurianum*. **Гранулеза** (скорбялоподобно вещество) се съдържа в голямо количество в клетките на видове от род *Clostridium*. **Мастни вещества** под формата на липидни капки образуват и използват като резервен източник на въглерод и енергия, много бактерии, дрожди и други гъби. Микобактериите могат да съдържат до 40% восъци.

Цианофицинови гранули образуват цианобактерите. Състоят се от полипептид, изграден от аминокиселините аргинин и аспартат в еквимоларни количества. Цианофициновите гранули служат като резервен азотен източник, който цианобактериите използват при недостиг в средата.

Газови вакуоли (аерозоми) са установени при бактерии, обитаващи водна среда (цианобактерии, фототрофни бактерии, *Thiothrix*, *Halobacterium*). Представяват агрегати от газови везикули. Стената на везикулите се състои от протеинови субединици, свързани така, че образуват твърд затворен цилиндър, който е кух и непроницаем за вода, но свободно пропуска атмосферните газове. Чрез газовите вакуоли бактериите „плуват“ близо или на повърхността на водоема и могат да променят разположението си в зависимост от наличието на субстрати, кислород, светлина.

Карбоксизоми съдържат клетките на някои автотрофни бактерии (нитрифициращи, фототрофни бактерии, цианобактерии). Имат форма на многостенник с диаметър 90 – 100 nm, обвит с еднослойна белтъчна обвивка. Карбоксизомите съдържат ензима рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза, който е ключов за фиксацията на CO_2 в цикъла на Калвин.

Неорганичните включения са два основни типа: полифосфатни и серни гранули. Много бактерии съхраняват фосфати като **полифосфатни** или **волутинови** гранули. Полифосфатните естери служат като фосфатно депо и източник на енергия. Полифосфатните гранули се наричат още „**метахроматинови**“ т.к. проявяват свойството метахромазия – оцветяване в цвят, различен от този обогатяващия разтвор. Полифосфати образуват някои млечнокисели бактерии (*Lactobacillus bulgaricus*), *Corynebacterium diphtheriae*, дрожди и др.

Серни гранули образуват редица фототрофни бактерии (пурпурни и зелени серни бактерии), които използват H_2S като електронен донор в процеса фотосинтеза. Сярата, получена при окислението на H_2S се натрупва в периплазмата или в специални цитоплазмени гранули. При отсъствие на H_2S , натрупаната в клетката сярa се окислява до сулфат.

Нуклеоид. Генетичният материал на прокариотите е представен от молекула (молекули) ДНК, разположена в компактна структура, локализирана в ограничен участък на цитоплазмата, без собствена ядрена мембрана (за разлика от еукариотите). ДНК молекулата включва няколко хиляди гена, разположени линейно и се нарича **хромозома**. В химично отношение хромозомата се състои от около 60% ДНК, 30% РНК и 10% белтъци. Обикновено прокариотите съдържат една двуверижна пръстеновидна ДНК, но някои бактерии съдържат линейна ДНК хромозома, а други, като *Vibrio cholerae* и *Borrelia burgdorferi* (съответно причинителите на холера и лаймска болест), имат повече от една хромозома. Нуклеоидът е компактно образование. Стабилизираща роля в организацията му изпълняват специфични белтъци, които участват в „упаковането“ на ДНК.

Рибозомите са структурите, в които се извършва белтъчният синтез. Прокариотните рибозоми имат коефициент на седиментация 70S. Те са съставени от две субединици – 30S и 50S. По размери и някои други особености бактериалните рибозоми са сходни с рибозомите на митохондриите и хлоропластите. Малката субединица (30S) съдържа 16S рРНК и в повечето случаи по една молекула от 21 вида белтъци. Голямата субединица (50S) се състои от два типа рРНК (23S и 5S) и около 35 молекули различни белтъци, представени в едно копие. Бактериалната клетка съдържа от 5000 до 50 000 рибозоми.

Капсула и слизест слой

Върху клетъчната стена на много бактерии се отлагат слоеве с високо водно съдържание. **Капсулата** е добре организиран слой, който е тясно свързан с клетката и не се отмива лесно. **Слизестият слой** е дифузна зона от неорганизиран материал, който лесно се отделя.

Капсулата и слизестите слоеве обикновено се състоят от **полизахариди** и/или **пептиди**. **Капсулните полизахариди** освен глюкоза съдържат аминокиселини, рамноза, уронови киселини, 2-кето-3-дезоксигалактонова киселина и органични киселини, като пирогроздена и оцетна. Полизахаридни капсули са установени при *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*. При *Bacillus anthracis* капсулата е белтъчна и се състои от поли-D-глутаминова киселина.

Редица компоненти на капсулата се отделят в средата под формата на **слуз**. Обилно образуване на слуз се наблюдава при култивиране на среди, съдържащи захароза. Хетероферментативната млечнокисела бактерия *Leuconostoc mesenteroides* бързо превръща разтвор, съдържащ тръстиков захар в декстран (слуз). Това превръщане протича извън клетката и се катализира от извънклетъчна хексозилтрансфераза–декстранзахараза. Декстранът се състои от остатъци на α -D-глюкоза, свързани с 1,6 връзки, т.е. 1,6- α -глюкан.

Капсулата не е необходима за бактериалния растеж и репродукция, но дава известно преимущество. (1) Придава на някои патогенни микроорганизми резистентност към фагоцитоза. Например, *Bacillus anthracis* „избягва“ поглъщане от фагоцитите, т. к. лизозомните ензими на фагоцитите не могат да инициират хидролиза на поли-D-глутаминовата капсула. (2) Капсулата е с високо водно съдържание и предпазва клетката от изсушаване. (3) Капсулата изключва бактериофаги и повечето хидрофобни токсични материали, като детергенти. (4) Капсулата и слизестите слоеве често медиат прикрепяне на клетките към твърди повърхности във водна среда или повърхността на тъканите на гостоприемника. (5) Капсулни материали (например декстран) се синтезират при усвояване на захари и представляват резерви на въглехидрати за метаболизма.

Фимбрии, пили, флагелуми

Фимбриите и **пилите** са фини, къси израстъци на повърхността на прокариотната клетка, които нямат отношение към подвижността и са по-тънки от флагелумите. Клетката може да бъде покрита с до 1000 **фимбрии**, видими само с електронен микроскоп. Фимбриите са характерни предимно за Грам-отрицателни бактерии; най-често участват в прикрепянето на бактериите към

повърхности, субстрати или други клетки. **Пилите** (F или sex пили) са подобни израстъци; от 1 до 10 на клетка. Пилите са детерминирани от половия фактор (F плазмид) или други конюгативни плаزمиди и са необходими за бактериалната конюгация. Някои бактериални вируси се прикрепят специфично към рецептори върху пили и стартират репродуктивния си цикъл

Повечето бактерии се придвижват с **флагелуми**. Броят и разположението на флагелумите имат таксономично значение. Разграничават се 4 типа клетки: монотрихи, лофотрихи, амфитрихи, перитрихи.

Бактериалният флагелум е съставен от три части – филament (нишка), базално тяло и кука, свързваща нишката с базалното тяло. **Нишката** е кух, ригиден цилиндър, изграден от субединици на белтъка флагелин. **Куката** е съставена от различни протеинови субединици. **Базалното тяло** е най-сложната част от флагелума. При *E. coli* и повечето Грам⁻ бактерии, е съставено от четири пръстена, свързани с централна ос. Най-външните L- и P пръстени се свързват съответно с липополизахаридния и пептидогликановия слой. Вътрешният M пръстен контактува с плазмената мембрана, а S пръстенът е разположен над него. Грам⁺ бактерии имат само два пръстена – вътрешен, свързан с цитоплазмената мембрана и външен, свързан с пептидогликана. Флагелумите се движат в резултат на взаимодействието между S- и M пръстените. Оста на базалното тяло се разполага между куката и края на M пръстена, който свободно се върти в цитоплазмената мембрана, а S пръстенът е прикрепен и е неподвижен. Потокът от протони между двата пръстена или между базалното тяло и обкръжаващите го мембранни белтъци генерира протондвижеща сила, която задвижва флагелумите. P- и L пръстените при Грам⁻ действат като опора на въртящата се ос.

Бактериални ендоспори

Редица Грам⁺ бактерии могат да формират специални резистентни, инертни структури, наречени **ендоспори**. Ендоспорите се развиват във вегетативните клетки на бактерии от родове *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*. Спорите са високо-резистентни към стресови фактори на средата, като топлина, ултравиолетови лъчи, химични дезинфектанти и изсушаване и са начин за преживяване на условия на средата с критична влажност и хранителни вещества. Ендоспорите често преживяват обработка при 100°C в продължение на 30 – 60 min.

Спорите могат да се разполагат централно, субтерминално или терминално в майчината клетка (спорангиум). Понякога спорите са с по-голям диаметър и причиняват издуване на спорангиума. Структурата на спората е комплексна. Спорите често са обкръжени от тънка обвивка, наречена **екзоспориум**. **Обвивката на спората** (екзина), която лежи под екзоспориума е съставена от няколко протеинови слоя; тя е непроницава и отговорна за резистентността към химични вещества. **Кортексът**, който може да заеме повече от половината от обема на спората, се разполага под обвивката. Той се състои от пептидогликан, който е с по-малко напречни връзки отколкото във вегетативната клетка. **Стената на спората** (интина) е навътре от кортексът и обкръжава протопласта или сърцевината. Сърцевината на спората съдържа нормални клетъчни структури, като рибозоми и нуклеоид. Повече от 15% от сухото вещество на спората представлява дипиколинова киселина, свързана с калциеви йони. Калциевият дипиколинат стабилизира споровите нуклеинови киселини. Дехидратацията на протопласта също е от значение за терморезистентността. В процеса на спорообразуване водата се отстранява осмотично от протопласта, което го защитава от температурно и радиационно повреждане.

Спорогенезата (спорулацията) нормално започва при спиране на растежа, вследствие изчерпване на хранителните вещества. Тя е комплексен процес и може да бъде разделен на 7 етапа. (I) – формира се аксиален филament от ядрен материал; (II) – цитоплазмената мембрана се вгъва навътре, затваря част от ДНК и формира септа; (III) – мембраната продължава да расте и поглъща незрялата спора, като по този начин я обвива във втора мембрана; (IV) – образува се кортексът между двете мембрани; натрупват се калциеви йони и дипиколинова киселина; (V) – около кортексът се формира протеиновата обвивка; (VI) – формира се зрялата спора: завършва синтеза на споровата обвивка; увеличава се терморезистентността и пречупването; (VII) – литични ензими разрушават спорангиума и спорите се освобождават. Процесът на спорулация при *Bacillus megaterium* продължава около 10 часа.

Трансформацията на спящите спори във вегетативни клетки също е комплексен процес и протича в 3 етапа: (1) активация, (2) герминация (покълване), (3) прорастване.

Еукариотната клетка, за разлика от прокариотната, притежава сложна мембранна система, която разделя клетъчното пространство на функционално специализирани компартменти. Тази пространствена организация позволява едновременното протичане на несъвместими химични процеси в изолирана среда. Двумембранните вътреклетъчни органели представляват високо специализирани структури в еукариотната клетка, които се характеризират със сложна структурна организация и изключително важно значение за нормалното функциониране на еукариотната клетка. Към тази група органели се отнасят клетъчното ядро, митохондриите и пластидите, включително хлоропластите.

Клетъчното ядро е една от най-отличителните и фундаментални характеристики на еукариотната клетка. То изпълнява едновременно ролята на място за съхранение на генетичната информация и на контролен център, който регулира клетъчните процеси. В него протичат процесите на репликация на ДНК, транскрипция и основните етапи на съзряване на РНК, докато синтезът на протеини (транслацията) протича в цитоплазмата.

Ядрото е обвито от ядрена обвивка, изградена от две мембрани – вътрешна и външна, разделени от перинуклеарно пространство. Външната ядрена мембрана е свързана с ендоплазмения ретикулум, поради което перинуклеарно пространство е директно свързано с неговия лумен. Подобно на мембраните на ендоплазмения ретикулум, външната ядрена мембрана е осеяна с рибозоми, но се отличава със специфичен протеинов състав, богата е на протеини, взаимодействащи с цитоскелета, но не съдържа протеините, отговорни за тубуларната организация на ендоплазмения ретикулум.

Вътрешната ядрена мембрана включва приблизително 60 специфични интегрални протеина, някои от които осъществяват директни връзки с ядрената ламина. Двете мембрани функционират като бариера, която отделя съдържанието на ядрото от цитоплазмата. Както всички клетъчни мембрани, те са изградени от фосфолипиден бислой, пропусклив единствено за малки неполярни молекули. Преминаването на полярни молекули и макромолекули се осъществява единствено през ядрените порови комплекси – специализирани структури, които регулират селективния транспорт на протеини и РНК.

Под вътрешната ядрена мембрана се разполага ядрената ламина – механично устойчива, фибрилна мрежа, която придава форма на ядрото, стабилизира ядрената обвивка и участва в пространствената организация на хроматина. Ядрената ламина е изградена от фибрилари протеини с молекулно тегло 60 – 80 килодалтона (kD), наречени ламини, както и асоциирани с тях протеини (при растителните клетки има сходна мрежа, но съставена от различни протеини). Ламините принадлежат към групата на междинните филаменти и подобно на тях се асоциират, за да образуват по-сложни структури. Прикрепването към вътрешната мембрана се подпомага от посттранслационни модификации, от които особено важна е пренилирането на С-терминални цистеинови остатъци. Ламините се свързват със специфични протеини на вътрешната ядрена мембрана, като емерин и ламин В рецептора, както и с цитоскелета чрез LINC-комплекси, които преминават през двете мембрани.

Ядреният поров комплекс (ЯПК) е изключително голяма структура с молекулна маса приблизително 120 милиона далтона при човека, което го прави около 30 пъти по-голям от рибозома. При гръбначните животни ЯПК е съставен от множество копия на около 30 различни порови протеина, наречени нуклеопорини. В зависимост от своя размер и структура, молекулите могат да преминават през ЯПК по един от два основни механизма – свободна дифузия или селективен транспорт. Малките молекули и някои протеини с молекулна маса под 40 kD могат да дифундират свободно през порите в двете посоки. Повечето протеини и РНК молекули преминават през ЯПК посредством селективен транспорт. Протеините, предназначени за ядрото съдържат специфични аминокиселинни последователности, наречени сигнали за ядрена локализация (NLS). Те се разпознават от транспортни рецептори, които насочват преминаването на протеина през ядрения поров комплекс. Протеините, предназначени за износ от ядрото, също притежават специфични аминокиселинни последователности, наречени сигнали за ядрен експорт (NES).

Вътрешността на ядрото съдържа хроматин, комплекс от ДНК и хистонови и нехистонови протеини. В интерфаза, хроматинът съществува в динамичен баланс между транскрипционно активен еухроматин и по-кондензиран хетерохроматин. Разграничават се два типа хетерохроматин, конститутивен хетерохроматин (постоянно неактивен) и факултативен хетерохроматин (транскрипционно неактивен в конкретната клетка, но потенциално активен в други типове клетки). Огромното количество генетична информация в еукариотната клетка налага нейната ефективна компактизация, за да се побере в микроскопичното ядро. При митоза, хроматинът достига максимална компактизация (до 10 000 пъти), образувайки хромозоми. Основните протеини в хроматина са хистоните. Те са малки, алкални протеини, богати на положително заредени аминокиселини (лизин и аргинин), което улеснява свързването им с отрицателно заредената ДНК. Съществуват пет основни класа хистони, като четири от тях формират хистоновия октамер, а H1 функционира като свързващ хистон, стабилизиращ по-високи нива на структурна организация. Освен хистони, хроматинът съдържа и стотици различни нехистонови протеини, които участват в процеси като репликация и генна експресия. Основната структурна единица на хроматина е нуклеозомата, която се състои от участък ДНК с дължина 147 базови двойки и се навива 1.67 пъти около хистонов октамер, изграден от по две молекули от хистоните H2A, H2B, H3 и H4. Структурата се стабилизира от една молекула свързващ хистон H1, която се прикрепя към ДНК в мястото на навлизането и излизането ѝ от хистоновия октамер. Структурата, включваща нуклеозомната сърцевина и свързания с нея хистон H1 се нарича хроматозома и обхваща около 166 базови двойки ДНК. Отделните нуклеозоми са свързани с участъци линкерна ДНК с дължина около 50 – 60 базови двойки, като това първо ниво на опаковане скъсява дължината на ДНК приблизително 6 – 7 пъти. Следващото ниво на кондензация (нуклеомер) е усукването на тази нишка в 30-нанометрова фибрила, което води до около 50-кратно скъсяване на ДНК спрямо изходната ѝ дължина. Основна роля в този процес играе свързващият хистон H1. Третото ниво на компактизация е формиране на примки, 30 nm фибрила се организира в по-големи примки или домейни. Хроматинът формира примки с дължина от 10 до 100 kbp. Основите на тези примки са закрепени за нехистонови протеинови структури (протеинов скелет), изграден от протеини като топоизомераза II и SMC протеини.

Освен хроматина, в ядрото съществуват множество немембранни компартменти, наричани ядрени телца (ядърце, ядрени петънца, телца на Cajal, PML телца, HSF1 гранули, PcG телца, параядрени петънца, околяядърцев компартмент и SAM68 ядрено телце). Те са динамични структури и обикновено служат за концентриране на специфични компоненти, така че да се повиши ефективността на определени биохимични процеси.

Ядърцето е най-голямото немембранно ядрено телце, функциониращо като фабрика за синтез на рибозомна РНК (рРНК) и сглобяване на рибозомни субчастици. Еукариотните рибозоми съдържат четири вида рРНК, обозначавани като 5S, 5.8S, 18S и 28S рРНК. За да се осигури синтезът на огромно количество рРНК молекули, всички клетки притежават множество копия на съответните гени. Например, човешкият геном съдържа около 200 копия на гена, кодиращ 5.8S, 18S и 28S рРНК, и приблизително 2000 копия на гена за 5S рРНК. Гените за 5.8S, 18S и 28S рРНК са групирани в тандемно повтарящи се участъци (клъстери) на пет различни човешки хромозоми (13, 14, 15, 21 и 22), докато гените за 5S рРНК са събрани в един голям клъстер на хромозома 1. Ядърцето се организира от специфични хромозомни участъци – ядърчеви организатори, съдържащи гените за 5.8S, 18S и 28S рРНК. Морфологично, ядърцето се състои от три региона: фибриларен център, плътен фибриларен компонент и грануларен компонент. Тези региони отразяват последователните етапи на транскрипция, процесинг на рРНК и сглобяване на рибозомите.

Репликацията на ДНК е полуконсервативен процес, при който всяка от двете родителски вериги на ДНК молекулата служи като матрица за синтеза на нова, комплементарна дъщерна верига. Основна роля в този процес играе ензимът ДНК-полимераза. Еукариотните клетки притежават три основни ДНК-полимерази: α (алфа), δ (делта) и ϵ (епсилон). Освен тях, в митохондриите се намира специфична ДНК-полимераза γ (гама), която отговаря за репликацията на митохондриалната ДНК. Всички полимерази добавят нов нуклеотид (dNTP) единствено към свободната 3'-хидроксилна (-OH) група на растящата верига.

Транскрипцията на ДНК е процес, при който генетична информация от участък в ДНК молекула се копира (презаписва) върху нова молекула РНК. Основният ензим, отговорен за синтеза на РНК, е РНК-полимеразата. Тя катализира полимеризацията на рибонуклеозид трифосфати (NTPs), използвайки ДНК верига като матрица. Подобно на синтеза на ДНК, РНК веригите ви-

наги нарастват в посока 5'→3'. За разлика от бактериите, които разполагат само с един тип РНК-полимераза, ядрата на еукариотните клетки съдържат три различни форми на ензима – РНК-полимераза I, РНК-полимераза II и РНК-полимераза III. Макар да имат сходна структура, те се специализират в транскрибирането на различни класове гени. Полимераза I и III осигуряват синтеза на рибозомни РНК, транспортни РНК и малки некодиращи РНК, докато РНК-полимераза II е отговорна за транскрипцията на преобладаващата част от гените (всички кодиращи протеини). РНК процесингът представлява ключов етап в регулацията на генната експресия. Чрез алтернативен сплайсинг една и съща генна последователност може да даде начало на различни белтъчни продукти, което значително увеличава функционалното разнообразие на еукариотния протеом. По този начин сложността на еукариотните организми не произтича единствено от броя на гените, а и от многостепенната регулация на тяхната експресия.

Митохондрияте се срещат във всички растителни и животински клетки. Те са отговорни за окислителното фосфорилиране – процесът, чрез който енергията от разграждането на органични молекули (въглехидрати и липиди) се използва за синтез на АТФ.

Всички митохондрии са ограничени от две ясно разграничени мембрани – външна и вътрешна, които се различават съществено по своя състав, структура и пропускливост. Външната митохондриална мембрана има гладка повърхност и съдържа голям брой интегрални мембранни протеини (порини), които формират водни канали. Благодарение на тях мембраната е пропусклива за малки молекули и йони. Въпреки тази относителна пропускливост, външната мембрана изпълнява важна бариерна и регулаторна функция, тъй като контролира достъпа на по-големи молекули. Между външната и вътрешната мембрана се намира интермембранното пространство, чийто състав по отношение на малките молекули е близък до този на цитозола. Вътрешната митохондриална мембрана е най-специфичният и функционално най-важен структурен компонент на митохондрияте. Тя е силно нагъната и образува множество инвагинации (гънки), наречени кристи, които навлизат в матрикса. Тази нагъната структура значително увеличава нейната обща повърхност и по този начин позволява разполагането на голям брой ензимни комплекси, участващи в електронния транспорт и синтеза на АТФ. Формата, броят и плътността на кристите варират в зависимост от типа клетка и нейните енергийни потребности, като клетки с висока метаболитна активност, например мускулни или чернодробни клетки, притежават митохондрии с изключително гъсто подредени кристи.

Вътрешната мембрана се характеризира с изключително ниска пропускливост за йони и малки молекули, което е от съществено значение за поддържането на протонния градиент. Тя съдържа специфични транспортни протеини, които осигуряват селективен внос и износ на метаболити като АДФ, АТФ, пируват и различни йони. Химичният състав на вътрешната мембрана е уникален, тя е богата на кардиолипин – фосфолипид, който придава допълнителна стабилност на мембраната и е необходим за оптималната функция на протеиновите комплекси на дихателната верига. Вътрешната митохондриална мембрана е мястото, където са локализирани основните протеинови комплекси на електронотранспортната верига (комплексите I, II, III и IV и АТФ-синтазата).

Вътрешността на митохондрияте, ограничена от вътрешната мембрана, се нарича матрикс. Той представлява плътна, богата на протеини среда, в която са разположени множество ензими, участващи в основните окислителни метаболитни процеси. В матрикса протичат реакции от цикъла на Кребс, окислителното декарбоксилиране на пирувата, както и β -окислението на мастни киселини. Освен ензими, матриксът съдържа митохондриална ДНК, рибозоми, транспортни РНК и различни фактори, необходими за репликацията, транскрипцията и транслацията на митохондриалния геном.

Митохондриалната ДНК представлява пръстеновидна двуверижна молекула, която по структура и организация наподобява бактериалната ДНК. Тя кодира малък брой протеини, които са основни компоненти на дихателната верига, както и всички рибозомни РНК и повечето транспортни РНК. Въпреки това, по-голямата част от митохондриалните протеини се кодират от ядрения геном, синтезират се в цитозола от свободните рибозоми и се транспортират в митохондрияте чрез специализирани транслоказни комплекси, разположени във външната и вътрешната мембрана. Митохондриалните рибозоми са по-малки от еукариотните цитозолни рибозоми и имат прокариотни характеристики, което отразява ендосимбиотичния произход на митохондрияте.

Митохондрияте не са статични структури. Те постоянно претърпяват процеси на сливане (фузия) и делене (фисия), които регулират техния брой, форма, размер и вътрешна организация.

Тези динамични промени са от съществено значение за поддържането на функционалната цялост на митохондриалната мрежа, за адаптацията към метаболитните нужди на клетката и за отстраняването на увредени митохондрии чрез митофагия.

В митохондриите протича окислителното фосфорилиране – процес, при който енергията, освободена при преноса на електрони по дихателната верига се използва за синтез на АТФ. Електроните се доставят от редуцирани коензими, получени при разграждането на въглехидрати и липиди. Преносът на електрони е съпроводен с изпомпване на протони от матрикса в интермембранното пространство, което води до образуване на електрохимичен протонен градиент. Енергията, акумулирана в този градиент се използва от АТФ-синтазата за фосфорилиране на АДФ до АТФ. По този начин митохондриите осигуряват по-голямата част от енергията, необходима за поддържане на клетъчните процеси в аеробни условия.

Митохондриите участват и в β -окислението на мастни киселини. Мастните киселини се активират в цитозола чрез свързване с коензим А и след това се разграждат постепенно в митохондриалния матрикс. Всеки цикъл на този процес скъсява мастната киселина с два въглеродни атома и генерира ацетил-КоА, NADH и FADH₂.

Важна функция на митохондриите е участието им в регулацията на калциевата хомеостаза. Те могат да акумулират и освобождават калциеви йони в зависимост от физиологичното състояние на клетката. Чрез това, митохондриите влияят върху вътреклетъчната сигнализация, съкращението на мускулните клетки, секрецията на хормони и невротрансмитери, както и върху активността на множество ензими. Митохондриите имат основна роля и в програмираната клетъчна смърт (апоптозата). При определени физиологични или патологични сигнали те освобождават от интермембранното пространство протеини, които инициират каскада от събития, водещи до контролирано разрушаване на клетката. Нарушения в митохондриалната регулация на апоптозата са свързани с развитието на рак, невродегенеративни заболявания и автоимунни състояния.

Хлоропластите представляват високоспециализирани клетъчни органели от групата на пластидите, в които се осъществява процесът фотосинтеза. Хлоропластите в растителните клетки са сравнително големи органели с дължина приблизително 5 – 10 μm . Подобно на митохондриите, те са оградени от двойна мембрана, наречена хлоропластна обвивка, съставена от външна и вътрешна мембрана. Външната мембрана е сравнително пропусклива за малки молекули и йони поради наличието на порини, докато вътрешната мембрана се характеризира със строго селективна пропускливост и съдържа специфични транспортни протеини. Между двете мембрани се намира тясно интермембранно пространство, което представлява отделен компартмент.

Вътрешното пространство на хлоропласта, заградено от вътрешната мембрана, се нарича строма. Тя представлява функционален аналог на митохондриалния матрикс, съдържащ голямо разнообразие от разтворими ензими, сред които най-важен е рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза/оксигеназата (Rubisco). В стромата се извършват реакциите от цикъла на Калвин, при които се фиксира въглеродният диоксид и се синтезират въглехидрати. Освен ензими, в стромата е разположена и собствената генетична система на хлоропласта, включваща пръстеновидна ДНК, специфични рибозоми от 70S тип, транспортни и информационни РНК молекули. Това позволява на хлоропластите частично сами да синтезират някои от необходимите им протеини, въпреки че по-голямата част от техния протеом е кодиран в ядрото.

Най-характерната особеност на хлоропластите е наличието на трета вътрешна мембранна система – тилакоидната мембрана. Тилакоидната мембрана образува система от плоски мембранни торбички, наречени тилакоиди, които често са подредени в купчинки, известни като грани.

Тилакоидната мембрана затваря вътрешно пространство, наречено лумен, което е физически изолирано от стромата. Тази компартментализация е от основно значение за фотосинтезата, тъй като позволява генерирането на протонен градиент през мембраната по време на електронния транспорт.

В тилакоидната мембрана са интегрирани фотосинтетичните пигменти (хлорофили и каротеноиди), които са организирани заедно с протеини във фотосистеми (Фотосистема I и Фотосистема II). Тези пигмент-протеинови комплекси улавят светлинната енергия и я преобразуват в химична чрез поредица от окислително-редукционни реакции. Процесът е съпроводен от изпомпване на протони от стромата в лумена на тилакоидите, което създава електрохимичен потенциал. Този потенциал се използва от ензима АТФ-синтаза, разположен в тилакоидната мембрана, за синтеза на АТФ по механизъм, аналогичен на този в митохондриите.

В стромата на хлоропластите често се наблюдават и скорбялни зърна и пластоглобули (липидни капки). Скорбялните зърна представляват временни депа за съхранение на фотосинтетичните продукти, които се разграждат през нощта, за да осигурят енергия за метаболизма на растението. Пластоглобулите от своя страна служат като резервоар за липиди, пластохинони и токофероли, участващи в поддържането на мембрания интегритет и защитата срещу оксидативен стрес.

Най-важната функция на хлоропластите е осъществяването на фотосинтезата. Процесът, чрез който светлинната енергия се преобразува в химична енергия, съхранена в органични молекули. Фотосинтезата протича на два етапа – светлинна и тъмнинна фаза. В светлинната фаза, която се осъществява в тилакоидните мембрани, фотосинтетичните пигменти улавят енергията на фотоните и я използват за възбуждане на електрони. Тези електрони се пренасят по електрон-транспортна верига, което води до синтез на АТФ и редуциран никотинамид-аденин-динуклеотидфосфат (НАДФН). Едновременно с това, водата се окислява, освобождавайки кислород като страничен продукт. По този начин хлоропластите са основният източник на молекулен кислород в атмосферата. В тъмнинната фаза на фотосинтезата, протичаща в стромата на хлоропластите, енергията и НАДФН, произведени в светлинната фаза се използват за фиксация на въглероден диоксид и синтез на въглехидрати. Този процес води до образуване на триозофосфати, които служат като прекурсори за синтеза на глюкоза, захароза и скорбяла.

Освен фотосинтезата, хлоропластите участват активно в синтеза на някои жизненоважни биомолекули. В тях протича биосинтезата на мастни киселини, които са основни компоненти на мембранните липиди. Синтезираните в хлоропластите мастни киселини служат като прекурсори за образуването на фосфолипиди и гликолипиди, необходими за изграждането на плазмалемата и мембраните на клетъчните органели. Хлоропластите участват също в синтеза на някои аминокиселини, нуклеотиди и витамини, което подчертава тяхната роля като биосинтетични центрове.

Хлоропластите участват и в азотния и серния метаболизъм на растителната клетка. Асимилацията на неорганичния азот започва в корените, но крайните етапи, редукцията на нитрити до амоний и последващото му включване в аминокиселини като глутамат и глутамин, протичат предимно в хлоропластите. Те са мястото за синтез на почти всички есенциални аминокиселини, включително ароматните (фенилаланин, тирозин, триптофан) и разклонените (валин, левцин, изолевцин). По подобен начин, неорганичната сяра се редуцира и превръща в органичната аминокиселина цистеин именно в хлоропластната строма, което е от основно значение за производството на протеини и глутатион, основният антиоксидант в клетката.

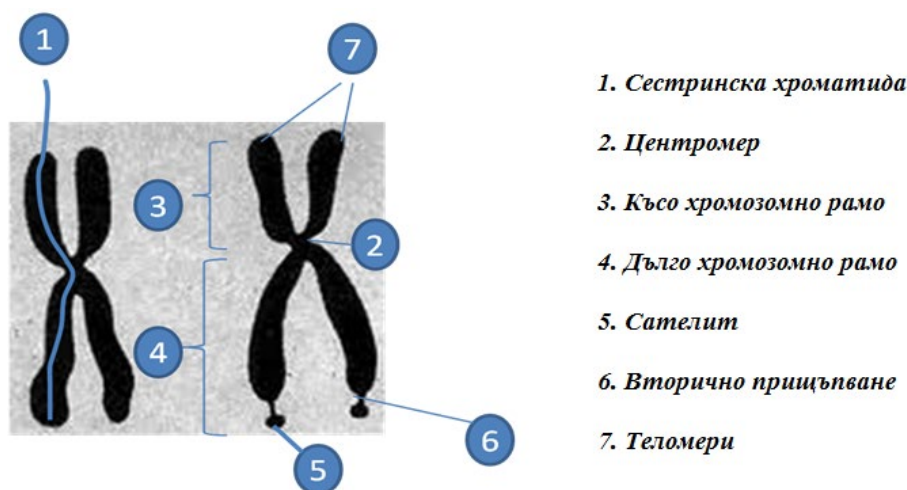
Хлоропластите играят роля и в защитата на клетката от неблагоприятни условия. При висока светлинна интензивност или други стресови фактори, те активират механизми за фотозащита, които предотвратяват увреждането на фотосинтетичния апарат. Тези механизми включват разсейване на излишната енергия и контрол на образуването на реактивни кислородни радикали. По този начин хлоропластите допринасят за поддържането на клетъчната хомеостаза и устойчивостта на растението към стрес.

Хромозомите представляват основните клетъчни структури, които съхраняват и предават генетичната информация. Като носители на наследствеността, те притежават свойства, които обуславят тази им роля – участват в ключови метаболитни процеси, имат способност за точно самовъзпроизвеждане и осигуряват прецизно и равномерно разпределение между двете дъщерни клетки по време на митоза и мейоза. Тези фундаментални характеристики определят значението им за предаването на наследствената информация както между клетките в организма, така и между поколенията. В хромозомите са локализирани гените като функционални единици на наследствеността. Те заемат специфични места в хромозомите, наречени локуси, които са разположени в линейен ред. В структурно отношение всяка еукариотна хромозома е изградена от една линейна молекула ДНК, асоциирана с хистонови и нехистонови белтъци, формиращи нуклеопротеинов комплекс, наречен хроматин. При многоклетъчните полово размножаващи се организми соматичните клетки притежават в ядрата си по две копия от всяка хромозома. Хромозомният набор на такива клетки се означава като диплоиден. Не всички еукариотни клетки са диплоидни. Половите клетки (гамети) и спорите са хаплоидни. В тях всяка хромозома е представена само от едно копие, така че тези клетки притежават само един набор хромозоми – хаплоиден хромозомен набор. Броят на хромозомите в диплоидния набор може да варира силно при различните организми, но не може да бъде по-малък от две, както е той при конската глиста (*Parascaris equorum*) и мравката „булдог“ (*Myrmecia croslandi*). Важно е да се отбележи, че няма връзка между броя на хромозомите и сложността на организма. Така например човек има 46 хромозоми, а златната рибка (*Carassius auratus*) – 104. В индийската папрат *Ophioglossum reticulatum* е отчетен най-голям брой хромозоми – 1260. Рекордър по брой хромозоми при животните е пеперудата *Polyommatus atlas*, в клетките на която има 450 хромозоми. Броят на хромозомите в диплоидния набор е специфичен и характерен за всеки еукариотен вид. Формата и размерите на всяка една хромозома в клетките на индивидите от даден вид са еднакви. При зрееенето на гаметите се извършва редукционно делене, в резултат на което хромозомите в зрелите гамети намаляват наполовина. При сливането на две хаплоидни гамети – женска и мъжка, всяка от които носи само един хромозомен набор, се образува диплоидна зигота, в която се събират два хромозомни набора – един майчин и един бащин. Всяка хромозома от единия набор има съответстваща хромозома от другия набор. Двете заедно образуват двойка хомоложни хромозоми. Например човешките соматични клетки имат 46 хромозоми, които съставят 23 хомоложни хромозомни двойки. По една хромозома от всяка двойка се унаследява от майката и по една от бащата. Така че, ако един ген заема определен локус в дадена хромозома, то и в хомоложната хромозома този ген присъства в същия локус, макар че може да бъде представен от различен алел. Хаплоидните клетки притежават само по едно копие от всеки ген. Хромозомите от различни хромозомни двойки имат различна форма и размери, носят различни гени и се наричат нехомоложни хромозоми. Соматичните клетки на женските и мъжките индивиди се различават по една двойка хромозоми, наречени полови. Хромозомите, които са еднакви за двата пола, се наричат автозоми. През по-голяма част от жизнения цикъл на клетките хромозомите са много трудни за наблюдение, защото са в деспирализирано състояние. През митоза и мейоза те стават компактни и достъпни за изучаване със светлинен микроскоп. Най-силно спирализиранни са хромозомите през метафаза.

Морфологични особености на метафазната хромозома

Всяка метафазна хромозома се състои от две надлъжни субединици, наречени **сестрински хроматиди**. Те са напълно идентични помежду си и са резултат от удвояването на ДНК чрез процеса репликация. Всяка хроматида съдържа една отделна молекула ДНК. Мястото на свързване между двете сестрински хроматиди се нарича **центромер**. При наблюдение със светлинен микроскоп центромерът се визуализира като стеснен участък по дължината на хромозомата, известен като първично прищъпване. Всяка еукариотна хромозома притежава един центромер, чиято позиция е специфична и характерна за съответната хромозома. Той разделя хромозомата на **хромозомни рамена**, които се различават по дължина и морфологични особености. Центромерът играе важна роля за правилното разделяне на сестринските хроматиди в дъщерните клетки

през митоза и мейоза. Той има по-различна хроматинова структура и много високо ниво на компактизация в сравнение с останалите райони на хромозомата. Центромерът е мястото, където се оформят кинетохорите, които са изградени от белтъци, осигуряващи свързването на хромозомите с делителното вретено и точното им разделяне към неговите полюси. Центромерите са изградени основно от хетерохроматин, съдържащ тандемно повтарящи се сателитни ДНК последователности, чийто състав и организация варират между различните еукариотни организми. При човек основната повтаряща се единица е съставена от 171 нуклеотидни двойки, която формира обширен район от α -сателитна центромерна ДНК. Съвременните данни показват, че центромерната функция се определя не от конкретните последователности на нейната ДНК, а от специфичната хроматинова организация. Нуклеозомите на центромерите имат модифицирани H3 хистони, които играят ключова роля за привличането и събирането на кинетохорните белтъци и за прикрепването на нишките на делителното вретено към хромозомите. Освен центромер всяка еукариотна хромозома притежава в краищата си високо специализирани участъци – **теломери**, чието основно предназначение е да запазват индивидуалността и целостта на хромозомата. Теломерът представлява комплекс от специфични ДНК последователности, асоциирани с множество белтъци, които осигуряват структурната стабилност и завършеност на еукариотната хромозома. Теломерната ДНК е съставена от къси, тандемно повторени последователности, които са консервативни в рамките на вида, но се различават между отделните видове. При човека теломерната последователност е TTAGGG, повторена от 250 до 1500 пъти. В областта на теломерите няма белтък-кодиращи гени. Двете ДНК вериги в краищата на теломерите не са подравнени, като 3' краят е по-дълъг от 5' края. Теломерът се извива назад формирайки бримка, а едноверижната „висулка“ се вмъква в двойната спирала, вдвоявайки се с комплементарен вътрешен участък. Това не представлява проблем, тъй като теломерната ДНК се състои от тандемни повторения на една и съща последователност. По този начин краят на ДНК молекулата се защитава от разграждане и нежелани химически взаимодействия. Освен това специфичен белтъчен комплекс се свързва с теломерната ДНК от бримката, образувайки „шапка“ в края на хромозомата, която предпазва теломерите от нуклеарно разграждане и пречатства слепването на хромозомните краища един с друг. Следва да се отбележи, че повторите на центромера са различни от повторите на теломерите, поради което центромерът никога не се разполага в самия край на хромозомата. Един и същ участък от ДНК не може да изпълнява едновременно функции на центромер и теломер – двете функции изискват различна първична структура. По дължината на някои хромозоми се наблюдава допълнително прищъпване, наречено **вторично прищъпване**. В този участък са локализирани гените за рибозомна РНК. Поради това вторичното прищъпване се означава като **ядърцев организатор**, тъй като именно в тези области по време на интерфазата се формират ядръцата. Вторичното прищъпване не е задължителен елемент от структурата и морфологията на всяка хромозома в хромозомния набор. В клетките на различните видове от една до няколко двойки хромозоми могат да притежават ядърцев организатор. Техния брой е специфичен за всеки вид. Например при човека има пет двойки хромозоми с вторично прищъпване тип ядърцев организатор, което означава, че максималният брой ядръца в една човешка клетка е десет. В рамките на една хромозома вторичните прищъпвания могат да бъдат повече от едно, да се различават по дължина и да имат различна локализация – по-близо до центромера или до теломера. Не всички вторични прищъпвания обаче представляват ядърцеви организатори. Когато вторичното прищъпване е разположено близо до теломера, то формира тясна зона в края на хромозомното рамо, като крайната част изглежда прикрепена към основната част на хромозомата под формата на „сателит“. Такива хромозоми се наричат сателитни, сателитоносители или SAT-хромозоми. Центромерът разделя напречно всяка хромозома (съответно всяка хроматида) на две части, наречени рамена. По-късото рамо се означава с буквите *s* или *p*, а по-дългото с *l* или *q*. Размерът на рамената, броят и местоположението на вторичните прищъпвания, както и формата и големината на сателита представляват специфични морфологични характеристики на всяка хромозома. На Фигура 1 са илюстрирани основните елементи от морфологията на метафазната хромозома.



Фигура 1. Морфологични елементи на метафазната хромозома
(адаптирано изображение от: <https://invitrobg.com/sindrom-na-chuplivata-h-hromozoma/>)

За изучаване на хромозомите се използват различни количествени параметри. Основните морфометрични показатели, прилагани за определянето на хромозомната морфология, са абсолютната (L_a) и относителната (L_r) дължина на хромозомата, раменната разлика (d), раменното отношение (r) и центромерният индекс (i). Абсолютната дължина на хромозомата (L_a) представлява сумата от дължините на двете ѝ рамена ($l+s$), изразена в микрометри (μm). Раменната разлика, раменното отношение и центромерният индекс се изчисляват по следните формули:

- $d = l - s$ – раменна разлика
- $r = l / s$ – раменно отношение
- $i = \frac{s}{(l + s)} * 100\%$ – центромерен индекс, където:
 l – дължина на дългото хромозомно рамо,
 s – дължина на късото хромозомно рамо.

Относителната дължина на хромозомата (L_r) се изчислява по формулата:

$$L_r = \frac{(l + s) \cdot 1000}{\text{дължина на хаплоидния хромозомен набор} + X \text{ хромозомата}} \text{ в промили}$$

Всяка хромозома от хаплоидния набор на даден вид притежава ясно изразена индивидуалност, определена от нейния размер и морфологични особености. Хромозомната морфология зависи основно от характеристиките на центромера и неговата позиция спрямо теломерите, както и от наличието или отсъствието на вторично прищъпване.

В зависимост от броя на центромерите хромозомите се класифицират като:

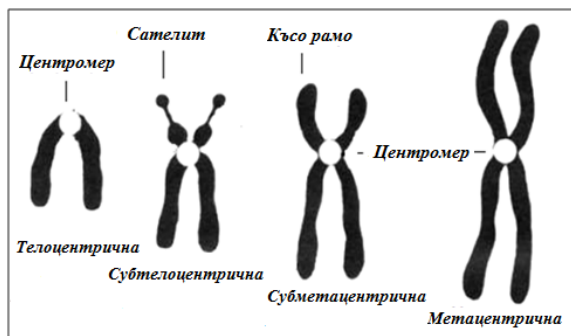
- моноцентрични – с един центромер;
- дицентрични – с два центромера;
- полицентрични – с повече от два центромера.

Според особеностите на центромера хромозомите могат да бъдат:

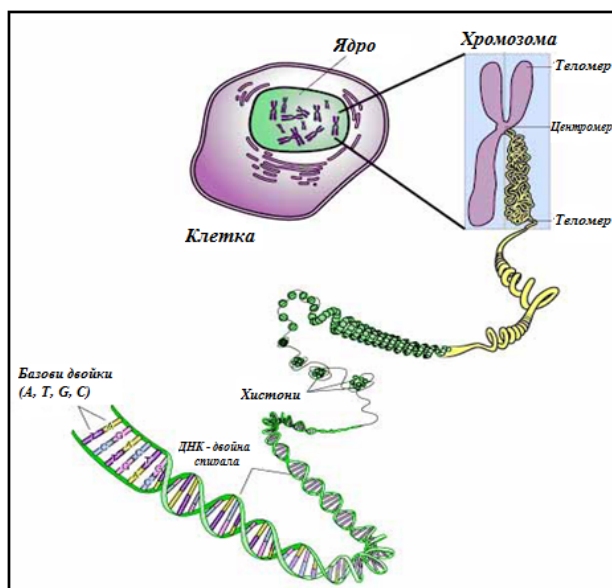
- с локализиран центромер;
- с дифузно разположен центромер (холоцентрични или холокинетични);
- с центромер с променлива позиция (неоцентрични).

В зависимост от позицията на центромера спрямо теломерите се разграничават четири основни морфологични типа хромозоми (Фиг. 2):

- метацентрични – равнораменни (m);
- субметацентрични – разнораменни (sm);
- субтелоцентрични – силно разнораменни (st);
- телоцентрични – еднораменни (t).



Фигура 2. Типове хромозоми според центромерната позиция (адаптирано от Bhattacharjee, 2023).



Фигура 3. Молекулна структура на хромозома (адаптирано от *Biology Exams 4 U*, 2013).

Молекулен строеж и организация на еукариотната хромозома

Еукариотната хромозома представлява сложна нуклеопротеинова структура, в която генетичният материал е организиран по начин, съчетаващ висока степен на компактизация с прецизна регулация на генната активност. Основните ѝ компоненти са линейна двуверижна ДНК и белтъци – хистонов и нехистонов, които заедно формират хроматина – структурната и функционална основа на хромозомата.

ДНК – молекулна основа. ДНК е двуверижна полинуклеотидна макромолекула, носеща генетична информация, кодирана в последователността на нуклеотидите. Двете вериги са свързани помежду си чрез водородни връзки между комплементарни азотни бази, а вътреверижната стабилност се осигурява от 3',5'- фосфодиестерни връзки. Дължината на ДНК в една хромозома може да достигне няколко сантиметра, което налага нейното ефективно опаковане в ограниченото пространство на клетъчното ядро.

Нуклеозома – базово ниво на организация. Първото и фундаментално ниво на организация на хроматина е нуклеозомата. ДНК се навива около хистонен октамер, съставен от по две молекули на хистоните H2A, H2B, H3 и H4, като образува структура, включваща приблизително 146 базови двойки ДНК. Отделните нуклеозоми са свързани чрез линкерна ДНК, с която асоциира хистонът H1, стабилизиращ по-високите нива на компактизация. Нуклеозомите формират 10 nm фибрила, известна като структура тип „мъниста на конец“, която представлява динамична платформа за взаимодействие с регулаторни белтъци.

Хроматинова фибрила и висши нива на компактизация. 10 nm фибрилата се подлага на допълнителна компактизация, формирайки 30 nm хроматинова фибрила, стабилизирана чрез електростатични взаимодействия между хистоните и участието на хистон H1. На следващо ниво хроматинът се организира в бримкови домени с диаметър около 300 nm, които са прикрепени към ядрения матрикс. Последващото нагъване и кондензация водят до образуване на метафазна хромозома с диаметър между 700 nm и 1.4 μ m, осигуряваща правилната сегрегация на сестринските хроматиди по време на клетъчното делене (Фиг. 3).

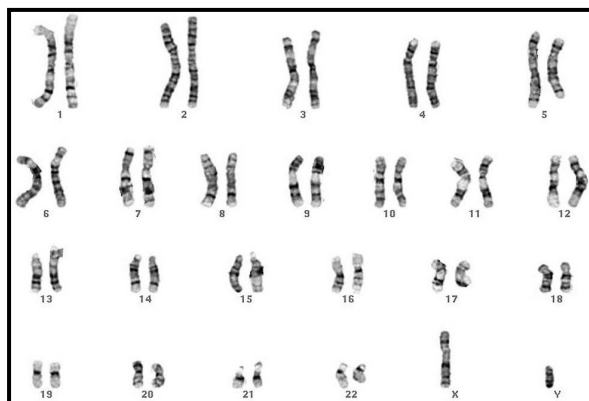
Белтъчни компоненти на хромозомата. Белтъчният състав на хромозомата включва няколко основни функционални групи. Първата група са **хистоните**, които осигуряват структурно опаковане и компактиране на ДНК. Втората група обхваща **нехистоновите структурни и регулаторни белтъци**, изпълняващи разнообразни и ключови функции в организацията и динамиката на хромозомите. Кохезините поддържат кохезията между сестринските хроматиди до момента на тяхното разделяне; кондезините участват в митотичното компактиране и оформянето на хромозомната архитектура; топоизомеразата II контролира топологичното състояние на ДНК, предотвратява прекомерното усукване и подпомага разделянето на хроматидите; АТФ-зависи-

мите хроматин-ремоделиращи комплекси регулират достъпа до ДНК и осигуряват динамичните структурни промени в хроматина.

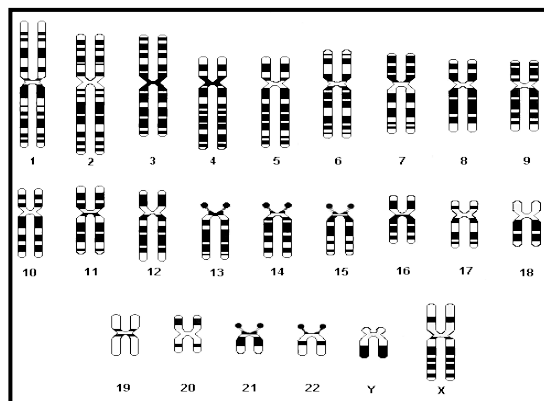
При цитогенетичните изследвания на хромозомите се наблюдават ясно диференцирани участъци от два основни типа – **хетерохроматинови** и **еухроматинови**. Те се различават по интензивността на оцветяване, която отразява степента на компактизация на наследствения материал. Хетерохроматинът се подразделя на два основни типа: **конститутивен** и **факултативен**. Конститутивният хетерохроматин присъства постоянно в определени участъци по дължината на хромозомите, като прицентромерни и теломерни региони, както и в други стабилни области, и не съдържа функционално активни гени. Факултативният хетерохроматин се формира и се наблюдава само в определени етапи от жизнения цикъл на клетката или в хромозомите на специфични тъкани. Той е информативен, тъй като съдържа гени, които в хетерохроматиново състояние са транскрипционно неактивни, но могат да бъдат активирани при преминаване към еухроматиново състояние.

Кариотип

Кариотипът представлява пълния хромозомен набор на даден организъм, характеризиращ се с определен брой, размер, форма и структура на хромозомите. За неговото изучаване се използват кариограми и идиограми. **Кариограмата** е визуално подредено изображение на метафазни хромозоми, организирани в хомоложни двойки и подредени по низходящ размер. Тя се получава чрез микроскопско заснемане на хромозомите в метафаза, последвано от дигитална обработка и систематично подреждане (Фиг. 4). Кариограмата позволява откриване на числени и структурни хромозомни аномалии, включително тризомии, монозомии, делеции, дупликации, инверсии и транслокации. **Идиограмата** представлява схематичен, стандартизиран графичен модел на хромозомите в кариотипа, който отразява техните морфологични особености, включително позицията на центромера, дължината на рамената и характерния бандинг модел (Фиг. 5). Тя е идеализирано и мащабирано представяне на кариотипа, изградено въз основа на статистически усреднени измервания. Идиограмата служи като референтна карта за цитогенетичен анализ, сравнение между различни кариотипи и картографиране на генни локуси.



Фигура 4. Кариограма на човешките хромозоми (Wikipedia, n.d.)



Фигура 5. Човешка идиограма (Kassem et al., 2012)

При животните образуването на половите клетки започва в ранните етапи на зародишното им развитие като претърпяват последователни промени на диференциране и специализация. Процесът на образуване на женските и мъжки полови клетки се означава като *гаметогенеза*. В развитието и образуването им има сходства, но и характерни и специфични особености. Затова процесът на образуването на мъжките полови клетки (сперматозоиди) се означава като сперматогенеза (spermatogenesis), а на женските полови клетки (яйцеклетки) – овогенеза (oogenesis). При животните, с малки изключения, развитието на сперматозоидите се извършва в мъжките полови жлези – семенници (тестиси), а на яйцеклетките, в женските полови жлези – яйчници.

Етапите на *сперматогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза); зреене (мейоза); окончателно оформяне. Етапите на *овогенезата* са: размножаване (митоза); растеж (мейоза) и зреене (мейоза).

Етап на размножаване. Сперматогенезата и овогенезата започват през ембриогенезата, след детерминиране на пола на първичните полови клетки (гоноцити). В резултат на това те се превръщат в първични мъжки полови клетки – сперматогонии ($2n$, $2c$) или първични женски полови клетки – овогонии ($2n$, $2c$). В половите жлези, и при двата процеса, започват активни митотични деления, които продължават и в след ембрионалния период. Броят на сперматогониите и овогонии се увеличава многократно. Само при висшите гръбначни животни вкл. и човека, размножаването на овогонии спира през определен етап от зародишното им развитие.

Етап на растеж и зреене. Започва процесът мейоза, който включва две последователни деления. Първото мейотично деление е редукционно, броят на хромозомите от диплоиден ($2n$) намалява на половина – хаплоиден (n). Временно количеството на молекулите ДНК в ядрото на клетките остава диплоидно ($2c$). През второто мейотично деление двете молекули ДНК, във всяка хромозома, се редуцират до хаплоидно количество (c). Двете мейотични деления преминават в следните последователни етапи – профаза, метафаза, анафаза и телофаза. В края на мейозата се получават хаплоидни дъщерни клетки (n , c).

Преди да встъпят в мейоза някои от сперматогониите или овогонии претърпяват процес на подготовка с генетични процеси в ядрото – удвояване броя на молекулите ДНК, синтез на различни видове РНК и в цитоплазмата – синтез на някои структурни белтъци. Сперматогониите се превръщат в сперматоцити от I ред ($2n$, $4c$), а овогонии – в овоцити от I ред ($2n$, $4c$). *Започва етап на растеж*, който включва дългата и сложна профаза на мейоза I, която е сходна и при двата процеса. Хроматиновият материал в ядрото се спирализира и дехидратира. Промени са разделени на пет последователни фази: лептотен I, зиготен I, пахитен I, диплотен I и диакenez I. С напредване на процеса се оформят хромозомните двойки – биваленти (хомологните хромозоми в бивалента са от бащина и майчина линия). Извършва се конюгация. Изгражда се синаптонемален комплекс от биомембрани. През пахитен I всеки бивалент (хромозомна двойка) е представен от две хромозоми ($2n$), всяка с по две сестрински хроматиди (две мол. ДНК, $2c$). Всеки бивалент съдържа $2n$, $4c$ и се означава като „тетрада“. През пахитен I се извършва и процеса *crossing-over*. В определени участъци от хромозомите се разменя генетичен материал между несестринските хроматиди в бивалентите. Получават се нови генетични рекомбинации. До края на профазата I хромозомите са окончателно спирализирани, скъсени и морфологично оформени. Хомологните хроматиди, като „тетради“, се преместват към периферията на ядрото. Ядрцето, ядрената мембрана изчезват, изгражда се делителното вретено. Сперматоцитите от I ред нарастват 1-2 пъти спрямо размерите на сперматогониите, докато овоцитите I ред нарастват от няколко десетки до стотици пъти, спрямо размерите на овогонии. Това се дължи на формирането и натрупването на хранителни вещества (жълтък) в цитоплазмата на овоцитите от I ред, което започва в края на пахитен I и завършва до края на диплотен I. Процесът е известен като *вителогенеза*. Съставът и количеството на хранителните вещества (жълтък) варира в определени граници, характерни за вида животно. Това определя вида на яйцеклетката и особеностите на ембрионалното развитие.

Етап на зреене. Включва времето от края на диакenez I до края на второто мейотично деление. При сперматогенезата и овогенезата, процесите са много сходни. Мейоза I продължава последователно през метафаза I, анафаза I и телофаза I. Генетичния материал се разделя равномерно,

като от всяка тетрада, в дъщерните клетки, се разпределя по една от двете хромозоми, всяка представена с по две хроматиди, две молекули ДНК ($n, 2c$). В края на мейоза I от един сперматоцит от I ред се образуват два сперматоцита II ред ($n, 2c$), а от един овоцит I ред се образува една голяма клетка – овоцит II ($n, 2c$), и една малка – първо полярно телце ($n, 2c$). За разлика от генетичния материал, който се разпределя равномерно в дъщерните клетки, цитоплазмата и жълтъка в овоцитите I ред се разпределят неравномерно. Почти цялото количество на цитоплазмата и жълтъка се разпределя към овоцит II ред, а към полярното телце – много малко цитоплазма, използван за структуриране на клетката.

Етапът на зреење продължава с мейоза II, която е сходна при двата процеса, без подготовка и нови синтетични процеси. Профаза II е кратка и атипична, с дехидратиране и спирализация на генетичния материал, като преминава през, подобни на мейоза I, пет последователни фази: лептотен II, зиготен II, пахитен II, диплотен II и диакенез II. През пахитен II вместо „тетради“ се образуват „диади“ . Всяка хромозома е представена от две хроматиди ($n, 2c$). Следват метафаза II, анафаза II и телофаза II, като към двата полюса на делителното вретено се насочва всяка от двете хроматиди на хромозомите. В края на мейоза II, при сперматогенезата, от един сперматоцит II ред се образуват два равностойни хаплоидни сперматиди (n, c). В края на мейоза II, при овогенезата, от един овоцит II ред се образува една голяма клетка – яйцеклетка и една малка – второ полярно телце с равномерно разпределение на генетичния материал (n, c). Заедно с това яйцеклетката поема всичко от жълтъка и почти цялата цитоплазма, а полярното телце само малко цитоплазма. Първото полярно телце може да претърпи също мейоза II и в края от него да се образуват две хаплоидни полярни телца. Поради ограничената жизненост на яйцеклетките в яйчните овогенезата спира през различни етапи за отделните видове животни. Овогенезата завършва само след навлизането на сперматозоид в яйцеклетката при оплождането.

Обобщено, в края на мейозата, при сперматогенезата от сперматоцит от I ред се образуват четири равностойни хаплоидни сперматиди (n, c), докато при овогенезата, от един овоцит I ред се образува една голяма хаплоидна яйцеклетка (n, c) и едно (три) малки полярни телца (n, c).

Окончателно формиране. Този етап е характерен само при сперматогенезата, по време на който се структурират морфологичните части на сперматозоидите (спермиогенеза). От всеки сперматид се оформя по един сперматозоид. В сперматидите на животните се описват сходни промени, които се разделят на четири последователни фази: фаза на комплекс на Голджи; фаза на „шапчица“; фаза на акрозома (акрозомен апарат); фаза на зреење.

Видове сперматозоиди. При животните има два типа сперматозоиди: афлагелатен тип, без флагелум и флагелатен тип, с флагелум или опашка. Сперматозоидите с флагелум са по-често срещани, и се откриват у представители от Porifera до Vertebrata, включително и човека. Флагелатният тип сперматозоиди имат общ принцип на устройство – глава, шийка и опашка. Характеризират се с редица особености на ултраструктурната организация на всяка морфологична част, което определя сперматозоидите като високоспециализирани и видовоспецифични клетки.

В главата на сперматозоида се намират акрозомен апарат (акрозома) и ядро (хаплоидно, малки размери, силно обезводнено, плътно пакетирани хроматин) и малко цитоплазма. В акрозомен апарат се съдържат хидролитични ензими (при оплождане разрушават вторичните яйчни обвивки на яйцеклетките). При бозайниците основните ензими са: *хиалуронидаза* – разгражда хиалуроновата киселина, която слепва фоликулните клетки в *corona radiata*; *акрозин* – разрушава *zona pellucida* по време на оплождането.

В шийката има две центриоли – проксимална центриола (при оплождане навлиза в яйцеклетката, структурира първото делително вретено на зиготата) и дистална центриола (като базално телце участва в структурирането на аксонемата на опашката).

Опашката на сперматозоида се разделя на междинна, средна и крайна част, като по дължината и се намира осев комплекс (аксонема), който е двигателен център на опашката, митохондрии – в междинната част около аксонемата, с енергийна функция. По цялата дължина сперматозоида е покрит с малко цитоплазма и клетъчна мембрана.

Видове яйцеклетки. Разпределят се въз основа на две класификации: 1. В зависимост от количеството на жълтъка в цитоплазмата: безжълтъчни (алецитални, напр. чернодробен метил, човек); малкожълтъчни (олиголецитални, напр. мещести); умереножълтъчни (мезолецитални, напр. Безопашати земноводни) и многожълтъчни (полилецитални, напр. риби, влечуги, птици, насекоми). 2. В зависимост от количеството и разпределението на жълтъка в обема на яйцеклетката: хомолецитални – с малко жълтък, равномерно разпределен (напр. мещести); хетероле-

цитални – мезолецитални, неравномерно разпределен жълтък, анимален полюс без жълтък и вегитативен полюс с жълтък (например жаби); телолецитални – полилецитални, жълтък изпълващ цялата клетка, ядрото се намира на самия анимален полюс, под оолемата (напр. риби, влечуги, птици); центролецитални – полилецитални, жълтък в центъра на клетката, който прекъсва от цитоплазма без жълтък, т. нар. цитоплазмени мостчета (напр. насекоми). По правило ядрото в яйцеклетките се намира в място, където жълтък липсва или е в малко количество.

Оплождане. Процесът на сливане на хаплоидните сперматозоид и яйцеклетка, при което се получава диплоидна зигота, с обогатен генетичен материал се нарича оплождане. Осемняването е процес на изхвърляне, придвижване и депониране на сперматозоидите в женския копулативен орган или разположението им в непосредствена близост до яйцеклетката, извън женските полови пътища, във външна, водна среда. Осемняването бива два вида: *моноспермия* – допуска се един сперматозоид, който извършва оплождането; *полиспермия* – допускат се повече сперматозоиди, но само първия извършва оплождане, като внася хаплоидния си набор хромозоми. Другите сперматозоиди се разрушават и материалите им се използват през ембрионалното развитие. Условието за оплождане се определят от начина на осемняване. При външно оплождане, във външна водна среда, е необходимо да има: подходящи условия на средата; синхрон в поведението на индивидите от двата пола на един вид; половите клетки да се изхвърлят по едно и също време и в близост. При вътрешно оплождане е необходимо да има: синхрон в поведението на индивидите от двата пола на един и същи вид; специални механизми за внасяне на сперматозоидите в женските полови пътища. Към условията за оплождане се включват и действието на специални високо специфични химични вещества (гамони), отделяни от половите клетки, както и спермална течност с определен състав и качество, характерни за вида животно.

Най-общо механизма на оплождането се разделя на три последователни етапа: 1. *Акрозомна реакция* – сперматозоида преодолява яйчните обвивки, с помощта на хидролитичните ензими в акрозомата. 2. *Кортикална реакция* – образуват се допълнителни прегради над оолемата, които възпрепятстват полиспермия. В тяхното структуриране участва изнесеното, чрез екзоцитоза, съдържание на кортикалните гранули от яйцеклетката, което е провокирано от навлезлият сперматозоид. *Нуклеарна фаза* – сливането на сперматозидното ядро и ядрото на яйцеклетката. Най-често в яйцеклетката навлиза главичката на сперматозоида и проксималната центриола. Образува се мъжки пронуклеус. Яйцеклетката, активирана от навлезлия сперматозоид, бързо завършва мейозата, отделя второто полярно телце и останалия в нея хаплоиден набор се превръща в женски пронуклеус. Следва сливане на мъжкия и женски пронуклеус (майчини и бащини хромозоми) в едно общо диплоидно ядро – синкарион. Образува се диплоидна зигота.

Зародишно развитие. Етапи на зародишното развитие. Индивидуалното развитие (онтогенеза) при животните започва с активирането на яйцеклетката към развитие, чрез навлязъл сперматозоид или по друг начин (чрез партеногенеза, т. нар. „девствено“ начало). С първото делене активираната яйцеклетка започва етапът на зародишното развитие (ембриогенеза), който завършва с излюпването или раждането на новия индивид. *Най-общо ембрионалното развитие се извършва чрез следните последователни етапи: набраздяване (бластулация), гаструлация и органогенеза.*

Набраздяване (бластулация, дробене). В рамките на 9 – 10 деления, активираната към развитие яйцеклетка, извършва последователни митотични деления, през интерфазите на които няма етап на растеж. Зародишът не нараства. С всяко следващо делене клетките се увеличават по брой и намаляват по размери. Означават се като бластомери. В края на етапа, зародишът придобива специфична структура наречена бластула, в която често се отваря празнина – брastoцел, изпълнена с течност, отделена от бластомерите. Делителните плоскости от всяко следващо делене се разполагат във взаимно перпендикулярни равнини. Особеностите на набраздяването се определят от типа на яйцеклетката, както и от условията на средата, в която се развива зародиша. По правило жълтъкът забавя скоростта на делене или напълно спира деленето, в мястото, където се намира. Това се отразява върху структурата и типа на бластулата, определя особеностите на ембриогенезата. Дробене може да се извърши по *детерминативен и регулативен тип*, в зависимост от това дали бластомерите са диференцирани твърде рано за развитие на определена част от тялото на зародиша (още при 1-во, 2-ро делене) или твърде късно (след 16 клетъчен стадий), съответно. При липса на бластомер при детерминативния тип се развива дефектен зародиш, а при регулативния тип се развива нормален зародиш.

Видове набраздяване. Набраздяването се разделя на два вида: пълно (тотално, холобластично) и непълно (повърхностно, меробластично). *Пълно (тотално) набраздяване* има при алецитални, олиголецитални, хомолецитални, мезолецитални и хетеролецитални яйцеклетки. Жълтъкът при тях липсва или е в малко или умерено количество. Делителните плоскости преминават през обема на яйцеклетката, като разположението им зависи от разпределението на жълтъка в обема на яйцеклетката. Пълното дробене бива: *равномерно* (еквално) при хомолецитални яйцеклетки – бластомерите са с много сходни, еднакви размери; *неравномерно* (инеквално) при хетеролецитални яйцеклетки – бластомерите са с различни размери и биват: микромери (малки клетки, без жълтък), мезомери (средни клетки, с умерено количество жълтък) и макромери (големи, с много жълтък). Бластулите съответно са: еквална и инеквална целобластула. Пълното дробене бива още: радиално, спирално, двустранно, двусемитрично, анархистично, асинхронно. Всеки вид се характеризира с особености, в резултат на което се формират и разнообразни бластули. *Непълно (повърхностно, меробластично) набраздяване* е характерно за полилециталните яйцеклетки. Разделя се на два вида – дискоидално и повърхностно (суперфициално). *Дискоидално набраздяване* се наблюдава при телолециталните яйцеклетки (главоноги, риби, влечуги, птици и др.). Делителните плоскости преминават само в анималния полюс на яйцеклетката, където се намира ядрото. През първите четири деления се образуват *клетъчни сегменти* – без клетъчни мембрани между съседни клетки. По-късно се развиват в бластомери. Бластулата се нарича дискобластула – част от бластомерите отделят ензими за разграждане на жълтъка в усвоима форма, и се наричат вителофаги. *Повърхностно (суперфициално) набраздяване* има при центролециталните яйцеклетки на насекомите. Делителните плоскости касаят само централно разположеното ядро и цитоплазмата около него. Формира се симпластна структура – *синцитиум*. Ядрата преминават през цитоплазмените мостчета, достигат до периферията, под оолемата, делят се още няколко пъти и се превръщат се в бластомери. Формира се бластула наречена перибластула с периферна бластодерма от слоеве бластомери, жълтък в центъра, с малко останали ядра и с функция на вителофаги – разграждат жълтъка в усвоима форма за зародиша.

Гаструлация. Между деленията, през интерфазите има етап на растеж. Зародишът расте. Бластомерите нарастват и вече се означават като клетки, между които настъпват качествени различия по отношение на физиологията, темпа на развитие и тяхната активност. Клетките се пренареждат и диференцират. Обособяват се зародишните листове (слоеве). Първоначално се развиват външен зародишен лист наречен *ектодерма* (ektos – външен) и вътрешен – *ентодерма* (entos – вътрешен). По-късно между тях се образува и трети зародишен лист – *мезодерма* (mesos – среден) (при трипластните животни). Структурата, която се формира се нарича гаструла, а празнината в нея – гастроцел. *Ектодермата и ендодермата*, най-общо, могат да се структурират по четири начина, чрез: *инвагинация* (потъване); *имиграция*; *епибolia* (обрастване); *деламинация* (разцепване).

Мезодермата може да се развие от клетки на: ектодермата – ектомезодерма; ендодермата – ендомезодерма; от двата слоя едновременно – ектоендомезодерма. Структурира се като *мезенхим* – амебовидни клетки с неправилна форма, разположени в голямо количество аморфно междуклетъчното вещество. В повечето случаи се образува и по-сложно устроена мезодерма – *мезотел* (послойно подреждане на клетки заграждащи празнина). Образуват се торбовидни издувания (целомни, мезодермални торбички), водещи началото си от ендодермални клетки. От тях се залагат разновидности на съединителна и мускулна тъкани. Образува се най-общо по три начина: *телобластичен, ентероцелен и солидно клетъчно обрастване* (врастване) (при Vertebrata, с залагане на мезодермални торбички, сомити, сегменти).

Органогенеза. През този етап се залагат и обособяват тъканите и органите на отделните системи при животните, които постепенно започват да функционират. Основните осевы структури, които определят плана на развитие на тялото при гръбначните животни са: първично черво (архентерон); гръбна струна (chorda dorsalis или notochorda) и нервна тръба (tubus neuralis). *Първичното* черво се структурира най-рано от ендодермата и се разполага откъм коремната страна на зародиша. По-късно се развива в епителните структурни части на храносмилателна система и жлезите ѝ (слюнни жлези, черен дроб, панкреас) и залага зачатъци на органи от дихателната система – трахеята и белите дробове (или хрилете). *Хордата* се разполага над и по дължината на първичното черво, има ендо-мезодермален произход. При повечето гръбначни животни се заменя от костна и хрущялна тъкан, при бозайниците, остатъци от нея се запазват като nucleus pulposus (меката част на междупрепшленните дискове). *Нервна тръба* се образува от ектодермата

по т. нар. епителен път. Процесът на образуване на нервната тръба се нарича *неврулация*. Последователните етапи на затварянето ѝ са: *нервна пластинка* (нервна плоча); *нервна бразда*; *нервна тръба*. От нервната тръба се образува цялата нервна система.

Появата и развитието на органите и системите се инициира като се подчинява на процесите на ембрионалната индукция. Появата на един орган инициира появата на следващ. Така например структурирането на гръбната струна инициира сегментиране на мезодермалните торбички и развитие на нервна тръба. По правило, през ембриогенезата, предния край винаги изпреварва развитието на задния край. Така, веднага след затварянето на нервната тръба в предния край на ембриона се инициира бързо разширение и развитие на първите три мозъчни мехурчета. Поставя се начало на структурирането частите на главния мозък. По-късно се затваря задната част на нервната тръба, от която се развива гръбначен мозък.

При повечето гръбначни животни ембриогенезата се подпомага с образуването на допълнителни зародишни обвивки. *Жълтъчна торбичка*, която обгръща жълтъка при риби, влечуги и птици и е първият хемопоеитичен орган за зародиша. *Зародишните обвивки при гръбначните животни са: амнион, хорион и алантоис*. Те се структурират от извънзародишни слоеве. *Амнионът* е амниотична празнина с течност (околоплодни води), осигуряваща влажна среда за развитието, защита от механични и други вредни агенти за зародиша, има и регулаторна роля. *Хорионът* се развива като обща обвивка на зародиша. Има защитна и газообменна функция за зародиша, а при птици спомага за пренасяне на калциев карбонат от варовитата черупка на яйцето към зародиша, за изграждането на скелета. *Алантоисът*, при влечуги и птици, е сяло завършващ колбасовиден израстък, с функция на пикочен мехур, участва и в газообмена. При плацентните бозайници алантоисът образува съдовете в пъпната връв и с това участва в обмяната на вещества между плода и плацентата. В края на ембриогенезата зародишните обвивки се разрушават. При плацентни бозайници и човека се образува временен орган, наречен *плацента*, осигуряващ връзката между майчиния организъм и ембриона (плода). Функциите са: газообменна, трофична (хранителна), защитна (барьерна), секреторна, хормонална (човешки хорионгонадотропен хормон, прогестерон, за поддържане на бремеността). Структурира се от две части – майчина (лигавицата на матката) и детска (хорион с хориални власинки, въси). Плацентите, при различните видове бозайници, варират по разположението на хориалните въси и изградената връзка между майчиният и детският организъм. При човека плацентата е с най-пряка връзка. Върховете на хориалните въси се потопени в майчината кръв, разположени в кръвоносните синуси на лигавицата на матката. Единствената преграда между майчината кръв и детския организъм е стената на хориалните въси.

Детерминиране на пола

Признакът **пол** при организмите е генетично детерминиран и тенденцията дали ще се развие мъжки или женски пол е генетично заложен в оплодената яйцеклетка.

Полът представлява съвкупност от белези, по които се различават индивидите от даден вид, които имат способност да образуват различни полови клетки. Съществуването на половия диморфизъм е пряко свързано с половото размножаване, при което в един нов организъм се комбинират наследствени качества с майчин и бащин произход.

Детерминирането на пола, наречено още първично определяне на пола, представлява онзи ранен механизъм, с помощта на който дадени фактори водят до появата на женски или мъжки пол.

Диференцирането на пола е свързано с формиране на белезите и свойствата, характерни за съответния пол в хода на онтогенезата и включва съвкупността от процесите, които в различните етапи на индивидуалното развитие довеждат до изявата на един от двата пола с характерния им комплекс от белези.

Детерминирането на пола може да се осъществи в различен момент на размножителния цикъл. В природата са установени три типа определяне на пола: прогамно, сингамно и епигамно.

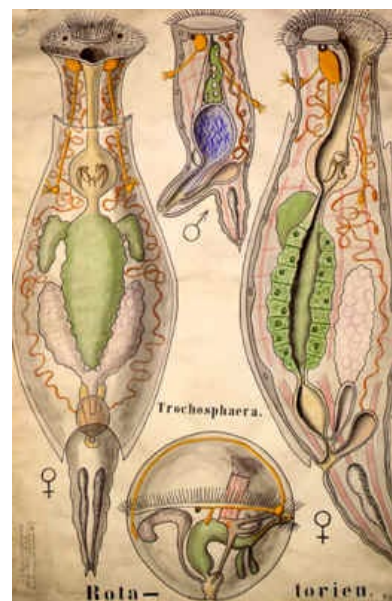
Прогамно детерминиране се осъществява преди оплождането на яйцеклетката. Наблюдава се при някои организми, например представители на р. *Rotatoria*. В хода на овогенезата, количеството на цитоплазмата се разпределя неравномерно. Формират се по-големи и по-малки по размер яйцеклетки. След оплождането от по-големите се развиват зиготи, които дават началото на женски индивиди, а от по-малките се образуват зиготи, от които произлизат мъжки индивиди (Фигура 1).

Сингамно детерминиране на пола се осъществява по време на оплождането, при сливането на ядрата на двете гамети. Това е най-разпространеният начин на детерминиране на пола, осъществява включително и при човека. Среща се сингамно детерминиране на пола при мъжка и женска хетерогаметност, в зависимост от това, кой пол образува различаващи се гамети.

Епигамно детерминиране на пола се осъществява след оплождането, по време на индивидуалното развитие, в резултат от взаимодействието на организма с околната среда. Такъв тип на определяне на пола се наблюдава се при зеления морски червей *Bonellia viridis*, при който мъжките паразитират в половата система на женските. От оплодените яйца се излюпват недиференцирани ларви. Ако свободноживеещите ларви се прикрепят към подводен предмет, те метаморфозират в женски индивиди, а прикрепените с хоботчето си към майчиния организъм – в мъжки индивиди, които продължават да паразитират в половата система на женските. Ако прикрепените ларви се отделят и преминат към свободен начин на живот, метаморфозират в хермафродитни организми. Това определя интереса на изследователите към този тип детерминиране на пола, тъй като на основата на него се развива хипотезата за бисексуалната природа на организмите.

Съотношението между половете в рамките на вида се нарича **полово съотношение**. Честотата, с която се срещат мъжките и женските индивиди в една популация е приблизително 1:1. Процентът на индивидите от мъжки пол при човека е 51, при коня – 52, при магарето и овцата – 49 и т.н.

Още Мендел изказал твърдение, че белегът „пол“ се унаследява при същите закономерности, които са валидни и за други белези, когато се кръстосва хетерозиготен с хомозиготен по



Фигура 1. Прогамно детерминиране на пола при р. *Rotatoria*.

<http://www.wasserwissen.de/abwasserlexikon/r/raedertierchen.htm>

рецесивните алели индивид. От това следва, че единият пол образува два различни типа гамети, поради което се нарича *хетерогаметен*, а другият – един тип и се нарича *хомогаметен*. За определянето на пола значение има не само един алел (както е и при анализиращото монохбридно кръстосване), а цял комплекс от гени, локализирани в специален тип хромозоми, означени като *полови хромозоми (гонозоми)*. Те се установяват при животински видове, някои растения и при човека. Всички останали хромозоми на вида се наричат *автозоми*, групират се в хомоложни двойки и са еднакви в соматичните клетки на представителите на двата пола. Мъжките и женските индивиди се различават по между си по двойката на половите хромозоми. При човека, *D. melanogaster* и много други половите хромозоми се означават като X и Y. Женските индивид имат две еднакви X- хромозоми, а мъжките – една X и една Y хромозоми, които се различават по морфологичен тип и генна последователност.

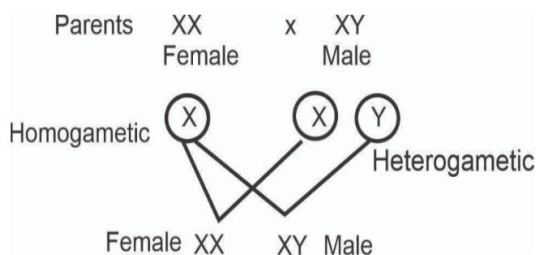
2. Сингамно детерминиране на пола при мъжка хетерогаметност

Когато хетерогаметен е мъжкият пол, детерминирането на пола може да стане по няколко начина. Нека ги илюстрираме със следните примери:

При човека женските индивиди притежават в соматичните си клетки 44 автозоми и две полови хромозоми – XX (44+XX), а мъжките – 44 автозоми, една X и една Y хромозоми (44+XY). Женският пол е хомогаметен, защото образува един тип гамети, съдържащи 22 автозоми и една X-хромозома. Мъжкият пол е хетерогаметен, защото образува 2 типа гамети – единият тип притежава 22 автозоми и една X- хромозома, а другият – 22 автозоми и една Y-хромозома (Фигура 2).

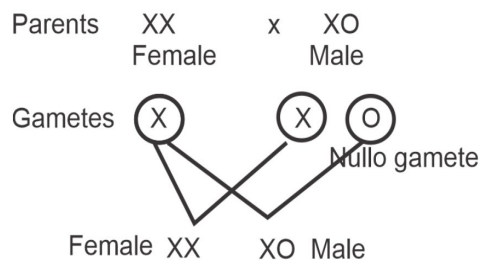
По този начин се осъществява и детерминирането на пола при винената мушица *Drosophila melanogaster*. Видът притежава 8 хромозоми в диплоидния си хромозомен набор, от които 6 са автозоми и две – полови хромозоми. Женските индивид имат 6 автозоми и 2 X-хромозоми (6+XX) в соматичните си клетки, а мъжките – 6 автозоми, една X и една Y хромозоми (6+XY) (Фигура 2).

При скакалеца в соматичните клетки на женските индивиди има 22 автозоми и две X-хромозоми (22+XX). Те формират един тип гамети, притежаващи 11 автозоми и една X- хромозома. Мъжките индивиди имат 22 автозоми и една X-хромозома (22+X0). Гаметите, които продуцират са два типа: в половината от тях има по 11 автозоми и една X- хромозома, а в другата половина липсва полова хромозома. В зависимост от това, коя мъжка гамета се слива с яйцеклетката се получават зиготи, от които се развива съответно женски или мъжки индивид (Фигура 3).



Фигура 2. Схема на сингамно детерминиране на пола при наличие на две различни полови хромозоми – X и Y.

<https://istudy.pk/mechanism-of-sex-determination/>



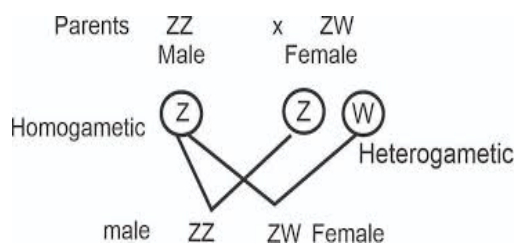
Фигура 3. Схема на сингамно детерминиране на пола при мъжка хетерогаметност при скакалец.

<https://istudy.pk/mechanism-of-sex-determination/>

3. Сингамно детерминиране на пола при женска хетерогаметност

Този тип определяне на пола се наблюдава при представители на птици, влечуги, риби и пеперуди. При тях половите хромозоми могат да се означават също с X и Y, но по-често се представят с Z и W. В соматичните клетки на женските индивиди освен автозомите има две различни полови хромозоми – Z и W, а мъжкият пол е хомогаметен и притежава две еднакви полови хромозоми – ZZ.

При кокошките *Gallus domesticus*, женските индивиди имат хромозомен набор 76+ZW, а мъж-



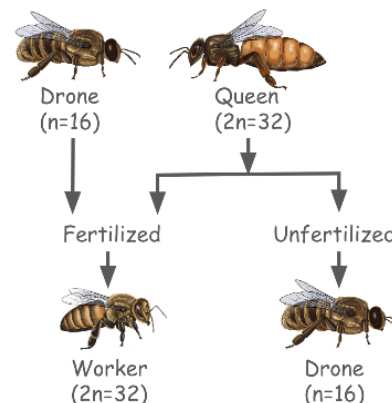
Фигура 4. Схема на сингамно детерминиране на пола при женска хетерогаметност.

<https://istudy.pk/mechanism-of-sex-determination/>

ките – $76+ZZ$, а при черничевата пеперуда хромозомния набор при женските е $54+ZW$, а при мъжките – $54+ZZ$. На Фигура 4. е представена обобщена схема на сингамното детерминиране на пола при женска хетерогаметност.

4. Детерминиране на пола чрез хапло-диплоидия

При медоносните пчели *Apis mellifera* е налице механизъм на определяне на пола чрез хапло-диплоидия. В пчелното семейство женските индивиди се развиват от оплодени яйца, затова всички техни соматични клетки са първично диплоидни. Разликата между пчелата-майка и пчелите-работнички се изразява в тяхната фертилност, която се определя от храната, предоставяна на ларвите преди излюпването им. В резултат на специалния състав на храната на ларвата на пчелната майка, осигуряваща нормалното развитие на половата ѝ система, тя се развива като единствения женски фертилен индивид в колонията. Фертилните мъжки индивиди (търтеи) се развиват от неоплодени яйца чрез партеногенеза. Хаплоидността, която е резултат от това развитие се запазва само в клетките на зародишевия път, от които се формират гаметите, при които не се осъществява редукционно делене, а само еквационно. В соматичните клетки на търтеите настъпва вторична диплоидизация. В соматичните клетки на мъжките и женските индивиди на вида има 30 автозоми и две Х-полови хромозоми, а в половите клетки – 15 автозоми и една Х-хромозома (Фигура 5).



Фигура 5. Хапло-диплоидия при определяне на пола при медоносната пчела *Apis mellifera*.

https://extension.psu.edu/media/wysiwyg/extensions/catalog_product/9aa8232654a241f1ac25aa399e733702/h/a/haplodiploidy.png

5. Определяне на пола при растенията

При висшите спорови и покритосеменни растения *двудомността* е широко разпространено явление – има мъжки и женски растения. При двудомните растения съществуват два различни механизма на определяне на пола – наличие на конкретна хомозиготна или хетерозиготна алелна комбинация или наличие на морфологично различни полови хромозоми.

5.1. Комбинация от алели, определящи пола

При двудомния вид тиква *Brionia dioica*, мъжкият пол е хетерогаметен и се определя от хетерозиготна комбинация на ген „m“ – Mm, а женският пол, който е хомогаметен – от хомозиготна по рецесивните алели комбинация – mm. Този вид може да образува хибриди с еднодомния вид *Brionia alba*, който е хомозиготен по рецесивните алели mm, а еднодомността му се определя от гени, присъстващи в неговия генотип.

При опрашването на *B. alba* с прашец от *B. dioica*, потомството ще е двудомно:

P: mm x Mm

F₁: mm (женски индивиди), Mm (мъжки индивиди) в съотношение приблизително 1:1.

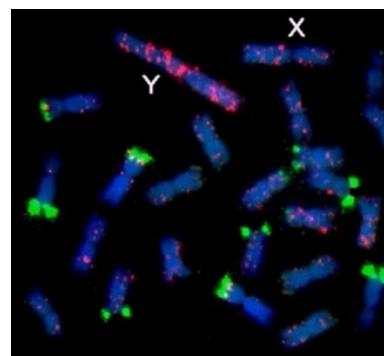
При опрашването на *B. dioica* с прашец от *B. alba* се получава само женско потомство:

P: mm x mm

F₁: mm (женски индивиди).

5.2. Хетерогаметност при мъжкия пол, определяща се от наличието на полови хромозоми.

При вида *Silene latifolia* (*Melandrium album*), женските индивиди притежават 22 автозоми и две Х-полови хромозоми, а мъжките имат 22 амтозоми и Х и Y полови хромозоми в соматичните си клетки (Фигура 6).



Фигура 6. Хромозоми при *Silene latifolia* (*Melandrium album*) (половите хромозоми са означени с Х и Y).

<https://www.nature.com/articles/hdy200917>.

6. Значение на X и Y половите хромозоми за определяне на пола при *Drosophila* и човек

При човека и *Drosophila*, а също и при повечето гръбначни животни, много насекоми и безгръбначни, женските индивиди притежават две X хромозоми, а мъжките – една X и една Y хромозома. Генетичната основа на определяне на пола обаче не е еднаква при тези организми.

При *Drosophila* за определяне на пола значение има броят на X хромозомите. Мъжки пол се детерминира от XY и XO гонозомни комплекси, а женски пол – както при XX, така и при XXY гонозомен комплекс. При този вид, Y хромозомата няма отношение към определяне на мъжкия пол, а само към жизнеността на мъжките гамети. По тази причина мъжките индивиди от типа XO са стерилни.

При човека Y хромозомата детерминира мъжки пол, затова индивиди с гонозомен комплекс XY и XXY са от мъжки пол, а индивиди с гонозомни комплекси XX и XO са от женски пол.

7. Диференциране на пола по време на онтогенезата

Диференцирането на пола се осъществява винаги след оплождането, през онези етапи на онтогенезата, когато се развиват половите жлези и вторичните полови белези.

При разделнополовите животни първоначално половите жлези са недиференцирани (индиферентни), те имат еднакво устройство – външен слой (кортекс) и вътрешен слой (медула).

Балансът на гените в половите хромозоми и автозомите определя функцията на жлезите с вътрешна секреция. Ако балансът е такъв, че детерминира мъжки пол, се активира секрецията на мъжки полови хормони, които диференцират жлезата в тестис и обратно.

Под влияние на условията на средата може да настъпи промяна в типа на секреция на ендокринните жлези и ако това стане в началните етапи на онтогенезата, ще се развие не детерминираният пол, а противоположният (реверсия на пола). Условията на средата оказват влияние върху честотата на срещане на мъжките и женските индивиди в потомството: при жабите от значение е температурата, при която се развиват индивидите; при пъпешите – азотното хранене; при конопа – осветяването.

При диференциране на пола влияние оказват видът и качеството на храната, възрастта на родителите, смъртта на индивидите от единия пол по време на ембрионалното развитие. При *Drosophila* се среща еднородна линия само от женски мухи, тъй като мъжките ембриони се разпознават и унищожават от спирохета, която паразитира в хемолимфата.

Между половите клетки, съдържащи X и Y хромозоми понякога съществува конкуренция, процесът е известен като цертация. Този процес е описан при растения, животни и при човека. Движението на сперматозоидите и проникването им в яйцеклетката зависи от pH на средата и други химични въздействия.

8. Половосвързана наследственост

Освен гените, контролиращи съвкупността от белези, наречена пол, в половите хромозоми са локализирани и гени, които определят соматични признаци. Те се наричат скачени с пола, а унаследяването им – *половосвързана наследственост*. Тази наследственост зависи от поведението на половите хромозоми по време на мейоза и техните морфологични особености. Често при индивидите с морфологично различаващи се полови хромозоми е възможно генното съдържание в тях да е различно. Ако в едната полова хромозома липсва локус на ген, намиращ се в другата, състоянието се нарича хемизиготност. Унаследяването, скачено с пола може да се демонстрира и обясни с класически примери: унаследяване цвета на очите при *Drosophila melanogaster*, хемофилията и далтонизмът при човека и др.

При винената мушица цветът на очите се определя от двойка алели на един ген – доминантен за червени очи (w+) и рецесивен – за бели (w). Този ген е локализиран в X хромозомата и липсва в Y хромозомата. Мъжките индивид са хемизиготни по гена за цвета на очите, което означава, че един алел, разположен в X хромозомата при мъжките индивид е отговорен за фенотипната изява на белега.

При кръстосване на женски мухи с червени очи с мъжки с бели очи, в F₁ получените женски и мъжки индивиди са с червени очи. Условно приемаме тази кръстоска за „права“. При кръстосване на индивидите от F₁ по между им, във F₂ всички женски индивиди (50% от всички получени индивиди) са с червени очи, половината от всички мъжки са с червени очи, а останалите са с бели. Така разпадането по двата белега – пол и цвят на очите е в следното съотношение: женски с червени очи – 2 части (50%): мъжки с червени очи – 1 част (25%): мъжки с бели очи 1 част (25%).

P:	$X^{w+}X^{w+}$ ♀ с червени очи	x	X^wY ♂ с бели очи
Гамети:	X^{w+}, X^{w+}		X^w, Y
F ₁ :	$X^{w+}X^w$ ♀ с червени очи	x	$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи
Гамети:	X^{w+}, X^w		X^{w+}, Y
F ₂ :	$X^{w+}X^{w+}$ ♀ с червени очи		$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи
			$X^{w+}X^w$ ♀ с червени очи
			X^wY ♂ с бели очи

При „обратната“ кръстоска, при кръстосване на женски с бели очи с мъжки с червени, в F₁ получените женски са с червени очи, а мъжките – с бели. Това е пример за т. нар. criss-cross унаследяване (унаследяване на кръст), при което белезите се предават от „майки“ на „синове“ и от „бащи“ на „дъщери“. Когато получените в F₁ индивиди се кръстосат по между си, във F₂ се получават 4 фенотипни групи: женски с червени очи, мъжки с червени очи, женски с бели очи и мъжки с бели очи в съотношение 1:1:1:1.

P:	X^wX^w ♀ с бели очи	x	$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи
Гамети:	X^w, X^w		X^{w+}, Y
F ₁ :	$X^{w+}X^w$ ♀ с червени очи	x	X^wY – criss-cross унаследяване ♂ с бели очи
Гамети:	X^{w+}, X^w		X^w, Y
F ₂ :	$X^{w+}X^{w+}$ ♀ с червени очи 1:		$X^{w+}Y$ ♂ с червени очи 1:
			X^wX^w ♀ с бели очи 1:
			X^wY ♂ с бели очи 1

Разликите в разпадането на признаците по фенотип във F₂ в „правата“ и „обратната“ кръстоска са доказателство, че унаследяването на признака „цвят на очите“ при винената мушица е свързано с пола на индивидите и се дължи на 3 причини: генът за цвят на очите се намира върху X-хромозомата, Y-хромозомата не носи ген за цвета на очите, а алелът, който определя червения цвят на очите е доминантен спрямо алела за бял цвят на очите.

Освен половосвързаната наследственост съществува и ограничена от пола и зависеща от пола наследственост. *Ограничени от пола* са тези наследствени признаци, които се проявяват само у индивидите от единия пол, или степента им на изява е различна при двата пола. Така се унаследяват вторичните полови белези (окосмяване, развитие на млечни жлези и други). Ограничено от пола се унаследяват признаци като млечност, масленост на млякото, носливост и други при селскостопанските животни. Те се обуславят от гени, присъщи както на мъжките, така и на женските индивиди, но се проявяват само при единия пол.

Съществуват и признаци, чиито характер на доминиране зависи от пола. Те се наричат *зависими от пола*. По такъв начин се проявява плешивостта при човека – при мъжете алелът за плешивост е доминантен (A), а при жените този алел е рецесивен (a). Така при мъжете хомозиготните по доминантните алели (AA) и хетерозиготните (Aa) индивиди са плешиви, докато при жените, за да се наблюдава във фенотипа този белег е необходимо те да са хомозиготни по рецесивните алели (aa).

Най-често под понятието тъкан се има предвид съвкупност от клетки и междуклетъчно вещество, представляващи една филогенетично възникнала система с общ произход и посока на диференциация на клетките за усъвършенстване изпълнението на отделни основни жизнени функции. Еволюцията на тъканите се осъществява в пряка връзка с усложняване на основните функции на организмите – метаболизъм, движение, дразнимост и защита. В резултат на това се обособяват разновидности от тъкани, които се класифицират въз основа на разнообразие от критерии. Най-често използвана и до днес е морфо-функционалната класификация, според която тъканите се разделят на четири основни типа – епителна, съединителна, мускулна и нервна.

Най-общо всяка тъкан се изгражда от клетки и междуклетъчно вещество. Въпреки специфичността на своята диференциация във всяка тъкан могат да се разграничат най-общо три типа клетки: основни, преобладаващи с характерната функция за тъканта; допълнителни, специализирани клетки, със спомагателни функции; слабо диференцирани клетки със запазени способности за делене. Междуклетъчното вещество включва основно, аморфна субстанция и влакнести материали. Варира по състав и строеж, като при някои видове тъкани, до голяма степен, определя функциите и свойствата им. В хода на еволюцията при животните, в отговор на променящите се условия на средата, се развиват голям брой разновидности към основните типове тъкани. Такива са например разновидности на съединителната тъкан – кръв, рехавата съединителна тъкан, мастна съединителна тъкан, влакнеста съединителна тъкан и т. н.

Основните типове тъкани и техните разновидности имат и някои общи свойства. Това са: *регенерация (regeneration)* – свързана с възстановяване на изхабените или мъртви клетки с нови; *хиперплазия (hyperplasia, hyper – свръх и plasso – образувам)* и *хипертрофия (hypertrophia, tropho – храня)* – прекомерно разрастване на тъканта; *атрофия (atrophia, a – не)* – намаляване на обема на тъканта; *метаплазия (metaplasia, meta – след)* – в границите на основен тип тъкан един подвид преминава в друг; *неоплазия (neoplasia)* – туморно израждане.

Епителна тъкан (Textus epithelialis). Филогенетично се появява и стабилизира най-рано в сравнение с другите типове тъкани. През ембрионалното развитие на животните може да се развие и от трите зародишни листа – ектодерма, ендодерма и мезодерма. Покрива отвън тялото на многоклетъчните животни като постила вътрешната повърхност на кухите и тръбестите органи (храносмилателен тракт, дихателните и пикочопроводни пътища) и на телесните кухини (коремна и гръдна); изгражда почти всички жлези, с изключение на някои отдели на жлезите с вътрешна секреция.

Основните функции на епителната тъкан са ограничителна и защитна. *Допълнителни функции* са *транспортна* – свързана с пренасянето на вещества с помощта на транспортни системи. *Секреторна функция*, свързана с отделянето на различни по химичен състав вещества, йони и макромолекули. Роля в *сетивни зони*, като епителните клетки подпомагат възприемането на дразнения от околната среда.

Епителната тъкан представлява единна система изградена от голям брой клетки, подредени в редове или слоеве, малко слепващо, аморфно междуклетъчно вещество (подпомагащо клетъчните комуникации) и базална мембрана (*lamina basalis*) върху, която се разполагат всички клетки при еднослойните епителии или само първият ред клетки при многослойните. Базалната мембрана има опорна и защитна функция. Изпълнява полу-пропускливи свойства, които подпомагат транспортирането на вещества, чрез дифузия, от подлежащата съединителна тъкан към епителните клетки, както и обратно. Изгражда се основно от три типа клетки: преобладаващи; специализирани (жлезисти) клетки; слабо диференцирани (стволови клетки), които се делят постоянно и са отговорни за регенеративните способности на тъканта. Чрез секретите на специализираните жлезисти клетки често на повърхността на тъканта се образуват допълнителни образувания като косми, пера, люспи, нокти, рогови образувания, кутикула и др.). Епителните клетки притежават полярност. В епителната тъкан не навлизат кръвоносни съдове, но е добре инервирана. Притежава висока способност към регенерация (физиологична – перманентна и циклична и посттравматична).

Най-често се използва морфо-функционалната класификация, според която епителната тъкан се разделя на покритивен епител (*Epithelium superficiale*) и жлезист епител (*Epithelium glandulare*). *Покритивният епител бива три основни вида – еднослоен, преходен и многослоен.*

Еднослойният покривен епител. Изграден е от един ред епителни клетки, като всички лежат и комуникират с подлежащата базална мембрана. Разделя се на два вида: еднореден и многореден (псевдомногослоен). При едноредния, ядрата на клетките са на една и съща височина от базалната мембрана и в зависимост от формата на клетките се разделя на плосък, кубичен и призматичен (цилиндричен). При многоредния (напр. покрива вътрешната повърхност на много въздухоносни пътища – носна кухина, трахея, бронхи) ядрата на епителните клетки се намират на различна височина от базалната мембрана.

Преходен покривен епител. Постила вътрешната повърхност на някои отделителни органи – пикочно легенче, някои пикочопроводи, пикочен мехур. Изгражда се от три клетъчни зони. Има признаци на еднослоен многореден (тънки цитоплазмени връзки, свързват клетките от горните слоеве с базалната мембрана) и многослоен епител (с перманентна физиологична регенерация).

Многослойният покривен епител. Състои от голям брой клетки подредени в редове, влизащи в състава на слоеве с характерни морфологични, функционални и метаболитни особености. Най-често се разполага на повърхности подложени на натиск, опъване и триене. Разделя се на два подвида: невроговяващ и вроговяващ. Многослойният невроговяващ покривен епител покрива повърхности граничещи с влажна среда (напр. устна кухина, хранопровод, анус, влагалище при бозайници); епидермисен (риби, ларви на земноводни и др.). Изграден е от три слоя, като в зависимост от формата на клетките от повърхностния слой се разделя на плосък, кубичен и призматичен. Многослойният вроговяващ покривен епител покрива телесни повърхности, граничещи с външна суха среда. Изгражда епидермиса на кожата при влечуги, птици и бозайници. Състои се от голям брой редове от клетки (няколко, десетки и стотици) обединени в пет слоя. Характерен е с процес на вроговяване (кератинизация), със специализация и диференциация на епителните клетки. Най-външният, повърхностен вроговен слой, се състои от приплеснати, мъртви клетки, изпълнени с белтъка кератин, като последните един два реда непрекъснато отпадът и се заместват от по-долните редове. Регенерацията е физиологична – перманентна и посттравматична.

Жлезист епител. Клетките на тъканта имат способност да синтезират и отделят сложни специфични продукти наречени секрети. Разделя се на два вида – екзокринен и ендокринен. Екзокринните жлези отделят секрета си директно върху външни или вътрешни повърхности на организма, с помощта на изводни канали. Ендокринните жлези отделят секрети (инкрети, хормони) директно в телесната течност, кръвта или лимфата, без изводни канали.

Съединителна тъкан (Textus connectivus). Тази тъкан не контактува пряко с външна среда или вътрешни празнини. Връзката се извършва посредством епителната тъкан. През ембрионалното развитие на животните се залага от мезодермата и най-често се развива от мезенхимни клетки. *Основна функция* на съединителната тъкан е структурно-опорна като участва при изграждане и моделиране тялото на многоклетъчните животни. *Изпълнява още трофична и защитна функция, както и редица допълнителни функции.* Съединителната тъкан се изгражда от два основни компонента: клетки (cellulae textus connective) и междуклетъчно вещество (substantia intercellularis) или матрикс (т. нар. базова, аморфна субстанция). Клетките са разположени в междуклетъчното вещество по единично или на групички, като са разнообразни по функция и морфология. Не образуват редове (с малки изключения) или слоеве. Могат да бъдат фиксирани или подвижни. Междуклетъчното вещество включва съединителнотъканни извънклетъчни влакна (fibrae textus conectivi) (влакнести материали) и основна (базова) субстанция (substantia fundamentalis) известна още като аморфно вещество, както и тъканна течност. Основната субстанция на междуклетъчното вещество се изгражда от глюкозоамиоглигани (мукополизахариди) и адхезивни (структурни) гликопротеини. Влакнестите материали се структурират в три вида влакна – колагенови и ретикуларни от белтъка колаген и еластинови от белтъка еластин. Материалите за междуклетъчното вещество се синтезират и отделят от основните клетки на различните разновидности на съединителната тъкан. Съединителната тъкан притежава регенеративни възможности в различни граници, в зависимост от особеностите на разновидностите ѝ.

Според хистофизиологичната класификация съединителната тъкан се разделя на три групи: с недиференцирано междуклетъчно вещество (мезенхим, слизеста, хордална, пихтиеста); с влакнесто междуклетъчно вещество (хлабава, мастна, ретикуларна, пигментна, фиброзно-компактна и еластична, кръв); с твърдо междуклетъчно вещество (хрущялна и костна).

Кръв. Кръвта се състои от кръвни клетки (клетъчни елементи, формени елементи) и кръвна плазма. Клетъчните елементи са: червени кръвни клетки (еритроцити); бели кръвни клетки (левкоцити – гранулоцити и агранулоцити) и тромбоцити. Процесът на образуване на кръвните клетки

се означава като *хемопоеза*. При възрастните се осъществява се от червения костен мозък в костния канал на дългите тръбести кости. Кръвната плазма е течна междуклетъчно вещество на тъканта със сламеножълт цвят. Представлява колоид, в който има разтворени ниско и високомолекулни съединения. Съдържа основно вода (до 90%), белтъци (7-8%) и около 1% неорганични соли, други органични вещества – въглехидрати и мазнини. *Кръвта изпълнява следните функции*: хранителна – доставя до клетките хранителни вещества идващи от храносмилателната система; регулативна – транспортира и разпределя вода, неорганични и органични материали; дихателна – газообмен на кислород и въглероден двуокис в организма, извършва се от еритроцитите с помощта на белтъка хемоглобин; отделителна (чрез отделителната система изнася непотребни материали от метаболизма); защитна (чрез фагоцитоза, коагулационен механизъм, изработване на антитела и бактерицидни вещества, извършва се от левкоцитите и тромбоцитите); хомеостатична – участва в регулиране постоянното рН на средата и телесната температура.

Еритроцитите са най-многобройните кръвни клетки (милиони в 1 μ l) като варират при различните видове животни. Червеният им цвят се дължи на хромобелтъка *хемоглобин* – дихателен пигмент, който се свързва лесно с кислорода и лесно го отдава на тъканите. От тях също лесно приема CO_2 . Във връзка с осигуряване на по-голяма газообменна повърхност при гръбначните животни са установени следните еволюционни промени: изменение на формата (от елипсовидна – при рибите до двойноудълъбнат диск – при човека); намаляване на размера и увеличаване на броят им (от клас Риби към клас Земноводни, Влечуги, Птици и Бозайници и човек); редукция на ядро и клетъчни органели при клас Бозайници и човек. Основната функция на еритроцитите е газообменна. *Левкоцитите* са високо специализирани кълбовидни ядрени клетки, разнородни по морфология и биологична роля. Броят им в 1 μ l кръв варира, но е значително по-малък от броя на еритроцитите и тромбоцитите. Левкоцитите са два подвида: гранулоцити (зърнести левкоцити) и агранулоцити (незърнести левкоцити). В зависимост от морфофункционалните особености гранулоцитите са три вида: неутрофили, еозинофили и базофили. Агранулоцитите се разделят на две групи: моноцити и лимфоцити. Левкоцитите изпълняват *защитна функция*. По-голяма част от тях имат свойството да фагоцитират, а други да изпълняват имунозащитна функция. Всички притежават ядро, клетъчен център, митохондрии, рибозоми и богати на хидролитични ензими лизозоми, което е показател за активна обмяна на веществата. Могат да преминават през ендотелните клетки на капилярите изграждащи стената им и да се установят в околните тъкани, най-често рехави съединителна тъкан, където осъществяват своите разнообразни функции. Левкоцитите участват в клетъчния и хуморален имуноен отговор на организма. *Тромбоцитите* при бозайниците и човека представляват безядрени цитоплазмни сегменти. Броят им у човека нормално е 150 – 400 000 в mm^3 и варира. Основната им функция е свързана с механизмите на кръвосъсирването. Кръвните клетки имат кратък живот и се възстановяват чрез перманентна физиологична регенерация.

Рехави (хлабава) съединителна тъкан. Това е най-широко разпространената тъкан от разновидности на съединителната тъкан. Няма пряк контакт с външната среда като контактува с нея посредством епителната тъкан. Участва в изграждането на всички органи в многоклетъчните организми. Рехавата (хлабава) съединителна тъкан участва в изграждането „скелета“ на органите в организма и моделиране на тялото. Задължително придружава кръвоносните, лимфните съдове и нерви. Заедно с тях навлиза и участва в изграждането на мускулите, сухожилията, фасциите, костите и др. Осъществява връзката на кожата с подлежащите органи затова най-голямо количество рехави съединителна тъкан има в подкожието. Участва в изграждането на лигавицата от стената на кухите тръбести органи. *Основната ѝ функция е свързваща.* Участва и в защитата на организма, транспортирането на хранителни вещества (трофична функция), благодарение на разнообразния ѝ клетъчен състав. Изгражда се от два основни компонента – клетки и междуклетъчно вещество. Клетките са основни (стволови и диференцирани) и допълнителни. Основните клетки са: фибробласти и фиброцити – синтезират и отделят материали за междуклетъчното вещество; хистеокити, мастоцити и плазмоцити – изпълняват обща защитна функция, стволови клетки – отговорни за регенерация и обновяване. Допълнителни клетки са: мастни, пигментни, някои видове левкоцити, мускулни клетки и др. Междуклетъчното вещество е в голямо количество (над 70% от теглото на тъканта) и включва аморфно, влакнесто вещество и тъканна течност. Трите вида влакна са застъпени в умерено количество, разпределени по единично в рехави мрежа, което придава общия рехав строеж на тъканта.

Хрущялна тъкан (Textus cartilagineus). Покрива ставните повърхности, подпомага растежа на дългите тръбести кости с оформянето на хрущялните пластинки в двата края на диафи-

зата. Кръвоносни съдове в тъканта не навлизат. Транспортирането на необходимите вещества се извършва чрез дефузионни процеси. Изградена е от специфични клетки – хондробласти (млади клетки) и хондроцити (специализирани клетки), които синтезират материали за междуклетъчното вещество. В състава ѝ влиза и голямо количество междуклетъчно вещество с аморфна и влакнеста съставка. Хондроцитите се разполагат в кухини наречени лакуни. Обикновено са по няколко в една лакуна и произлизат от митотичните деления на един изходен хондробласт. Образува т. нар. изогенни групички. Една изогенна групичка заедно с териториалния матрикс около нея оформят основната *функционалната единица на хрущяла* – *хондрон*. При гръбначните животни тъкан бива: хиалинна, еластична и влакнеста. Хрущялната тъкан има слаби регенеративни способности.

Костна тъкан (Bone tissue). Заедно с хрущялната тъкан участва в изграждането на осевия скелет, крайниците и в моделиране формата на тялото. Участва в минералния обмен на организма. Дейността на костната тъкан е под контрола на нервната и ендокринната система. Изгражда се от основни клетки: остеобласти и остеоцити (синтезират материали за междуклетъчното вещество) и остеокласти (т. нар. косторазрушители), които участват в ремоделирането на костната тъкан. Междуклетъчното вещество (каменно, твърдо) се състои от аморфно вещество и влакнести материали, основно колагенови влакна, които често са слепени успоредно от белтъка осеомукоид в пластинки или ламели. Минералните соли стигат до 55% от теглото на тъканта. В костната тъкан навлизат кръвоносни съдове. При гръбначните животни има два вида: грубовлакнеста и ламеларна (пластинчеста). Последната бива гъбеста и плътна с основна структурна и функционална единица – остеон (Хаверсова система). Остеонът се състои от: 4 – 20 бр. цилиндрично вмъкнати един в друг ламели от успоредно слепени колагенни влакна чрез белтъка осеомукоид; остеоцити; Хаверсов канал централно затворен, в който навлизат отвън кръвоносни съдове, малко рехавата съединителна тъкан и разклонение на нервни влакна. Костната тъкан има добра регенерация.

Мускулна тъкан (Textus muscularis). Представлява клетъчна общност от силно диференцирани и удължени мускулни клетки (миоцити) или мускулни влакна. Характеризират се със свойствата възбудимост, проводимост и съкратимост. Първите две се обуславят от свойствата на клетъчната мембрана (сарколема), а съкратимостта е пряко свързана с функционирането на специфични клетъчни органели наречени *миофибрили* и на съкратителните белтъци (филаменти) в тях – актин, миозин, тропомиозин и тропонин. През ембрионалното развитие при животните произлиза от мезодермата и се развива от мезенхимните клетки (мезенхима). Само миоепителните клетки имат ектодермлен произход. Според структурната организация на съкратителния апарат тъканта се разделя на три основни вида – гладка, набраздена (косо и напречно набраздена) и миоепителни клетки. Напречно набраздената бива скелетна и сърдечна (съкратителна, типична и импулсопроводна, нетипична). Основната структурна единица на скелетната мускулна тъкан е мускулното влакно – миофибра. На сърдечната мускулна тъкан е мускулната клетка кардиомиоцит. Запазвайки клетъчните си ограничения клетките се нареждат едно до друго и образуват мускулни влакна. Контактват помежду си чрез интеркаларни дискове. Основна структурна единица на гладката мускулна тъкан е мускулната клетка – лейомиоцит. Мускулната тъкан се характеризира с липсата на собствено междуклетъчно вещество. Тази роля се изпълнява от рехавата съединителна тъкан, която чрез тънки прослойки (малко количество) навлиза навътре в тъканта между клетките и влакната и като носи със себе си разклонения на кръвоносни съдове и нерви. Специфични клетъчни органели за набраздената мускулна тъкан са миофибрилите, които като тънки тръбички се намират по дължината на многоядрената миофибра. По дължината на всяка миофибрила се забелязват тъмни и светли зони (ивици), напречно разположени по дългата ос на влакното, където по специфичен начин са подредени молекулите на съкратителните белтъци – актин, заедно с тропомиозин и тропонин, и миозин. От пълното съвпадение на светлите и тъмни зони във всички миофибрили на една миофибра се определя напречното набраздяване по дължината му. При малко отклонение на това разположение се формира косо набраздяване – ивиците са наклонени. По средата на светлите зони, също напречно на дългата ос, се разполагат молекулите на белтъците дезмин и α актин. Те изграждат т. нар. Z дискове. Разположението на молекулите на съкратителните белтъци се повтаря между два Z-диска. Разстоянието между два Z диска се нарича *саркомер*, който представлява основната функционална единица на набраздената мускулна тъкан. Скелетната мускулна тъкан се съкращава волево, под действието на централната нервна система, докато сърдечната и гладката мускулни тъкани се съкращават неволево, под

действие на вегитативната нервна система. Регенерацията на тъканта е много ограничена. Възстановяването е по-скоро за сметка на рехавна съединителна тъкан.

Нервна тъкан (Nervous tissue). Представлява комплекс от основни, специализирани нервни клетки наречени неврони (невроцити) и придружаващи, спомагателни глиевы клетки невроглия. Невроните са основна структурна и функционална единица на нервната тъкан. Функцията им е да: възприемат дразненията от околната среда и различните части на тялото; анализират, интегрират, трансформират информацията и да изработват съответни нервни импулси; препращат нервните импулси в посока към други неврони или органи от организма за подходяща реакция на организма (мускули или жлези). През ембрионалното развитие при гръбначните животни се развива от ектодермата, чрез процеса невролация (затваряне на нервната тръба). Невроните са високо специализирани клетки. Изградени са от клетъчно тяло (перикарион – метаболитен център на клетката) и израстъци, които са: дендрити – къси, дървовидно разклоняващи се и един дълъг израстък – аксон. Дендритите възприемат и насочват получената информация в посока към перикариона. В аксона се генерират и провеждат нервните импулси към реагиращите клетки или други неврони. Невроните имат специфични клетъчни органели – *тигроидни тела и неврофибрили*. Тигроидните тела представляват големи комплекси от рибозоми и гранулиран ендоплазмен ретикулум, които в хистологични препарати се оцветяват базофилно, изпълват цитоплазмата, която наподобява на тигрова кожа. При по-малки размери се структурират като малки гранули – Нислови зърна/Нислови гранули. Това е показател за интензивен синтез на структурни и транспортни белтъци. Неврофибрилите са специфично структурирани и оформят цитоскелета на клетката. Разполагат се в перикариона и израстъците. Имат значение за поддържане на клетъчната форма и за транспортирането на различни субстанции и органели в израстъците. Невроглията изпълнява спомагателна функция в нервната тъкан – хранителна, секреторна, възстановителна (репаративна), опорна, защитна, регулаторна. Невроглията бива: епендимна глия (епителоподобни клетки, изграждат стената на празнини, напр. гръбначномозъчен канал); макроглия (астроцити – фиброзни и протоплазмени и олигодендрцити); микроглия (микроглиевы клетки със защитна функция, единствени имат мезодермален произход). Астроцитите имат основно регулаторна функция Протоплазмените астроцити са с многобройни къси и дървовидно разклоняващи се израстъци, чрез които влизат в междуклетъчни комуникации. Участват в изграждането на сивото мозъчно вещество. Влакнестите астроцити са с по-малко израстъци, но по-дълги и с по-малко разклонения. Те участват в изграждането на бялото мозъчно вещество. Олигодендрцитите са с малки размери, с къси израстъци. В бялото мозъчно вещество участват в образуването на миелиновата обвивка на миелиновите нервни влакна.

1. Ензими – общи свойства на ензимите

Ензимите са биокатализатори, ускоряващи определени химични реакции в клетката. Ензимите са белтъци, предимно глобуларни. Малка част от ензимите са РНК молекули, наречени рибозими, които също действат като биокатализатори. За ензимите са валидни всички общи свойства на катализаторите: 1) увеличават скоростта на спонтанно протичащи реакции, без да изместват химичното равновесие; 2) променят в еднаква степен скоростта на правата и на обратната реакция до достигане на химично равновесие; 3) действат в незначителни количества; 4) понижават активиращата енергия на реакцията (**Фиг. 1**).

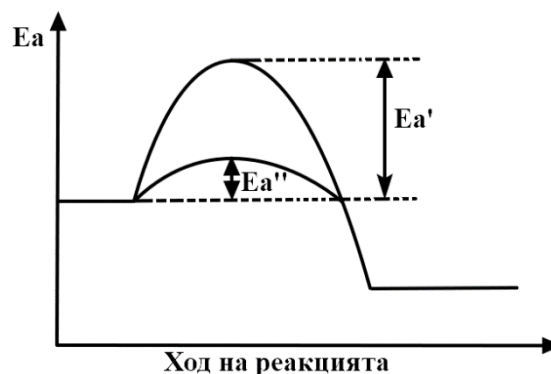
1). Молекулите реагират помежду си само в случаите, когато са енергетично богати и притежават енергия, по-голяма от средната кинетична енергия. Тази енергия се означава като активираща (E_a).

За ензимите са валидни всички общи свойства на катализаторите: 1) Увеличават скоростта на спонтанно протичащи реакции, без да изместват химичното равновесие. 2) Променят в еднаква степен скоростта на правата и на обратната реакция до достигане на химично равновесие. 3) Действат в незначителни количества. 4) Понижават активиращата енергия на реакцията.

Ензимите се отличават от останалите катализатори по: 1) Имат висока ефективност – ускоряват биохимичните реакции от 10^9 до 10^{12} пъти. 2) Проявяват висока специфичност по отношение природата на реакцията и структурата на субстрата. 3) Действат обикновено при помехи условия – атмосферно налягане, рН около неутралното, невисока температура. 4) Активността и синтезата на ензимите в клетките са подложени на строга регулация.

По компонентен състав, ензимите се разделят на: 1) Еднокомпонентни – съставени само от 1 или повече белтъчни молекули. 2) Двуконпонентни – съдържат белтъчна съставка (апоензим) и небелтъчна съставка (кофактор). Според силата на свързване към апоензима се различават следните кофактори: а) простетична група – здраво, ковалентно свързана с апоензима, а отделянето ѝ води до разрушаване на белтъчната структура на ензима; б) коензим – слабо, нековалентно свързан с ензима, посредством водородни, йонни и хидрофобни взаимодействия, а при отделянето им, структурата на апоензима се запазва. Като коензими или простетични групи функционират витамини или техни производни (витамините се синтезират в растенията и постъпват в организма на животните и човека с храната). Пиридоксалфосфат (ПФ) – пренася аминогрупа. Име на съдържащия се витамин: витамин В6 (пиридоксол). Коензим на ензими трансминази. Биотин (витамин Н) – пренася карбоксилни групи. Простетична група на ензими карбоксилази. Коензими никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ) (витамин РР) пренасят водород и са окислително-редукционни системи в процесите на биологично окисление. Често окислените и редуцираните им форми функционират като преносители на редуциращи еквиваленти между различни оксидоредуктазни ензими. Флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (витамин В2, рибофлавин) са простетични групи на оксидоредуктазни ензими.

Ензимно катализираните реакции се разделят в 6 групи: 1) Окислително-редукционни реакции – извършвани от ензими оксидоредуктази. Те катализират окислително-редукционни реакции. Под действие на дехидрогенази от различни субстрати се отделят водород (алкохол дехидрогеназа, лактат дехидрогеназа, сукцинат дехидрогеназа). 2) Трансферазни реакции (прехвърляне на групи) – ензими трансферази, напр. аспаратаминотрансфераза и аланинаминотранс-



Фиг. 1. Ефект на ензимите върху активиращата енергия (E_a) на биохимичните реакции. $E_{a'}$ – активираща енергия на некатализираната реакция; $E_{a''}$ – активираща енергия на ензимно катализирана реакция.

изисквания към участващите в нейното формиране химични групировки. Пример за това са триацилглицерол липазите.

4. Скорост на ензимните реакции – ензимна кинетика

Скоростта на ензимната реакция (v) се измерва: чрез количеството субстрат, трансформиран за единица време ($d[S]/dt$) или чрез количеството продукт, натрупан за единица време ($d[P]/dt$). Скоростта на ензимно катализирана реакция се влияе от: концентрация на субстрата $[S]$; концентрация на ензима $[E]$; концентрация на инхибитори $[I]$; $T^{\circ}C$; pH . Скоростта на ензимната реакция намалява с времето. Причина за това е действието на различни фактори: понижаване концентрацията на субстрата с времето; инхибиране на ензима с реакционния продукт; инактивиране на ензима с напредване на реакцията. В началния период на реакцията всички тези фактори имат незначително влияние върху скоростта. Скоростта е постоянна величина – определя се началната скорост на ензимната реакция (V^0).

4.1. Стационарно и предстационарно състояние на ензимната реакция

Стационарно състояние – динамичните системи се намират в това състояние, когато важна за техните характеристики величина не се променя с времето (или скоростта на образуване на съществен за тях компонент е равна на скоростта на неговото разграждане). При смесването на E със S , ако концентрацията на субстрата е по-голяма от тази на ензима, започва формиране на ES комплекси. Концентрацията на ES достига максимална стойност, когато цялото количество ензим се свърже с S . В същото време ES се разгражда до компонентите си. Когато скоростта на образуването му се изравни със скоростта на неговото разграждане се достига до стационарно състояние т.е. концентрацията на ES не се променя с времето. Състоянието на динамичната система от началото на реакцията до достигане на стационарно състояние се означава като предстационарно – кратко време от мили до микро секунди и ензим-субстратното взаимодействие е бързо. Скоростта на образуване на продукта нараства пропорционално с повишаване концентрацията на ES (в предстационарния стадий) и става постоянна величина при достигане на стационарно състояние. Тази постоянна скорост за образуване на продукта се измерва при повечето реакции – това е началната скорост на реакцията. С напредване на времето, концентрацията на S респ. концентрацията на ES започва да се понижава и това води до понижаване на скоростта на реакцията – върху реакцията започват да оказват влияние различни фактори и изследването става нецелесъобразно (следстационарно състояние).

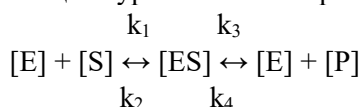
4.2. Влияние на концентрацията на субстрата върху скоростта на ензимните реакции

Молекулност на реакциите – броят молекули, които трябва да взаимодействат едновременно, за да протече реакцията.

- Едномолекулни (уномолекулни) реакции: $[A] \rightarrow [P]$; $v = d[P]/dt$; $v = -d[A]/dt$; $v = -d[A]/dt = k[A]$, където k има измерения за време – min^{-1} или s^{-1} . Това е реакция от първи порядък, в която скоростта зависи от концентрацията на $[A]$.
- Бимолекулни реакции: $[A] + [B] \rightarrow [P] + [Q]$. Скоростта може да се определи от скоростта на намаляване на $[A]$ и $[B]$ или от скоростта на нарастване на концентрациите на $[P]$ и $[Q]$. $v = k[A][B]$. Субстрати $[A]$ и $[B]$ трябва да взаимодействат помежду си, за да протече реакцията, т.е. нейната скорост е пропорционална на концентрацията на $[A]$ и $[B]$. Поради това, реакцията е от втори порядък. $2A \rightarrow P+Q$. Скоростната константа k при реакциите от втори порядък има размерност $(\text{концентрация})^{-1}(\text{време})^{-1}$, $v = k[A]^2$.

4.2.1. Кинетика на ензимни реакции с един субстрат

Общото уравнение на обратима ензимна реакция с 1 субстрат е:



$v = k_3[ES]$. Скоростта на реакцията в права посока е функция на скоростта, с която се разпада ES комплекса до E и P .

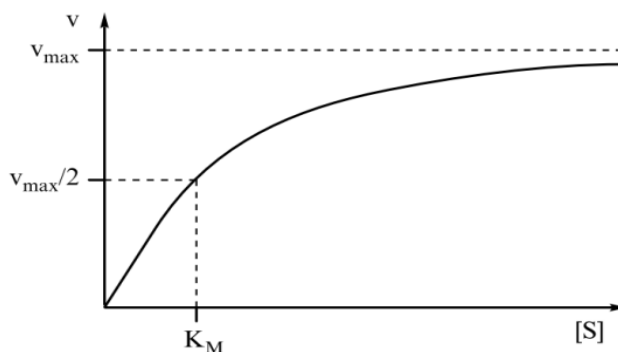
$$k_1[E].[S] = k_2[ES] + k_3[ES]; [ES].(k_2 + k_3) = k_1.[E].[S]$$

$$K_m = k_2 + k_3 / k_1$$

K_m е константата на Михаелис-Ментен, която дава информация за химичното сродство между Е и S. Колкото по-ниска е нейната стойност, толкова по-високо е сродството между Е и S.

$[ES] = [E] \cdot [S] / K_m$; E_o – общо количество ензим; $[E] = [E_o] - [ES]$; $[ES] = ([E_o] - [ES]) \cdot [S] / K_m$; $K_m \cdot [ES] = [E_o] \cdot [S] - [ES] \cdot [S]$; $K_m \cdot [ES] + [ES] \cdot [S] = [E_o] \cdot [S]$; $[ES] = [E_o] \cdot [S] / K_m + [S]$; $v = k_3[ES] \Rightarrow v = k_3[E_o] \cdot [S] / K_m + [S]$; $[E_o] = [ES] \Rightarrow V_{max} = k_3[E_o]$

$V = V_{max} \cdot [S] / K_m + [S] \Rightarrow$ Уравнение на Михаелис-Ментен. Дава възможност експериментално да се изследва зависимостта на скоростта на ензимните реакции от концентрацията на S – определя се при каква концентрация на S се достига максимална скорост на реакцията (V_{max}), както и онази концентрация на субстрата, при която се достига $V_{max}/2$, т.е. стойността на K_m . Графически, зависимостта на скоростта на ензимната реакция от субстратната концентрация се представя като хиперболична крива. Тя се построява емпирично, чрез провеждане на серия от реакции с нарастващи субстратни концентрации. K_m представлява тази субстратна концентрация, при която се достига половината от максималната скорост, V_{max} . Последната се достига при тази концентрация на S, при която всичко ензимни молекули са ангажирани в ES комплекси. В та-

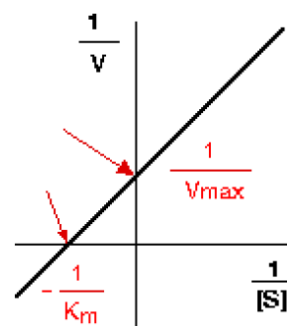


Фиг. 3. Графическо представяне на уравнението на Михаелис-Ментен за влияние на субстратната концентрация върху скоростта на ензимно катализираните реакции с 1 субстрат.

къв случай, скоростта на реакцията не нараства повече и става независима от концентрацията на S (**Фиг. 3**). V_{max} се определя от тоталното количество на ензимните молекули в системата: $V_{max} = k_{cat}[E_o]$; k_{cat} – унимолекулна константа (s^{-1} или min^{-1}) – броят молекули субстрат, превърнати от 1 молекула ензим за 1 секунда. Дава добра представа колко бързо действа ензимът.

Графически, уравнението е преизчислено по метода на двойните реципрочни величини от Лайнуевър и Бърк. В него, отрезът от ординатата дава максималната скорост на реакцията ($1/V_{max}$), а отрезът от абсцисата – стойността на K_m ($-1/K_m$). Този начин на представяне позволява определяне на посочените параметри чрез по-малко на брой експерименти, като се използва линейна зависимост **Фиг. 4**.

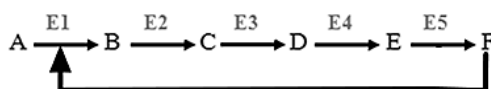
$1/v = 1/V_{max} + K_m/V_{max} \cdot 1/[s]$ – Уравнение на Лайнуевър-Бърк за зависимост на скоростта на ензимната реакция от субстратната концентрация.



Фиг.4 . Графичен израз на влиянието на субстратната концентрация върху скоростта на ензимно катализираната реакция, съгласно уравнението на Лайнуевър-Бърк.

5. Регулация на ензимната активност. Алостерична регулация

При метаболизма, съставен от взаимосвързани реакции, в които продуктът от една е субстрат във втора ензимно катализирана реакция, често срещана е регулацията по пътя на обратната връзка. При нея, продуктът на последната на реакция регулира активността на първия ензим от метаболитната верига. По този начин се възпрепятства натрупването на междинни метаболити от пътя – наблюдава се инхибиране по пътя на обратната връзка. Когато последният продукт от метаболитната верига се изчерпи, инхибиращият ефект спира и превръщанията по биохимичния път се възобновяват (**Фиг. 5**).

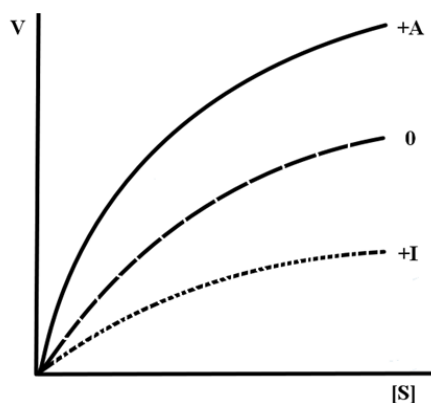


Фиг. 5. Регулация на метаболитен път чрез механизъм на обратна връзка.

Алостеричните ензими са регулаторни ензими. F действа чрез свързване към участък от ензима, различен от субстрат-свързващия участък и по този начин се инхибира E1. Регулаторните

ензими, като E1, се регулират и чрез активиране – други ефекторни молекули действат положително върху активността. Алостеричните ензими са изградени от повече от една полипептидна верига (субединица) и всяка субединица има свързващо място за субстрата, както и специално свързващо място за алостеричните ефектори. Регулаторните ефекти се постигат чрез структурни промени, възникнали в белтъка при свързване на ефекторни метаболити. Кинетиката им не следва класическото уравнение на Михаелис-Ментен. Графичната зависимост на скоростта (V) спрямо $[S]$ представлява сигмоидална или S-образна крива, вместо правоъгълна хипербола (Фиг. 6). Според модела на Моно, Уаймън и Шанжьо, алостеричните белтъци са олигомери. Могат да съществуват в поне две конформационни състояния – R (relaxed – разхлабено) ненапрегнато състояние и T (tense – напрегнато) състояние. Във всяка белтъчна молекула, всички субединици имат същата конформация (R или T). Белтъчните молекули в R и T състояние са в равновесие, като T конформацията е предпочитана пред R при условия, в които липсват лиганди ($[T] \gg [R]$). Субстратът и алостеричните активатори (положителни ефектори) се свързват само към състояние R, а алостеричните инхибитори (отрицателни ефектори) се свързват само към състояние T.

Лиганди, като субстрата, които се свързват по кооперативен начин, така че свързването на един еквивалент подобрява свързването на допълнителни еквиваленти от субстрата към една и съща белтъчна молекула, се наричат положителни хомотропни ефектори. Ефектори, които влияят върху свързването на различни от самите тях молекули, се наричат хетеротропни ефектори.



Фиг. 7. Зависимост на скоростта от концентрацията на субстрата при алостеричните регулаторни системи.

Представените промени, в отговор на ефектори, в този модел се наричат K системи, тъй като концентрацията на субстрата дава половината от максималната скорост, определена като $K_{0,5}$. В тези системи V_{max} е постоянна. Система, в която $K_{0,5}$ е константа, а V_{max} се променя в отговор на ефектори, се нарича V система. Всички графични зависимости на скоростта спрямо субстратната концентрация са хиперболични вместо сигмоидални. Положителният хетеротропен ефектор A активира чрез повишаване на V_{max} , докато отрицателният хетеротропен ефектор I води до нейното намаляване. Хетеротропният ефектор не засяга $K_{0,5}$.

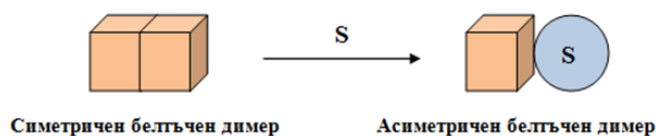
Според алостеричния модел на Кошланд, Немети и Филмер (модел на последователните конформационни изменения, Фиг. 8), свързването на лигандата води до промяна в конформацията на белтъка. Свързването на лиганда S индуцира конформационни промени в субединицата, към която се свързва. Двете субединици могат да имат различни конформации. Основният механизъм се основава на факта, че лиганд-индуцираната конформационна промяна в едната субединица може да предава своите ефекти на съседни субединици чрез промяна на взаимодействията на аминокиселинните остатъци в граничните повърхности между субединиците.



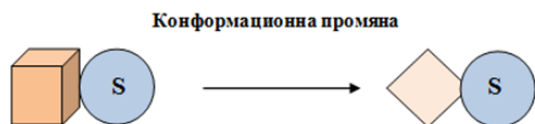
Фиг. 6. Сигмоидална зависимост на скоростта (V) спрямо $[S]$ при алостеричните ензими.

Ефектори, които спомагат за субстратното свързване, се определят като положителни хетеротропни ефектори или алостерични активатори. Ефектори, които намаляват свързването към субстрата, се наричат отрицателни хетеротропни ефектори или алостерични инхибитори.

Разглеждаме белтък, който е съставен от две субединици, всяка от които има две свързващи места: едно за субстрата и едно място, към което се свързват алостерични ефектори, наречено алостеричен център. Ако приемем, че субстратът се свързва само с R конформера и се предположи, че положителният хетеротропен ефектор A се свързва с алостеричния център само когато белтъкът е в конформация R, тогава отрицателният алостеричен ефектор I се свързва към алостеричния център само ако белтъкът е в T конформация. По този начин A и I се конкурират помежду си за свързването към алостеричния център (Фиг. 7).

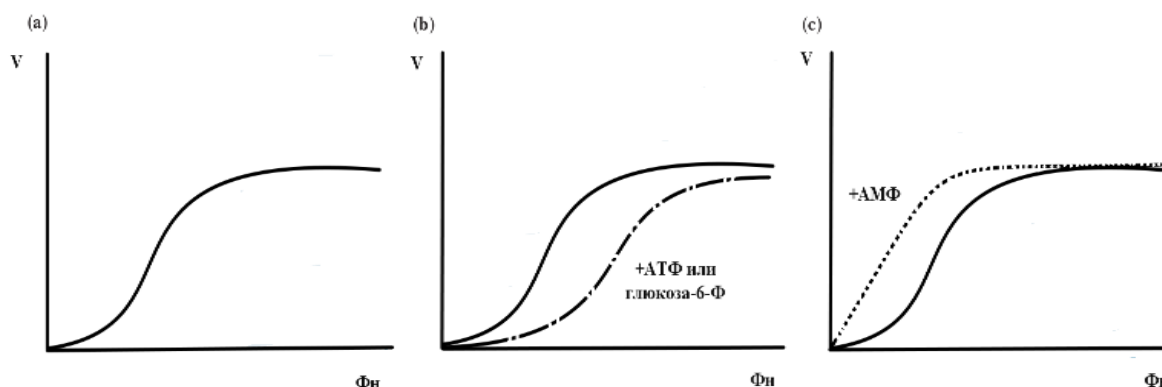


Фиг. 8. Модел на последователните конформационни изменения, предложен от Кошланд и съавтори.

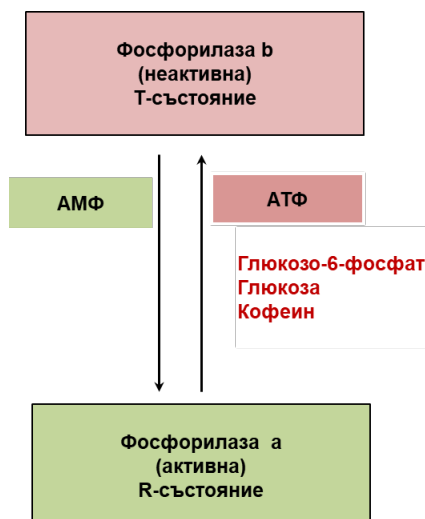


5.1. Алостерична регулация на гликоген фосфорилаза

Ензимът катализира фосфоролитичното отделяне на α -1,4-свързани глюкозни единици от нередуциращия край на гликогеновата верига, при което се получава глюкозо-1-фосфат и гликогенова верига, скъсена с 1 глюкозен остатък. Гликоген фосфорилазата е изградена от 2 еднакви субединици. Всяка субединица е изградена от 842 аминокиселинни остатъци и има молекулна маса 97.44 kDa. Всяка субединица съдържа кофактор пиридоксал фосфат, ковалентно свързана като към Lys680. Всяка субединица съдържа активен център, който е в центъра на субединицата и алостеричен ефекторен сайт близо до повърхността на субединицата. Има и регулаторен фосфорилиран сайт, който се намира при Ser14 във всяка субединица. Всяка субединица притежава място за свързване с гликогена. Свързването на субстрата неорганичен фосфат (Фн), към мускулната гликоген фосфорилаза е силно кооперативно, което води до значително повишаване действието на ензима при концентрации на субстрата в доста тесен диапазон. Неорганичният фосфат е положителен хомотропен ефектор за гликоген фосфорилазата. АТФ и глюкозо-6-фосфата са алостерични инхибитори на гликоген фосфорилазата. АМФ е алостерични активатор (положителен хетеротропен ефектор) на гликоген фосфорилазата – повишава свързването на субстрата Фн към ензима (**Фиг. 9 и 10**).



Фиг. 9. Влияние на субстрата върху скоростта на гликоген фосфорилазната реакция.



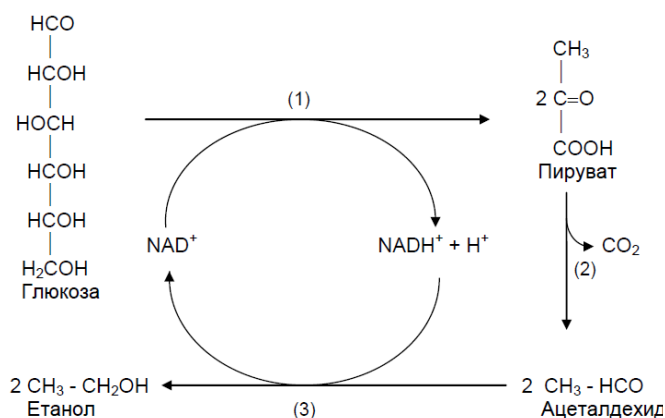
Фиг. 10. Алостерична регулация на гликоген фосфорилазата.

Ферментациите са анаеробни процеси на разграждане на субстратите, при които АТР се синтезира само чрез фосфорилиране на ниво субстрат и акцептор на водорода, отделен при биологичното окисление на субстратите е органично съединение. Микроорганизмите, осъществяващи ферментации са факултативни или облигатни анаероби. Факултативните анаероби, като ентеробактериите, в присъствие на кислород превключват метаболизма си на дишане. Облигатните анаероби не могат да синтезират компоненти на дихателна верига, свързана с кислород. Много от тях не понасят присъствието му – строги анаероби.

Микроорганизмите осъществяват няколко вида ферментация; класифицирането им се прави на базата на получените крайни продукти.

АЛКОХОЛНА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Редица гъби, някои бактерии, водорасли и протозои ферментират захарите до етанол и CO_2 в процес наречен алкохолна ферментация. Дрождите (*Saccharomyces*) разграждат глюкозата (и други захари) в гликолитичния обменен път. Полученият пируват се декарбоксилира до ацеталдехид от ензима *пируват декарбоксилаза*. Ензимът е ключов за ферментационния процес и съдържа тиаминпирофосфат. Ацеталдехидът се редуцира до етанол от *алкохолдехидрогеназа* и по този начин водородният баланс остава постоянен (Фиг. 1). В анаеробни условия ферментацията на глюкоза е много интензивна, но дрождите почти не растат. При аерация, ферментацията отслабва и започва дишане. Този феномен е известен като **ефект на Пастьор**. Аерацията понижава консумацията на глюкоза и образуването на етанол; стимулира се растежа на дрождите. В ефекта на Пастьор участват няколко регулаторни механизма. Един от тях се проявява на нивото на процесите на



Фиг. 1. Алкохолна ферментация при дрожди. (1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват декарбоксилаза; (3) алкохол дехидрогеназа

фосфорилиране. В основата му е **конкуренцията за ADP и P_i** . Окислението на глицералехид-3-фосфата в гликолитичния път се нуждае от ADP и P_i . В аеробни условия дихателната верига и окислението на глицералдехид-3-фосфата се конкурират за ADP.

Вторият регулаторен механизъм е **алостеричния контрол на активността на фосфофруктокиназата**. Този ензим алостерично се инхибира от АТР. В присъствие на АТР се увеличава сигмоидалността на кривата на насищане на ензима със субстрат. АМР действа като положителен ефектор и елиминира подтискащия ефект на АТР.

Освен глюкоза, дрождите могат да ферментират и пируват. Междинен продукт е ацеталдехид и това се доказва чрез прибавяне на NaHSO_3 . Той се свързва с ацеталдехида (образува се ацеталдехидсулфит), който не може да акцептира водорода от редуцирания NAD. Тази функция се поема от дихидроксиацетонфосфат, който се редуцира до глицерол-3-фосфат и дефосфорилира до глицерол. Тази модифицирана ферментация Нойберг нарича **втора форма** на алкохолната ферментация. Използва се за получаване на глицерол.

Прибавянето на NaHCO_3 или Na_2HPO_4 към ферментиращия разтвор също води до образуване на глицерол, тъй като ацеталдехида се превръща в етанол и ацетат в резултат на реакция дисмутация. Това е **третата форма** на алкохолната ферментация по Нойберг. Класическата алкохолна ферментация Нойберг нарича **първа форма**.

Съществуват няколко вида бактерии, които осъществяват алкохолна ферментация. *Zyotomas mobilis* (изолиран от ферментиращия сок на мексиканския кактус *Agave mexicana*) и

Zymomonas anaerobica превръщат глюкозата в пируват по пътя на Ентнер-Дудороф. Тези бактерии съдържат ензима *пируват декарбоксилаза*. Продукти на ферментацията са етанол, CO_2 и не големи количества лактат. *Sarcina ventriculi* и *Erwinia amylovora* ферментират глюкозата до пируват по гликолитичния път. Пируватът се превръща в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и CO_2 с ензимите *пируват декарбоксилаза* и *алкохол дехидрогеназа*. *Sarcina ventriculi* образува като странични продукти ацетат и молекулен водород, а *E. amylovora* – лактат.

При бактериите сравнително рядко се среща ензимът *пируватдекарбоксилаза*. Много млечнокисели бактерии, ентеробактерии и *Clostridium spp.* образуват значителни количества етанол, но при тях отсъства пируват декарбоксилаза. Ацеталдехид се образува при редукция на ацетил-СоА в реакцията, катализирана от *ацеталдехид дехидрогеназа*.

МЛЕЧНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

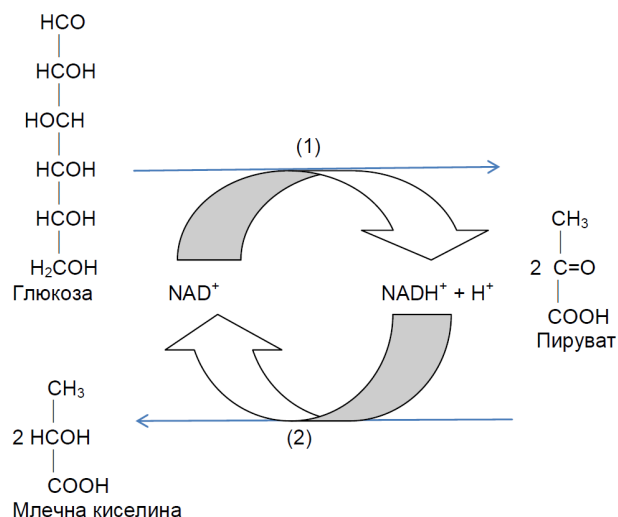
Млечната киселина (лактат) е широко разпространен краен продукт на ферментационните процеси, а няколко рода бактерии, наречени млечнокисели, продуцират млечна киселина в големи количества. Млечнокиселите бактерии от родове *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* се отнасят към **Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C**. Те са Грам-положителни; пръчковидни и кълбовидни; неспорообразуващи, предимно неподвижни. Аеротолерантни анаероби с ферментативен метаболизъм; не съдържат хемопротеини, като цитохроми и каталаза. Всички млечнокисели бактерии се отличават с висока захаролитична активност и отсъствие на повечето анаболитни пътища, което обуславя голяма възискателност към хранителните субстрати. Тези микроорганизми се развиват в растителни тъкани и разлагащи се растителни остатъци (*Lactobacillus plantarum*, *L. delbrückii*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*), мляко и млечни продукти (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*), чревния тракт и слизестите обвивки на човек и животните (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus faecalis*, *S. salivarius*, *S. bovis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*).

Род *Bifidobacterium* се отнася към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Всички представители на род *Bifidobacterium* са строги анаероби; те не понасят кислород; за развитието им е необходима атмосфера, съдържаща 10% CO_2 . *Bifidobacterium bifidum* е с V- или Y-образна форма, откъдето е получил името си (лат. *bifidus* – раздвоен). Преобладава в чревния тракт на кърмачета (бифидобактерии се откриват и в дебелото черво на възрастни хора), тъй като се нуждае от въглехидрати, съдържащи N-ацетилглюкозамин, който се съдържа в човешката кърма (но не в кравето мляко).

Млечнокиселите бактерии осъществяват няколко вида ферментация.

1. Хомоферментативна млечнокисела ферментация – млечната киселина е преобладаващ продукт (повече от 90% от всички продукти). Глюкоза се превръща в гликолитичния път до пируват, който акцептира водорода от глицералдехид-3-фосфат дехидрогеназната реакция и се редуцира до млечна киселина с ензима *лактат дехидрогеназа* (Фиг. 2). От 1 mol глюкоза се получават 1.8 mol млечна киселина. Енергетичният баланс на ферментацията е 2 mol АТР на 1 mol изразходвана глюкоза.

2. Хетероферментативна млечнокисела ферментация – получават се приблизително 50% млечна киселина и 50% други продукти. Хетероферментативните млечнокисели бактерии не притежават ензимите *алдолаза* и *триозофосфат изомераза*. Глюкозата се превръща в пентозофосфатния път до ксилулозо-5-фосфат, който в реакция, катализирана от *пентозофосфофокетолаза* се разпада до глицералдехид-3-фосфат и ацетилфосфат. Глицералдехид-3-фосфатът се превръща в лактат, а ацетилфосфатът през ацетил-СоА и ацеталдехид в етанол. Други млечнокисели бактерии



Фиг. 2. Хомоферментативна млечнокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) лактат дехидрогеназа.

(*Lactobacillus brevis*) превръщат ацетилфосфата изцяло или частично в ацетат, при което макроергичната връзка се пренася върху ADP – синтезира се АТР. Излишъкът от водород се поема от глюкоза, която се редуцира до манитол. Балансът на хетероферментативната млечнокисела ферментация е 1 mol АТР на всеки mol изразходвана глюкоза.

МРАВЧЕНОКИСЕЛА (СМЕСЕНА) ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРИ ЕНТЕРОБАКТЕРИИ

Представителите на разред *Enterobacteriales* се отнасят към **Група 2 – Протеобактерии, γ-Протеобактерии**. Те са Грам-отрицателни, неспорообразуващи пръчици; хемоорганотрофи. Факултативни анаероби. Условно-патогенни микроорганизми.

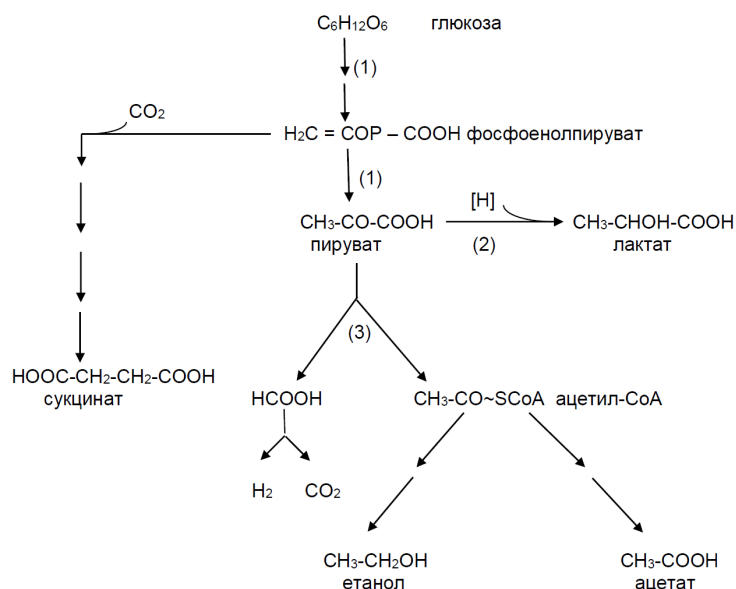
Род *Escherichia* – къси пръчици; неподвижни и подвижни; подвижните форми са перитрихи. *Escherichia coli* населява чревния тракт на животните и човек няколко часа след раждането и е нормален комменсал. При определени условия може да предизвика заболявания – уринарни, интестинални инфекции, менингити, вътреболнични инфекции. Запазва известно време жизнеспособност и извън стомашно-чревния тракт, поради което лесно се изолира. Използва се като тест-микроорганизъм за установяване на фекалното замърсяване на питейна вода.

Род *Enterobacter* – подвижни пръчици (перитрихи), разпространени в почва, вода, интестиналният тракт на човек и животни. Ферментират захарите с отделяне на газ. Могат да причинят, макар и рядко менингити, сепсиси, раневи инфекции, вътреболнични инфекции.

В отсъствие на кислород ентеробактериите осъществяват два вида смесена ферментация.

1. Родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* ферментират захарите до млечна, оцетна, мравчена, янтарна киселини, неголеми количества C_2H_5OH , CO_2 и H_2 .

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път. На ниво фосфоенолпируват (ФЕП) се отделя разклонението за синтез на янтарна киселина. Останалата част от ФЕП се превръща в пируват. Значителна част от него се редуцира до млечна киселина; бактериите от родове *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* продуцират значителни количества млечна киселина. От пируват с ензимния комплекс *пируват:формиат лиаза* (ключов за ферментацията) се получава ацетил-СоА и мравчена киселина. Мравчената киселина е краен продукт, но част от нея се разпада до CO_2 . Ацетил-СоА се превръща в етанол и в оцетна киселина (Фиг. 3).



Фиг. 3. Смесена ферментация при *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

(1) ензими на гликолитичния път;
(2) лактат дехидрогеназа
(3) пируват:формиат лиаза.

2. Родове *Enterobacter* и *Erwinia* за сметка на киселините образуват значителни количества C_2H_5OH , CO_2 и 2,3-бутандиол – **бутандиолова ферментация**.

Глюкозата се разгражда по гликолитичния път до пируват (няма разклонение на ниво ФЕП, т.к. не се получава сукцинат). Малка част от пирувата се редуцира до млечна киселина. От пируват, с ензима *пируват:формиат лиаза* се получават формиат и ацетил-СоА. Част от формиата се разпада до CO_2 и H_2 , а ацетил-СоА изцяло се превръща в етанол. От пирувата се получава 2,3-бутандиол – специфичен продукт, който дава име на ферментацията. Двата вида ферментация се разграничават чрез реакция с метилрот (MR) и реакция на Фогес-Проскауер (VP).

МАСЛЕНОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

През 1861 г. Луи Пастър открива ферментация на захари, при която се получава бутират. Осъществява се от облигатни анаероби, представители главно на 4 рода: *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*.

Видовете *Clostridium* поглъщат захарите с фосфотрансферазна система; хексозите се разграждат до пируват в гликолитичния обменен път; пируватът се превръща в ацетил-CoA, CO_2 и H_2 под действието на ензима *пируват:ferredоксин оксидоредуктаза*, който е ключов за ферментацията. Двете молекули ацетил-CoA кондензират, при което се формира ацетоацетил-CoA, който постепенно се превръща в маслена киселина (Фиг. 4). Енергетичният баланс на ферментацията е 3 mol ATP на 1 mol глюкоза.

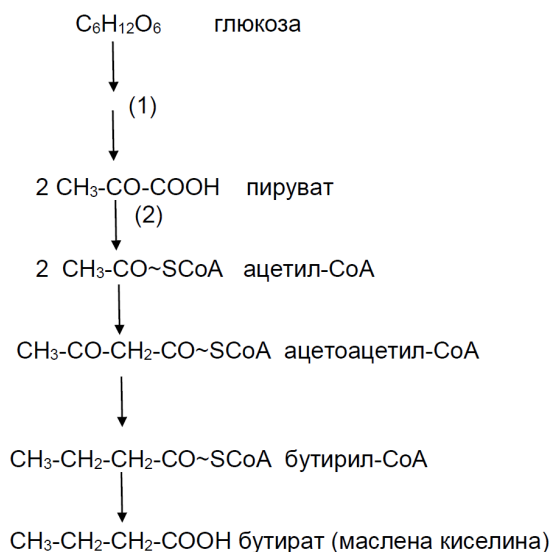
Clostridium acetobutylicum ферментират глюкозата до бутират, бутанол и ацетон. Първоначално се образува бутират, но подкислението на средата активира ензими (като *ацетоацетат декарбоксилаза*), които катализират образуването на бутанол и ацетон. Процесите на синтез на различните продукти са свързани. Декарбоксилирането на част от ацетоацетата води до загуба на част от потенциалния акцептор на водорода от редуцирания NAD, който се прехвърля върху бутирил-CoA – образува се бутанол. В процеса се включва, след активиране, постъпващия от средата бутират. Някои щамове редуцират ацетона до 2-пропанол. Ако рН се поддържа на ниво по-високо от 5.0, образуването на ацетон и бутанол силно се подтиква.

Род *Clostridium* се отнася към Група 3 – Грам-положителни бактерии с ниско съдържание на G+C. *Clostridium* са Грам-положителни; стари култури могат да се оцветят отрицателно по Грам. Изоларат се от почва, оборски тор, замърсени води, храносмилателния тракт на животни и човек. Повечето видове са подвижни перитрихи (срещат се и неподвижни). Образуват терморезистентни спори, които са кръгли или елипсовидни и променят формата на клетката. През определени етапи от развитието си клетките съдържат гранулеза (скорбялоподобно вещество), която се оцветява от йод в синьо. Натрупването на гранулеза се използва като таксономичен белег. *Clostridium* се отличават с изразен ферментативен тип метаболизъм. Анаероби с преходни форми – от строги анаероби (*C. pasteurianum*, *C. kluyveri*) до почти аеротолерантни (*C. histolyticum*, *C. acetobutylicum*). Не съдържат хемопротеини (цитохроми и каталаза). Повечето видове са мезофилни (opt.t 30 – 37°C), но се срещат и термофилни, като *C. thermoaceticum*, *C. thermohydrosulfuricum*. *Clostridium* се различават силно по отношение на субстратите, които могат да ферментират. Захаролитичните видове разграждат предимно полизахариди, а пептолитичните – белтъци и аминокиселини. Оптимално рН за развитието е 6.5 – 7.2. Някои пептолитични *Clostridium* могат да причинят болести при раневи инфекции (газова гангрена и тетанус), а също така хранителни отравяния.

ПРОПИОНОВОКИСЕЛА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Пропионовокиселите бактерии обитават търбуха и чревния тракт на преживните животни, където превръщат млечната киселина, получена при различни ферментационни процеси в пропионова. Пропионова киселина образуват видовете *Propionibacterium*, *Selenomonas*, *Micromonospora* и *Clostridium propionicum*.

Род *Propionobacterium* се отнася към Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C. Плеоморфни пръчици с размери 0.5 – 0.8 x 1.0 – 5.0 μm . Срещат се поединично, по двойки, в къси верижки, в Y или V образни конфигурации. Неспорообразуващи, неподвижни. При неблагоприятни условия формират бухалковидни форми. Не растат на твърди среди при дос-



Фиг. 4. Масленокисела ферментация. (1) ензими на гликолитичния път; (2) пируват:ferredоксин оксидоредуктаза

търп на въздух. Анаероби, но притежават вариабилна аеротолерантност. Притежават цитохроми и каталаза. Оптимална температура за развитие – 30 – 37°C. Хемоорганотрофи. Откриват се главно в сирене и млечни продукти и са част от нормалната микрофлора на човешката кожа. Ферментират глюкоза, захароза, лактоза, пентози, малат, глицерол, лактат с образуване на значителни количества пропионат. При ферментацията се получават също ацетат и неголеми количества CO₂.

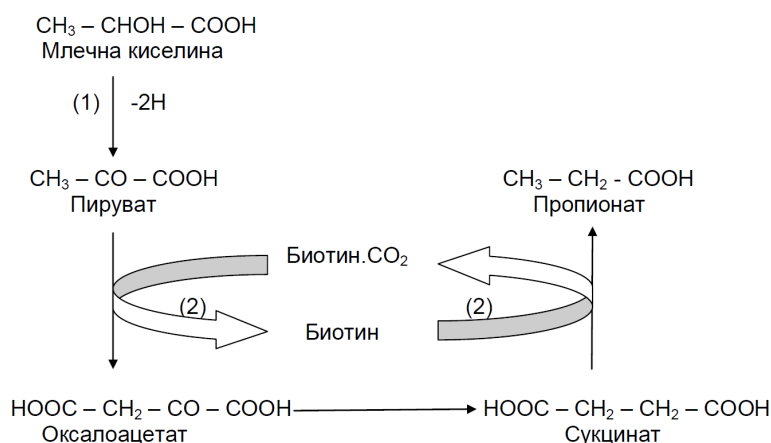
Род *Micromonospora*. Проактиномицети; отнасят се към **Група 4 – Грам-положителни бактерии с високо съдържание на G+C**. Притежава добре развит, разклонен, септиран субстратен мицел. Въздушен мицел липсва. Грам-положителни клетки. Стената съдържа *meso*-диаминопимелинова киселина и глицин. Аероби и микроаероби. Хемоорганотрофи. Чувствителни са към pH стойности под 6.0. Растат при температури 20 – 40°C. Обитават почва, води (морски и сладководни), седименти. Няколко вида се откриват в интестиналния тракт на термити и търбуха на овце.

Формирането на пропионата става по два пътя; превръщането на глюкозата се осъществява по гликолитичния обменен път.

1. Сукцинат-пропионатен път. Функционира при повечето пропионовокисели бактерии. Първоначално, пируватът се карбоксилира до оксалоацетат. В реакцията участва биотин, като преносител на CO₂; CO₂ се използва циклично. Оксалоацетатът се превръща в сукцинат. Сукцинатът се активира и декарбоксилира до пропионат (Фиг. 5).

2. Акрилоил-СоА път. Функционира при *Clostridium propionicum*. Междинен продукт е акрилоил-СоА. Субстрат може да бъде L-, D- или DL-

лактат, които претърпяват взаимни превръщания под действие на ензима *лактат рацемаса*. Част от млечната киселина се окислява до пируват, от който се получава ацетил-СоА, CO₂ и редуцират фередоксин с ензима *пируват:фередоксин оксидоредуктаза*. Ацетил-СоА се превръща в оцетна киселина. Останалата част от лактата се превръща в лактил-СоА, от който се получава акрилоил-СоА. Следва редукция до пропионил-СоА и освобождаване на пропионат. Донори на електрони са редуцирания флавопротеин и редуцирания фередоксин, получени в другото разклонение на пътя. Крайни продукти в този път са пропионова и оцетна киселини и CO₂.



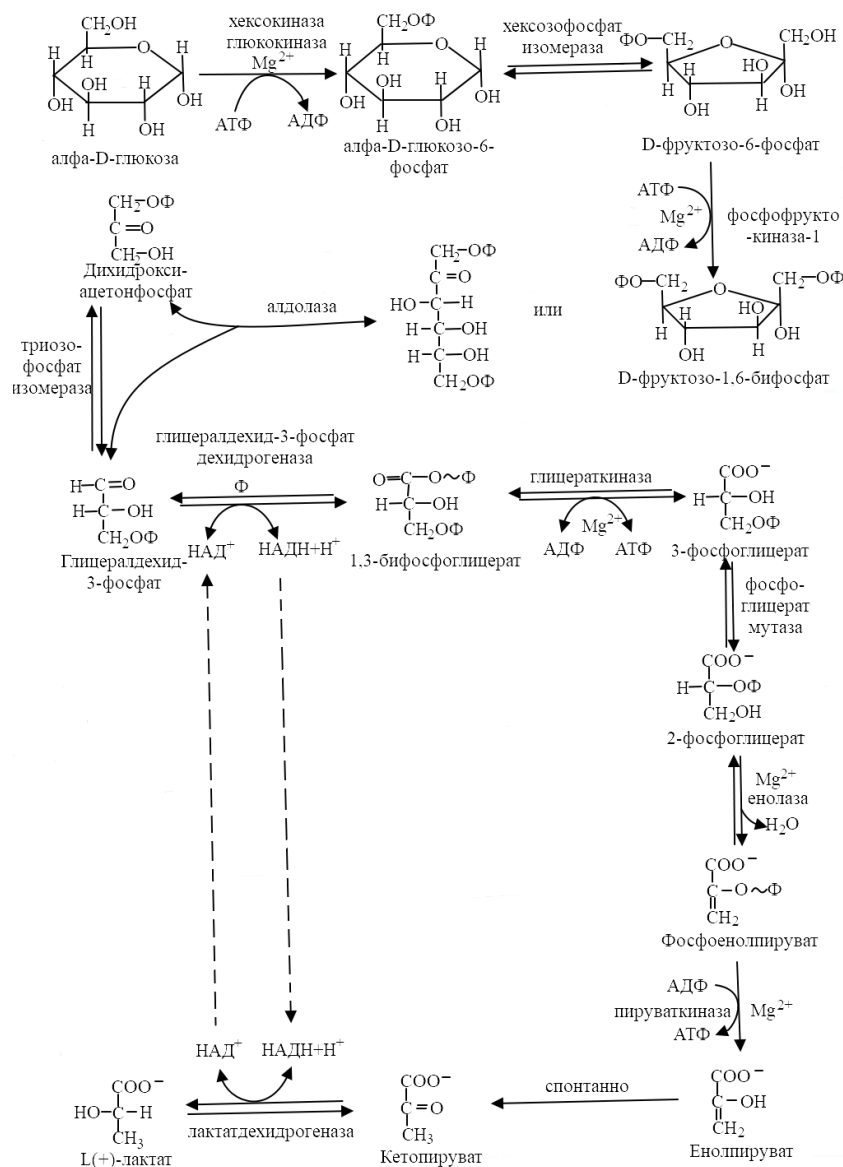
Фиг. 5. Сукцинат-пропионатен път на пропионовокисела ферментация. (1) лактат дехидрогеназа; (2) транскарбоксилаза

1. Катаболизъм на въглехидрати

Въглехидратите са най-предпочитаният източник за окислително разграждане, в хода на което организмите получават енергия в използваема форма. Разграждането на въглехидратите протича в два етапа: 1) полизахаридите и олигозахаридите се разграждат до монозахариди; 2) монозахаридите се разграждат до CO_2 и H_2O .

1.1. Анаеробно разграждане на глюкоза – гликолитичен обменен път (гликолиза)

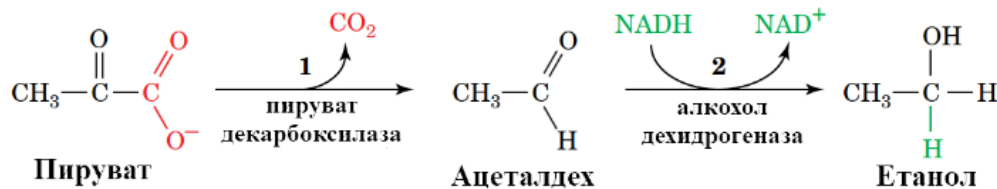
Разграждането на глюкозата (респ. др. монозахариди) в клетката започва в цитоплазмата, при анаеробни условия, по гликолитичния обменен път, наречен гликолиза. В хода на гликолизата, 1 молекула глюкоза се разгражда до 2 молекули пирогроздена киселина (пируват), а отделената енергия се съхранява в макроергични връзки – синтезира се АТФ (Фиг. 1, Г. Косекова – Лекции по биохимия).



Фиг. 1. Реакции в гликолитичната верига.

Разграждането на 1 молекула глюкоза по гликолитичната верига, в анаеробни условия, води до получаване на: 2 молекули пируват + $2\text{H}_2\text{O} + 4\text{ATP}$. От добитата енергия, под формата на АТФ, само 2 молекули АТФ са реален добив, тъй като в подготвителната фаза на гликолизата се изразходват 2 молекули АТФ.

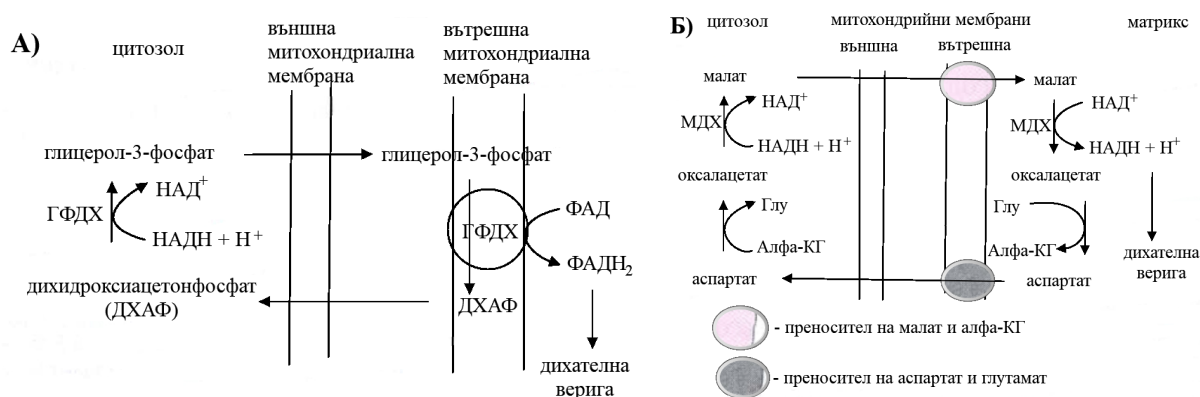
При анаеробни условия, напр. при хлебни дрожди *Saccharomyces cerevisiae*, пируватът се превръща в етанол (алкохолна ферментация) (Фиг. 2. Voet & Voet, 5th Ed.)



Фиг. 2. Анаеробно разграждане на пируват до етанол (алкохолна ферментация).

1.2. Връзки меду гликолиза и дихателни вериги

Вътрешната митохондриална мембрана е непропусклива за НАДН и НАДФН, които се отделят в хода на окислителните процеси в цитоплазмата (вкл. гликолизата). Установени са 2 совалкови механизма, осъществяващи преноса на водород от цитоплазмата към митохондриите, където се осъществява транспортирането му по дихателните вериги до кислорода: 1) глицеролфосфатна совалка; 2) малатна совалка (Фиг. 3, Г. Косекова – Лекции по биохимия). При разграждане на 1 молекула глюкоза до 2 молекули пируват по гликолизата (2АТФ) и при използване на глицеролфосфатна совалка (4АТФ) или малатна совалка (6АТФ) се синтезират 6 и съответно 8 молекули АТФ. Глицеролфосфатната совалка действа в скелетните мускули и мозъка, а малатната совалка – в сърдечния мускул, черния дроб и мастната тъкан.

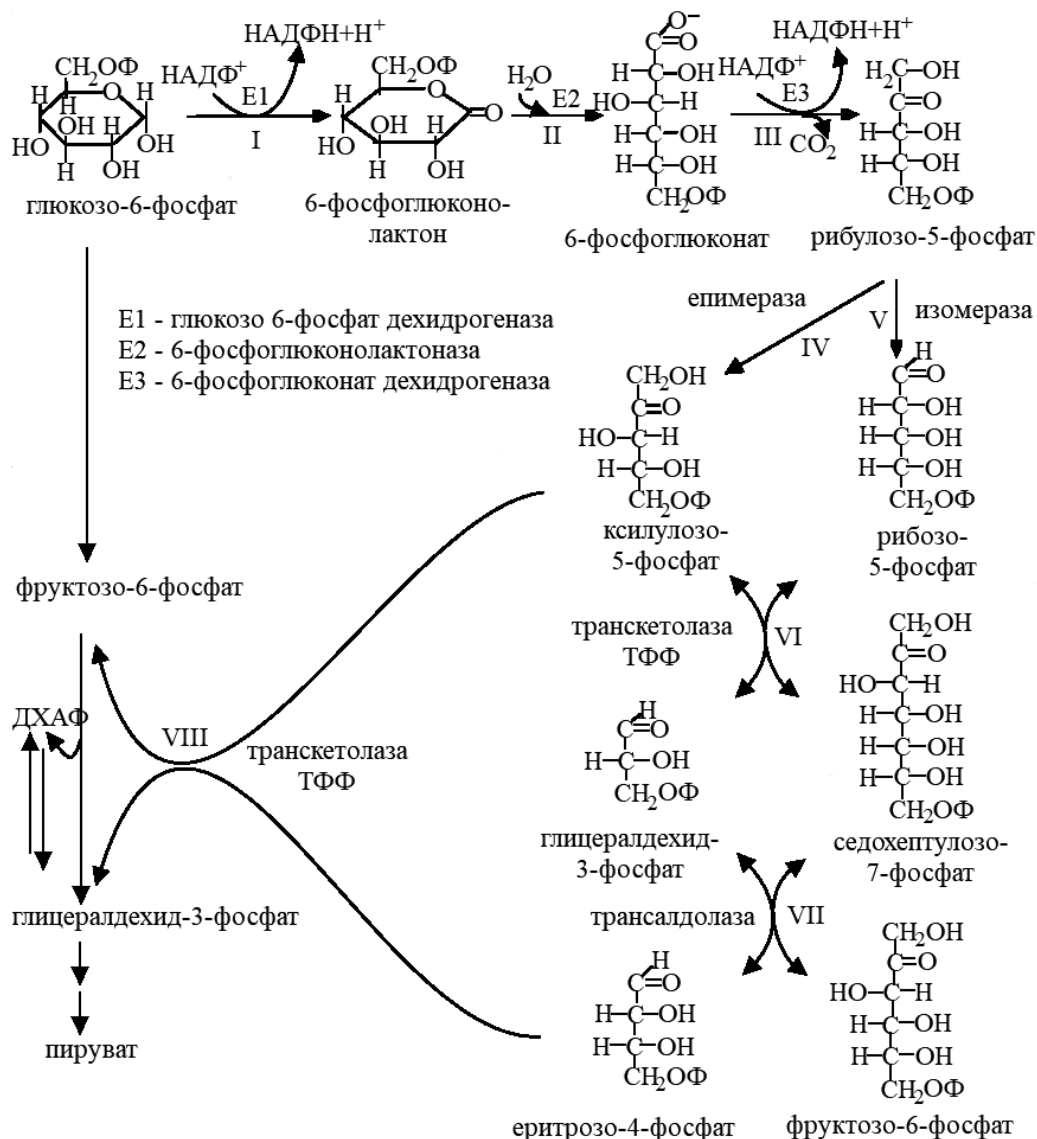


Фиг. 3. Совалкови механизми за пренос на водород от цитоплазмата към дихателните вериги в митохондриите. А) Глицеролфосфатна совалка. Б) Малатна совалка. Съкращения: ГФДХ – глицеролфосфат дехидрогеназа; МДХ – малат дехидрогеназа; Глу – глутамат; α-КГ – α-кетоглутарат.

1.3. Други пътища за разграждане на глюкоза

1.3.1. Пентозофосфатен път (ПФП)

ПФП протича в цитоплазмата при анаеробни условия и се отклонява от гликолизата на нивото на глюкозо-6-фосфат. Отново се влива в гликолизата на нивото на фруктозо-6-фосфат и глицералдехид-3-фосфат. В хода на ПФП се получава НАДФН, който е необходим за синтезните процеси. Получава се рибозо-5-фосфат, който се използва в биосинтеза на нуклеотиди, а от тях и на нуклеинови киселини. Полученият глицералдехид-3-фосфат се използва за получаване на глицерол-3-фосфат в мастна тъкан за синтеза на триацилглицероли (Фиг. 4, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

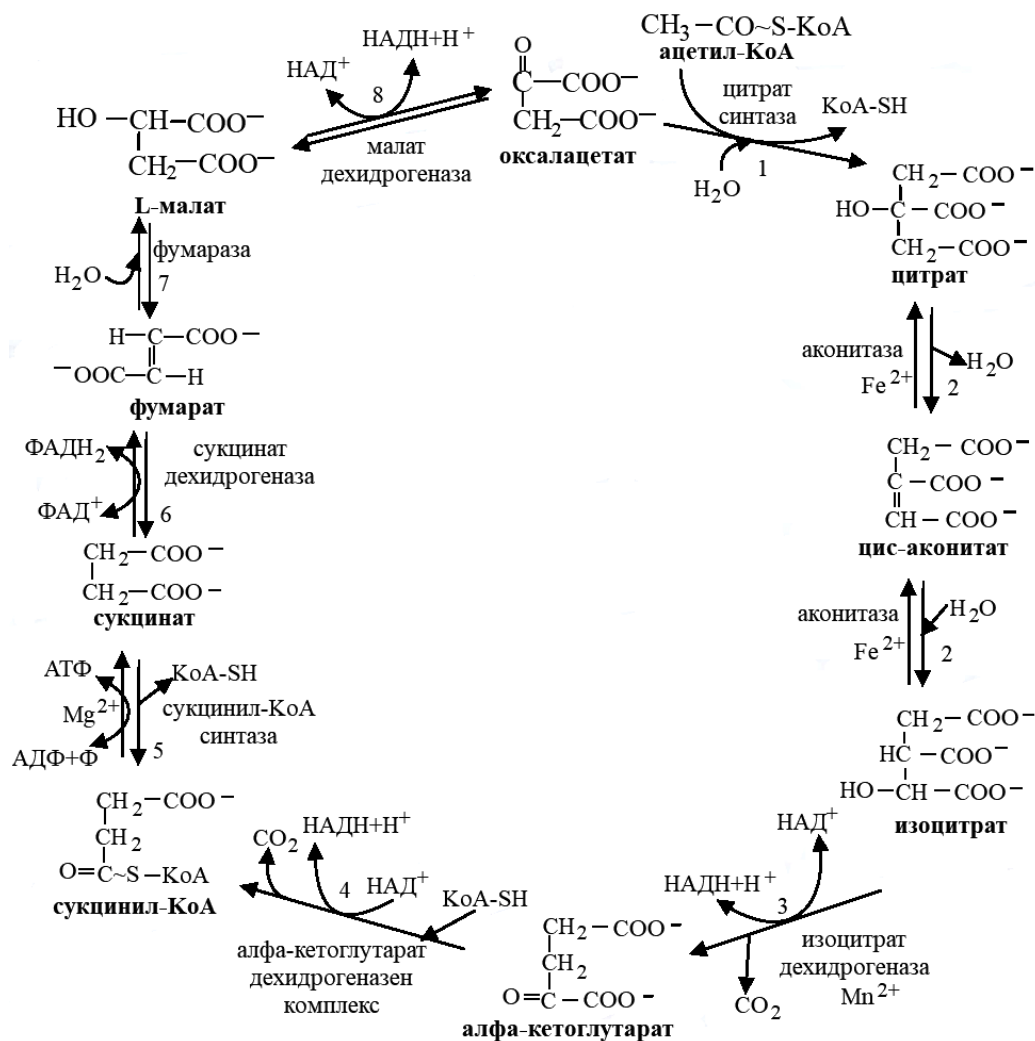


Фиг. 4. Пентозофосфатен път, в който 3 молекули глюкозо-6-фосфат се превръщат в 3 CO_2 , 2 фруктозо-6-фосфат и 1 глицералдеhid-3-фосфат. Вляво вертикално е представена схематично гликолизата. В реакции VI и VIII, катализирани от транскетолаза, се пренасят C_2 -фрагменти. C_3 -фрагмент се пренася от трансалдолазата в реакция VII.

Ензими: I – глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа; II – лактоназа; III – 6-фосфоглюконат дехидрогеназа; IV – епимераза; V – изомераза; VI – транскетолаза; VII – трансалдолаза; VIII – транскетолаза.

1.2. Цитратен цикъл (цикъл на Кребс).

Серия от реакции, катализирани от осем ензима, които разграждат ацетиловата група на ацетил-КоА до CO_2 и H_2O (**Фиг. 5, Г. Косекова – Лекции по биохимия**). Протича в митохондриалния матрикс при аеробни условия. Главен източник на АТФ – отделя се водород от отделните метаболити, който се поема от НАД и ФАД и се подава към дихателните вериги – синтезира се АТФ. Главен катаболитен път за разграждане на въглехидрати, мазнини и белтъци. Цикълът на Кребс е тясно свързан и с анаболитните процеси – от негови метаболити започват важни синтетични пътища.



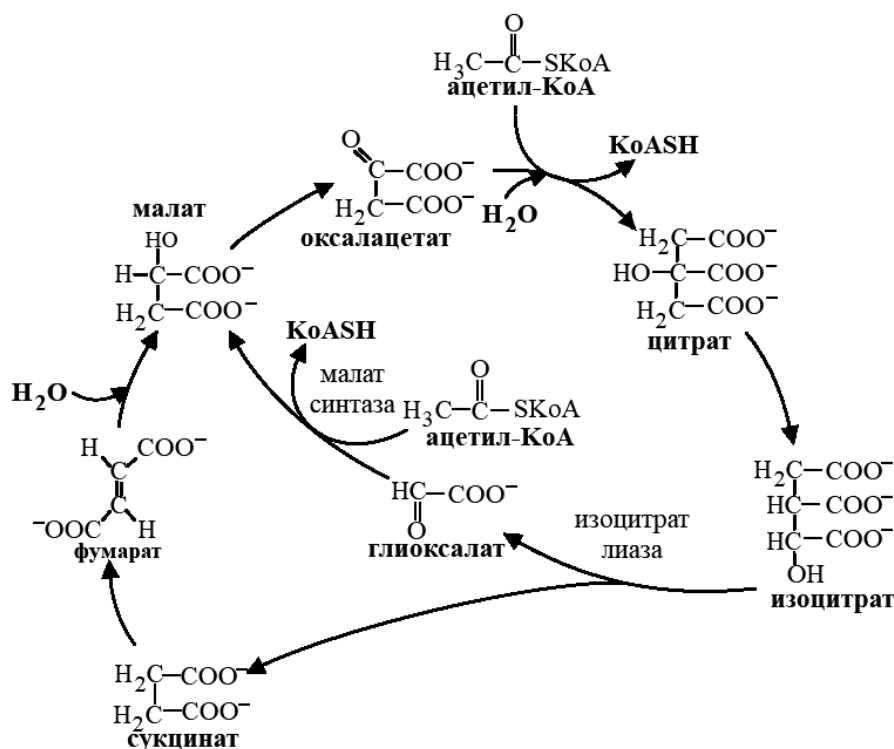
Фиг. 5. Реакции на цитратен цикъл. 1 – Кондензация на оксалацетат и ацетил-КоА до цитрат; 2 – превръщане на цитрат в изоцитрат; 3 – окислително декарбоксилиране на изоцитрат (като β-хидроксикиселина) до α-кетоглутарат; 4 – окислително декарбоксилиране на α-кетоглутарат (като α-кетокиселина) до сукцинил-КоА; 5 – енергията на тиоестерната макроергична връзка на сукцинил-КоА се пренася върху АДФ и се получава сукцинат и АТФ на субстратно ниво; 6 – Дехидрогениране на сукцинат до фумарат; 7 – хидратиране на фумарат до малат; 8 – дехидрогениране на малат до оксалацетат.

Енергиен добив от цитратния цикъл. От разграждането на 1 молекула ацетил-КоА в цикъла на Кребс се получават 12 молекули АТФ. От 1 молекула глюкоза се получават 2 молекули ацетил-КоА, от които се синтезират 24 молекули АТФ в комбинацията цикъл на Кребс + дишателни вериги.

Енергиен добив при анаеробно и аеробно разграждане на 1 молекула глюкоза до CO_2 и H_2O : гликолиза (2 молекули АТФ) + совалкови механизми за пренос на редуциращи еквиваленти (6/4 молекули АТФ) + окислително декарбоксилиране на пируват до ацетил-КоА (6 молекули АТФ) + цикъл на Кребс (24 молекули АТФ) = 38/36 молекули АТФ.

1.3. Глиоксалатен цикъл

Представлява скъсен вариант на цикъла на Кребс. Характерен за някои микроорганизми и растения. При еукариотните организми е локализиран в специализирани цитоплазмени органели – глиоксисоми. От включени в цикъла 2 молекули ацетил-КоА се синтезира оксалацетат или негов предшественик от цитратния цикъл – малат, фумарат или сукцинат. Не се отделя CO_2 (не се разгражда органично съединение), но има окислителни стъпала – печели се енергия (макар и по-малко). Има синтетично значение – получения оксалацетат респ. малат да се използват за синтез на въглехидрати; да се синтезират аминокиселини. Използва се от микроорганизми и прорастващи растения за превръщане на мазнини във въглехидрати и в аминокиселини (белтъци) (Фиг. 6. Г. Косева – Лекции по биохимия).



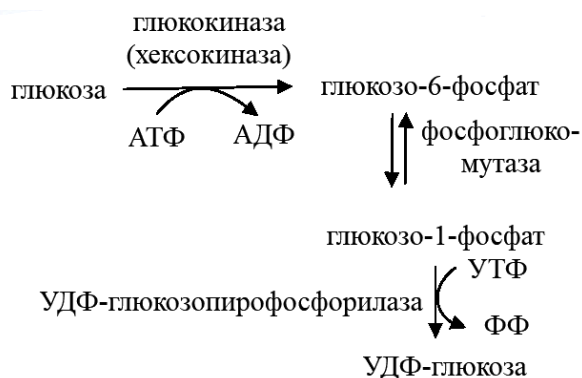
Фиг. 6. Глиоксалатен цикъл

2. Биосинтез на олиго- и полизахариди

Олигозахаридите са най-често междинен продукт от разграждането и/или биосинтезата на полизахаридите. Под действие на α -амилаза, вътрешните α -1,4-гликозидни връзки в хомополизахаридите скорбяла и гликоген биват хидролизирани до получаване на смес от малтоолигозахариди с разклонена структура. Под действие на α -1,6-глюкозидаза, биват хидролизирани α -1,6-разклоненията в скорбялата и гликогена.

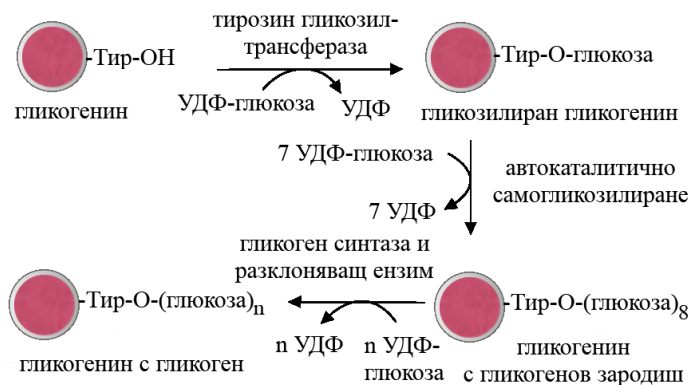
2.1. Биосинтез на гликоген.

Синтезата на гликоген започва с активиране на глюкозата до УДФ-глюкоза. Хексокиназа в мускулите и глюкокиназа в черния дроб фосфорилират глюкозата до глюкозо-6-фосфат (Фиг. 7. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



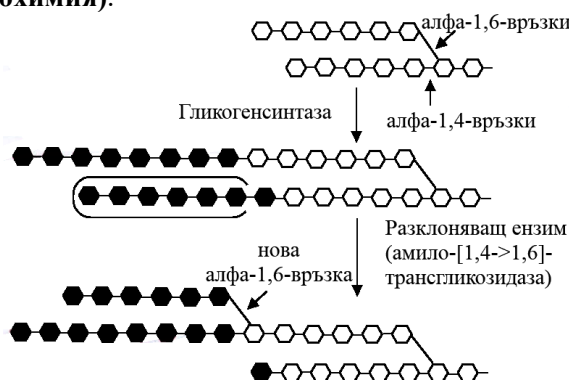
Фиг. 7. Активиране на глюкоза до УДФ-глюкоза при синтезата на гликоген.

За синтезата на гликоген е нужен зародиш от поне 7 глюкозни остатъка, свързани с α -1,4-гликозидни връзки. Той се образува с участието на ензимите тирозин гликозилтрансфераза и гликогенин (автогликозилиращ се ензим) (Фиг. 8. Г. Косекова, Лекции по биохимия).



Фиг. 8. Образуване на глицогенов зародиш (праймер), с участието на тирозин гликозилтрансфераза и глицогенин.

Полученият къс фрагмент е зародишът, необходим за действие на глицоген синтазата. Тя удължава веригата, добавяйки един по един глюкозни остатъци от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, образувайки α -1,4-гликозидни връзки (**Фиг. 9. Г. Косекова – Лекции по биохимия**).

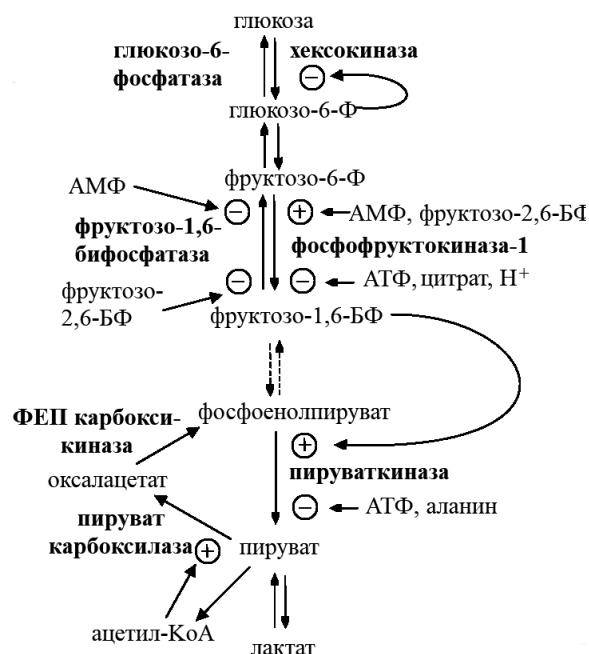


Фиг. 9. Действие на глицоген синтаза за удължаване на веригата и на амило-(1,4->1,6)-трансглицозидаза за разклоняване на веригата. Синтазата прехвърля глюкозни остатъци (един по един) от УДФ-глюкоза към нередуциращия край на веригата, а разклоняващият ензим прехвърля фрагмент от 7 остатъка от главната верига към -ОН група на 6-о място в глюкозен остатък от същата или друга верига.

3. Регулация на въглехидратния метаболизъм

3.1. Регулация на гликолиза и глюконеогенеза

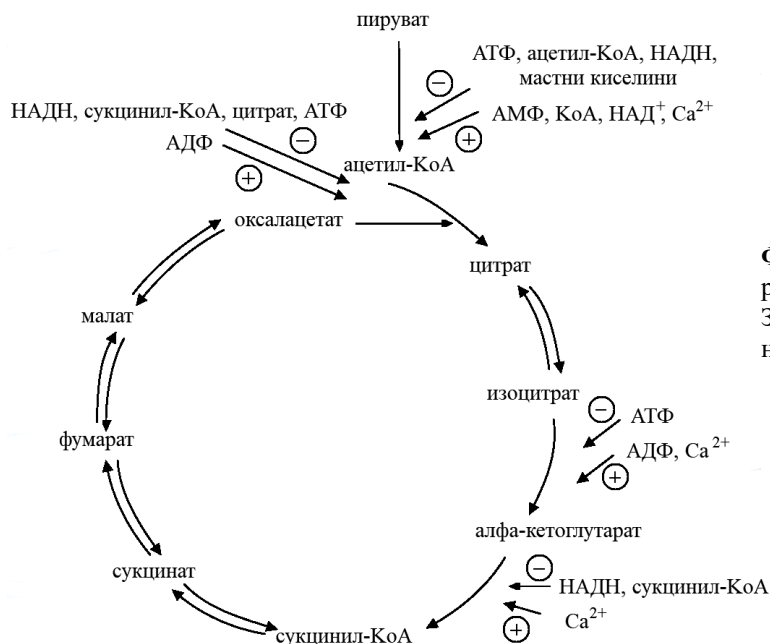
Гликолизата и глюконеогенезата не протичат едновременно, а се регулират реципрочно, в зависимост от нуждите на организма. Регулаторни ензими за глюконеогенеза са: пируват карбоксилаза, ФЕП карбоксикиназа, фруктозо-1,6-бифосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза (**Фиг. 10, Г. Косекова – Лекции по биохимия**). Катализираните реакции са екзергонични и необратими. Най-важният регулаторен ензим при глюконеогенезата е фруктозо-1,6-бифосфатазата – инхибира се алостерично от фруктозо-2,6-бифосфат, който активира фосфофруктокиназа-1 от гликолизата. Балансът между гликолиза и глюконеогенезата е под хормонален контрол. В черния дроб, при ниско ниво на глюкоза, глюкагонът стимулира образуване на АМФ, който активира протеин киназа А да фосфорилира фосфофруктокиназа-2 (инактивиране) и фруктозо-2,6-бифосфатаза (активиране). Това инактивира фосфофруктокиназа-1 и активира фруктозо-1,6-бифосфатаза. Това измества равновесието в полза на глюконеогенезата. Високо ниво на глюкоза намалява концентрацията на цАМФ, увеличава концентрацията на фруктозо-2,6-бифосфат и това стимулира гликолизата.



Фиг. 10. Регулация на глюконеогенезата и гликолиза.

3.2. Регуляция на цикъла на Кребс

В цикъла на Кребс има 3 регулаторни ензима: цитрат синтаза, изоцитрат дехидрогеназа, α -кетоглутарат дехидрогеназен комплекс. Значение има и пируват дехидрогеназния комплекс (ПДХК), който доставя ацетил-КоА (Фиг. 11, Г. Косекова – Лекции по биохимия).

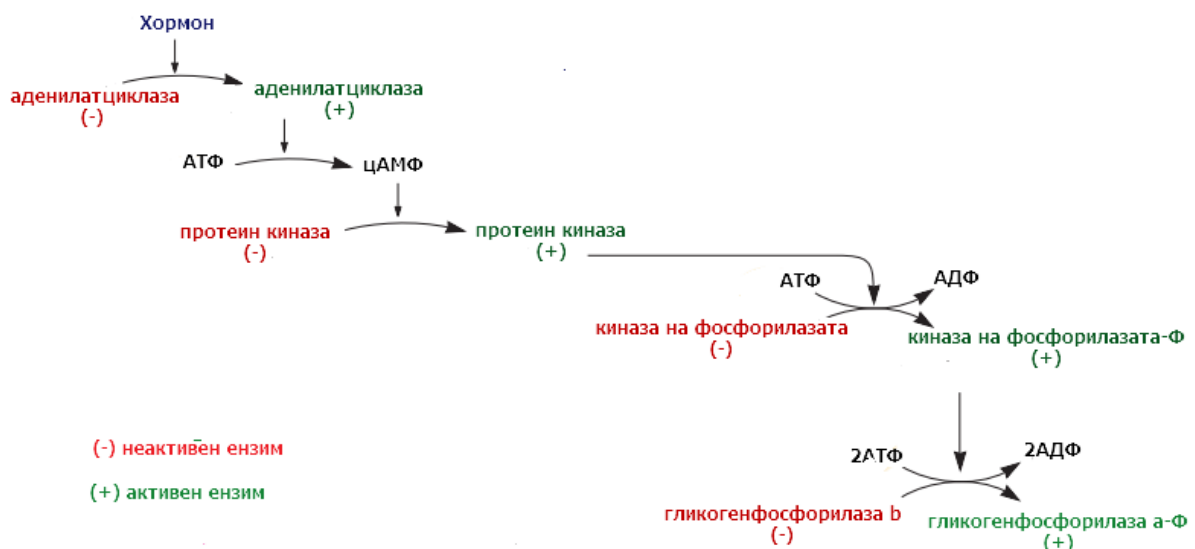


Фиг. 11. Регуляция на пируват дехидрогеназен комплекс и цитратен цикъл. Знакът плус показва активиране, а минусовият знак – инхибиране.

ПДХК се инхибира алостерично от висока концентрация АТФ, НАДН и ацетил-КоА – показател за наличие на енергия и субстрати. АМФ, КоА и НАД⁺ активират алостерично ПДХК. Интезитетът на цитратния цикъл намалява при недостиг на субстратите (оксалацетат и ацетил-КоА) или НАД⁺. Сукцинил-КоА, АТФ и цитрат са алостерични инхибитори на началните реакции на цикъла. Калциевите йони сигнализируют мускулно съкращение и стимулират окислителните реакции, доставящи енергия в използваем вид.

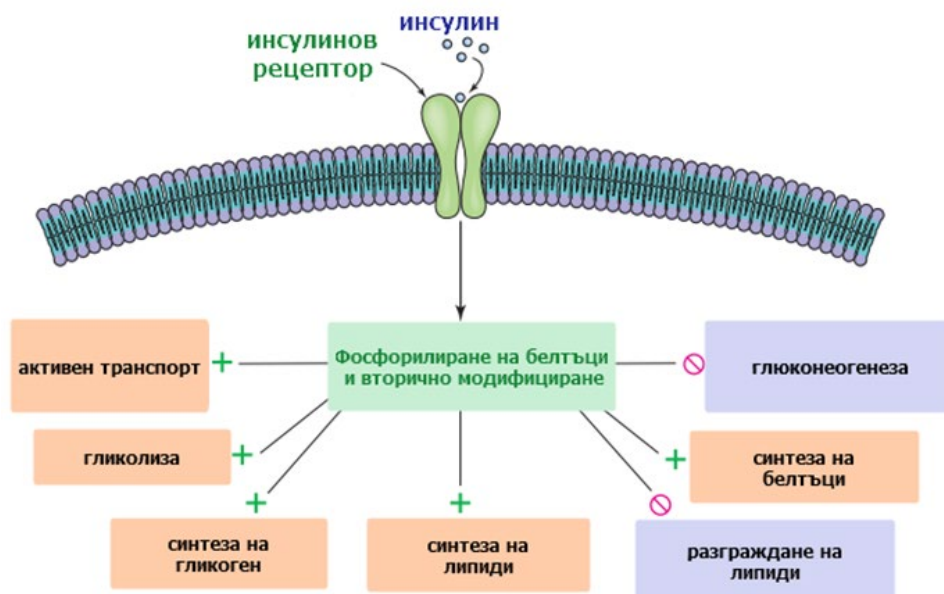
3.3. Регуляция на гликогеновия метаболизъм

Глюкагон и епинефрин (адреналин) стимулират разграждането на гликогена (гликогенолиза) – епинефрин активира гликогенолизата в черния дроб и в мускулите. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата, водеща до разграждането на гликогена (Фиг. 12, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 12. Хормон-активирана ензимна каскада активира гликоген фосфорилазата.

Инсулинът стимулира синтеза на гликоген, чрез активиране на фосфопротеин фосфатаза, която дефосфорилира гликоген синтаза b (неактивна) и я превръща в активна форма (гликоген синтаза a) (Фиг. 14, Garrett & Grisham, 6th ed.).



Фиг. 13. Ефекти на инсулина върху гликогеновия метаболизъм и ковалентното модифициране на регулаторни ензими.

Нуклеиновите киселини представляват фундаментални биополимери, които съхраняват, предават и експресират генетичната информация във всички живи организми.

Дезоксирибонуклеиновата киселина (ДНК) съдържа генетичната информация, необходима за развитието, функционирането и възпроизводството на всички познати живи организми и множество вируси. ДНК кодира наследствените характеристики чрез последователността на своите нуклеотиди. **Рибонуклеиновата киселина (РНК)** изпълнява ключова роля в процесите на пренос на информацията, записана в ДНК, към клетъчните механизми, отговарящи за производството на протеини.

От историческа гледна точка, през втората половина на XIX век Фридрих Мишер първи изолира вещество от клетъчни ядра, което по-късно наречено нуклеинова киселина. Независимо от това, Грегор Мендел формулира концепцията за „фактори“, по-късно наречени гени, които определят унаследяването на биологични признаци. Научният пробив настъпва през 1944 г., когато експерименталните изследвания на Освалд Ейвъри и сътрудници установяват, че ДНК е материалът, носещ генетичната информация. Тези резултати са последвани през 1953 г. от откритието на Джеймс Уотсън и Френсис Крик за триизмерната структура на ДНК като двойна спирала.

1. Първична структура на нуклеиновите киселини

Нуклеиновите киселини са полимери, съставени от повтарящи се структурни единици - **нуклеотиди**, които образуват полинуклеотидна верига. Първичната структура както на ДНК, така и на РНК, представлява линейната последователност от нуклеотидите, свързани чрез фосфодиестерни връзки, придаващи специфична насоченост от 5'-края до 3'-края. Точната последователност на азотните бази в тази верига кодира генетичната информация, необходима за биологичните функции.

• Състав на нуклеотидите – Фигура 1.

Всеки нуклеотид е изграден от три ковалентно свързани компонента:

- **Азотна база:** хетероциклично органично съединение, съдържащо азотни атоми.
- **Пентоза (захар):** монозахарид с пет въглеродни атома, който е дезоксирибоза (липсва OH група на C2') при ДНК и рибоза (има OH група на C2') при РНК.
- **Фосфатна група:** производна на фосфорната киселина, която придава киселинните свойства на нуклеотида и участва в образуването на фосфодиестерната връзка между нуклеотидите.

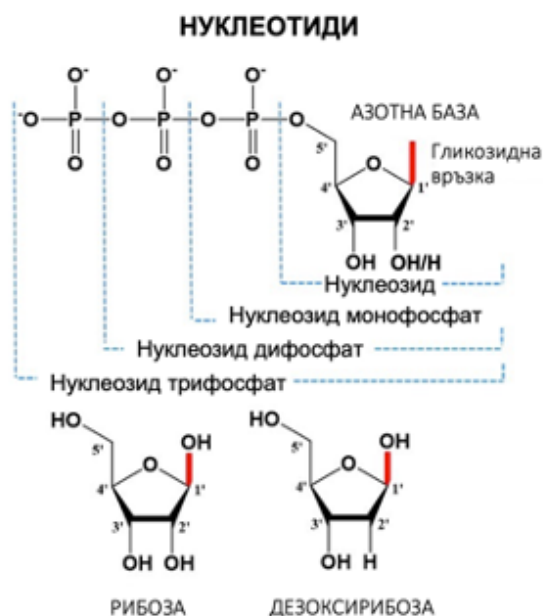
• Азотни бази

Азотните бази се класифицират в два основни класа:

- **Пурини** (двупръстенни): Аденин (А) и Гуанин (G).
- **Пиримидини** (еднопръстенни): Цитозин (C), Тимин (T) – присъства само в ДНК, и Урацил (U) – присъства само в РНК.

• Полинуклеотидна верига

Нуклеотидите се свързват чрез специални химични връзки, наречени **фосфодиестерни връзки**. Тези връзки се образуват между 3'-хидроксилната група на пентозата в единия нуклео-



Фигура 1. Схематично представяне на структурата на нуклеотида

тид и 5'-фосфатната група на следващия. Тази връзка създава непрекъсната верига, която образува захарно-фосфатния „скелет“ на нуклеиновата киселина.

Всяка полинуклеотидна верига има **посока** (или полярност), определена от краищата: единият край има свободна фосфатна група (5' края), а другият има свободна хидроксилна група (3' края). Тази насоченост е критична, защото клетъчните ензими, които копират или четат генетична информация, правят това в посока от 5'-края към 3'-края, осигурявайки правилен синтез и функция.

Фосфатните групи носят отрицателен заряд при физиологично рН, което прави цялата молекула нуклеинова киселина **отрицателно заредена**. Това свойство улеснява взаимодействията с положително заредени молекули, като протеини, което помага за организирането и регулирането на ДНК и РНК вътре в клетките.

2. Вторична структура на нуклеиновите киселини

2.1. Вторична структура на ДНК

ДНК обикновено съществува под формата на **двойна спирала** – модел, предложен от Джеймс Уотсън и Франсис Крик през 1953 г. въз основа на експериментални данни, който описва молекулата като съставена от две комплементарни и антипаралелни полинуклеотидни вериги. Този модел разкрива пространствената организация на ДНК и обяснява молекулния механизъм на нейното точно удвояване и предаване на генетичната информация, за което Уотсън и Крик, заедно с Морис Уилкинс, са удостоени с Нобелова награда за физиология или медицина през 1962 г.

Основни характеристики на двойната спирала на ДНК

- **Комплементарност на двете вериги:** В двойната спирала на ДНК двете вериги се свързват чрез **водородни връзки между азотните бази**. Обикновено G се свързва най-стабилно с C – чрез три водородни връзки, докато A се свързва най-стабилно с T – чрез две водородни връзки. Свързването на двете съответни азотни бази чрез водородни връзки се описва като образуване на базова двойка или базово сдвояване, а базите се означават като комплементарни (от англ. complementary – допълващи се), т.е. в ДНК молекулата се образуват **комплементарните двойки** А-Т и G-C, наричани още двойки на Уотсън и Крик.
- **Антипаралелност на двете вериги:** Двете комплементарни вериги имат противоположна полярност – гледайки в една посока по протежение на спиралата, една та верига върви в посока 5'-3', а нейната комплементарна верига върви в посока 3'-5'.
- **Правило на Чаргаф:** в двуверижната ДНК количеството на аденина е равно на количеството на тимина, а количеството на гуанина е равно на количеството на цитозина (A = T и G = C), което отразява комплементарното базово сдвояване и е ключово за разкриването на структурата на двойната спирала.
- **Стабилност:** Двойната спирала се стабилизира от: множеството водородни връзки и стекинг взаимодействия (хидрофобни сили) между съседните базови двойки, които се нареждат успоредно във вътрешността на спиралата.
- **Конформационни форми**
 - **В-форма:** най-често срещаната форма, присъстваща в повечето ДНК молекули при неутрално рН и физиологична солева концентрация; това е класическата, дясно-въртяща двойно-спирална структура, описана от Уотсън и Крик.
 - **А-ДНК:** По-къса и по-широка спирала в сравнение с В-формата. Образува се при пониска влажност и е типична за двуверижна РНК и ДНК-РНК хибриди.
 - **Z-ДНК:** Ляво-въртяща спирала с характерна зигзагообразна конфигурация. Образува се в участъци, богати на редуващи се G-C базови двойки. Смята се, че участва в регулацията на генната експресия и в процесите на суперспирализиране.

При прокариоти, ДНК не е отделена в мембранно ограничено ядро, а се намира в специализирана област на цитоплазмата, наречена нуклеоид. Обикновено прокариотният геном е представен от една кръгова двуверижна ДНК молекула, която е силно компактизирана. Пакетирането на ДНК се осъществява чрез свръхспирализация и взаимодействие с различни ДНК-свързващи протеини, които стабилизират структурата и участват в регулацията на генната експресия. Въпреки липсата на класически хистони, тези механизми позволяват ефективно уплътняване и функционална организация на генетичния материал. При някои археи се срещат хистоноподобни протеини, което представлява еволюционен преход към еукариотния тип организация.

При еукариоти, пакетирането на ДНК се осъществява в ядрото и включва сложна йерархия от структурни нива, осигурени от взаимодействието на ДНК с хистонови и нехистонови протеини. Комплексът от ДНК и свързаните с нея протеини се нарича **хроматин**, който играе ключова роля както в структурната организация, така и в регулацията на генната активност. ДНК се навива около хистонов октамер, образувайки **нуклеозом** – основната структурна единица на хроматина. Въпреки че ДНК в интерфазните хромозоми е приблизително 20 пъти по-малко кондензирана в сравнение с митотичните хромозоми, тя остава силно уплътнена. Хроматинът осигурява компактното и организирано подреждане на ДНК в ядрото и едновременно с това регулира достъпа до генетичната информация, като контролира процесите на транскрипция, репликация и ДНК-репарация.

2.2. Вторична структура на РНК

За разлика от ДНК, **РНК е предимно едноверижна молекула**. Въпреки това, нейната функционалност изисква тя да придобие специфична вторична и третична структура чрез вътрешномолекулно сдвояване на комплементарни участъци. Всяка РНК има уникална вторична структура, определена от нейната първична структура и съдържа различни структурни мотиви, най-често срещаните от които са: стъбло, стъбло-бримка (фуркета), вътрешна бримка, изпъкналост, псевдовъзел.

3. Денатурация, ренатурация и хибридизация

Термодинамичните свойства на нуклеиновите киселини се определят главно от взаимодействията, които стабилизират тяхната вторична структура – двойната спирала при ДНК и вътрешномолекулните сдвоявания при РНК.

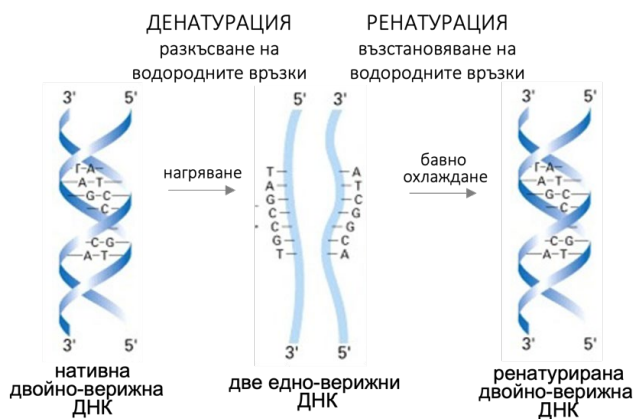
Денатурацията ДНК (или топене) е процес, при който двойноверижна нуклеинова киселина (обикновено ДНК) се разделя на две отделни едноверижни молекули чрез разрушаване на водородните връзки и стекинг взаимодействията, без да се засяга ковалентната фосфодиестерна връзка (т.е., първичната структура остава непокътната) – *Фигура 2*.

- Денатуриращи фактори:
 - *Температура*: най-често срещаният метод, водещ до термична денатурация.
 - *Промените в рН*: екстремно високо или ниско рН може да протонира или депротонира азотните бази, нарушавайки възможността им за комплементарно свързване.
 - *Химични агенти*: уреята и формамидът са силни денатуриращи фактори, които нарушават водородните връзки.

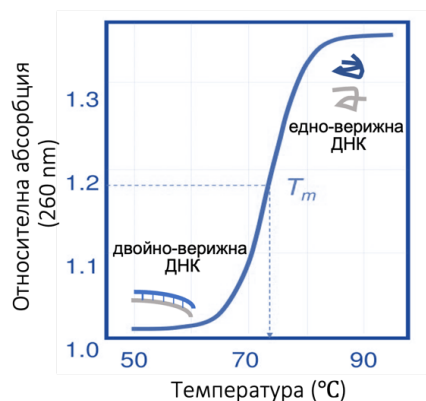
Процесът на температурно-индуцирана денатурация на ДНК, е обратим при контролирани условия на рН и йонна сила. Ако температурата бавно се понижи в разтвора, където ДНК е била денатурирана, ДНК веригите спонтанно комплементират и оригиналната двойно-спирална структура се възстановява – **ренатурация на ДНК**.

- Крива на топене и точка на топене – *Фигура 3*.

Процесите на денатурация и ренатурация могат да бъдат проследени спектрофотометрично. Хиперхромният и хипохромният ефект описват промените в абсорбцията на ДНК при 260 nm, свързани с взаимодействията между двете вериги.



Фигура 2. Денатурация (топене) и ренатурация на ДНК.



Фигура 3. Крива на топене на ДНК. T_m – температура на топене

Хиперхромният ефект се наблюдава, когато двойно-верижната ДНК се денатурира до единични вериги, като азотните бази се излагат на разтвора и абсорбцията на UV светлина се увеличава. Обратно, **хипохромният ефект** настъпва, когато единичните вериги се свържат комплементарно и образуват двойно-верижна ДНК, при което базите се подреждат и образуват водородни връзки, намалявайки способността им да абсорбират UV светлина.

- *Крива на топене*: При постепенно повишаване на температурата, абсорбцията на светлина се увеличава рязко, когато веригите започнат да се разделят. Графиката, описваща тази промяна, е сигмоидна (S-образна).
- *Температура на топене (Tm)*: Това е температурата, при която точно половината от двойноверижните молекули в разтвора са преминали в едновержно състояние. Tm е директен показател за термодинамичната стабилност на дадена ДНК последователност.
- **Фактори, влияещи на Tm**:
 - *Съдържание на G-C*: Tm се повишава линейно с увеличаване на процента G-C двойки в ДНК. Тъй като G-C двойката има три водородни връзки, а A-T двойката – две, последователностите, богати на G-C, изискват повече енергия (по-висока температура) за денатурация.
 - *Дължина на веригата*: по-дългите ДНК молекули са по-стабилни и имат по-висока Tm.
 - *Йонна сила* (концентрация на соли): Йони като Na^+ , K^+ и Mg^{2+} стабилизират двойната спирала. Тези положителни йони неутрализират отрицателните заряди на фосфатния скелет, намалявайки електростатичното отблъскване между двете вериги. С увеличаване на йонната сила, Tm се повишава.

За разлика от ДНК, РНК обикновено е едновержна и се нагъва в сложни вторични и третични структури, стабилизирани от вътремолекулно базово сдвояване, подреждане на базите и взаимодействия с йони като Mg^{2+} .

Денатурацията на РНК настъпва, когато топлина, екстремно рН или химични агенти разрушават водородните връзки и взаимодействията на подреждане на базите, което води до загуба на вторичната и третичната структура и преминаване на РНК в по-разгъната, неподредена конформация. Този процес обикновено не включва разделяне на вериги, тъй като РНК е предимно едновержна, а по-скоро разгъване на фуркетни структури. Денатурацията е съпроводена от повишаване на UV абсорбцията при 260 nm, подобно на хиперхромния ефект при ДНК, поради по-голямото излагане на базите.

Ренатурацията на РНК (повторното нагъване) на РНК настъпва при възстановяване на подходящи условия, като РНК отново формира вторични и третични структури чрез вътремолекулно базово сдвояване, често бързо и спонтанно. Ренатурацията силно зависи от температурата, концентрацията на йони (особено Mg^{2+}) и нуклеотидната последователност. При повторното подреждане на базите и възстановяване на водородните връзки UV абсорбцията намалява, което отразява хипохромн ефект.

Като цяло, денатурацията и ренатурацията на РНК са от съществено значение за функцията на РНК, тъй като много РНК молекули – като рРНК, тРНК и регулаторни РНК -зависят от правилното нагъване, за да проявяват биологичната си активност.

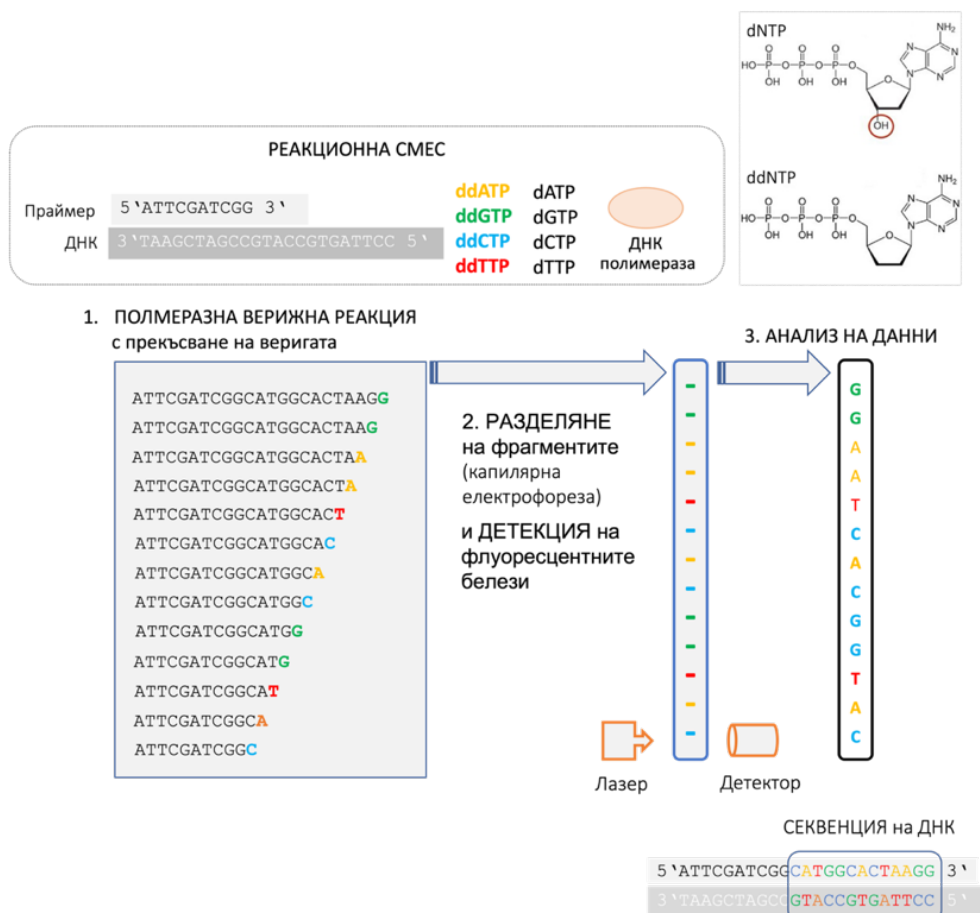
Хибридизацията на нуклеинови киселини е процесът, чрез който две комплементарни вериги нуклеинови киселини (ДНК или РНК), които могат да произхождат от различни източници (например от различни молекули, организми или дори синтетични последователности), образуват двойноверижна структура чрез комплементиране на техните нуклеотидни бази.

Технологии: Принципът на хибридизация е в основата на множество ключови методи в молекулярната биология:

- *PCR (Полимеразна верижна реакция)*: Свързването на праймерите към ДНК матрицата е процес на хибридизация.
- *Блотинг техники (Southern и Northern Blotting)*: Идентифициране на специфични ДНК или РНК последователности чрез хибридизация с комплементарна сонда.
- *ДНК микрочипове*: Използват мащабна хибридизация за едновременно проследяване на хиляди гени.
- *Секвениране на ДНК*: Секвенирането на ДНК е лабораторен метод за определяне на последователността от нуклеотиди (A, T, G, C) в една ДНК молекула.

4. Секвениране по Сангър (Sanger)

Секвенирането на ДНК е процесът на определяне на точния ред на нуклеотидите –А, Т, Ц и Г– в една ДНК молекула или неин фрагмент. Един от първите и най-важни методи, наречен дидезокси метод или метод на Сангър, е разработен от Фредерик Сенгър (Фигура 4):



Фигура 4. Секвениране на ДНК по метода на Фредерик Сангър

- **Принцип:** Този метод използва специални градивни елементи, наречени дидеоксинуклеотиди (ddNTP). За разлика от обикновените деоксинуклеотиди (dNTPs), дидеоксинуклеотидите нямат ключова химическа група (3'-ОН), затова когато една се вгради в растящата ДНК верига, синтезът спира точно там – повече нуклеотиди не могат да се прикрепят.
- **Процес:** В реакционната смес има както деоксинуклеотиди, така и дидеоксинуклеотиди. Деоксинуклеотидите позволяват на ДНК да продължи да расте и да се усилва, докато дидеоксинуклеотидите се вграждат случайно, създавайки смес от ДНК фрагменти с различни дължини. ДНК полимеразата удължава праймера по матричната верига. Случайното включване на дидеоксинуклеотидите прекъсва синтеза на специфични позиции, създавайки смес от фрагменти с различна дължина.
- **Маркиране:** Първоначално дидеоксинуклеотиди са били радиоактивно маркирани. Съвременните методи използват флуоресцентни маркери, което позволява по-безопасно боравене и автоматизирано откриване.
- **Разделяне:** Фрагментите се разделят чрез гел електрофореза (или капилярна електрофореза в автоматизирани системи).
- **Четене на последователността:** Маркираният краен нуклеотид на всеки фрагмент показва коя база се намира на съответната позиция в секвенираната ДНК молекула. Подреждането на фрагментите по дължина позволява възстановяване на цялата ДНК последователност.

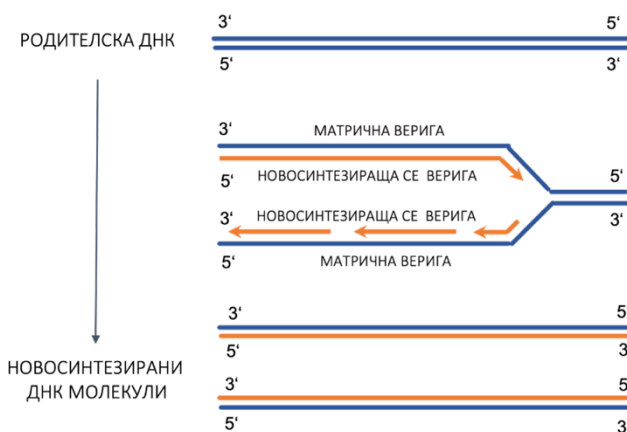
Репликацията на ДНК е процес на самовъзпроизвеждане на ДНК, при който в клетката се образуват две идентични копия на една ДНК молекула преди клетъчното делене, като гарантира, че всяка дъщерна клетка получава точно копие на генетичния материал. Този процес е от съществено значение за растежа, възстановяването и възпроизводството на живите организми.

1. Полуконсервативен механизъм

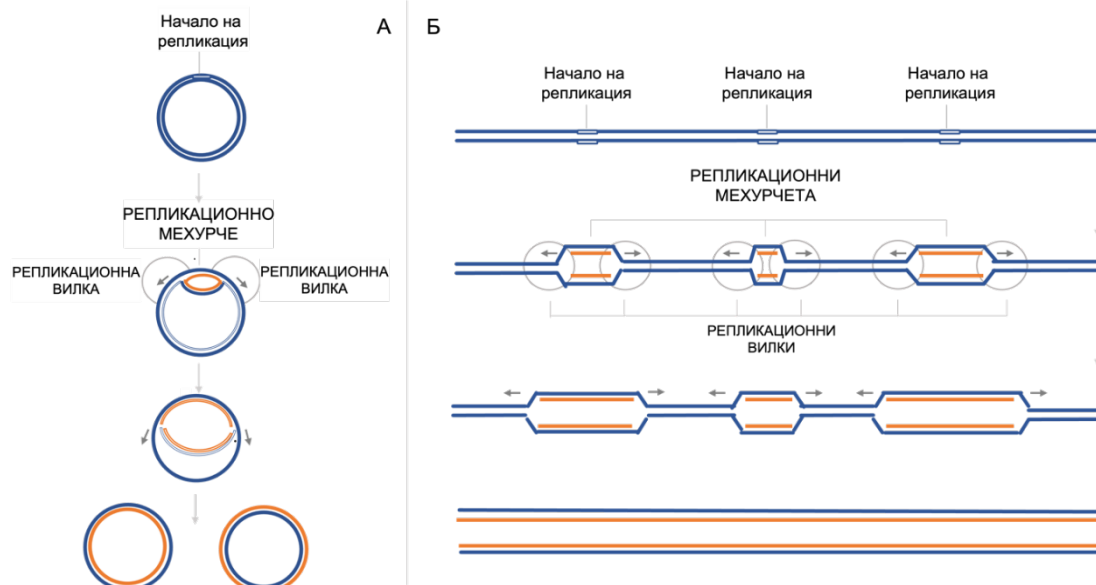
Репликацията на ДНК се извършва чрез **полуконсервативен механизъм**, при който всяка от двете вериги на двойната спирала на родителската ДНК молекула служи като матрица (шаблон) за синтеза на нова дъщерна ДНК верига (Фигура 1). В резултат на това се образуват две напълно идентични дъщерни ДНК молекули – всяка молекула съдържа една родителска верига и една дъщерна новосинтезирана верига.

2. Репликон

Репликонът е област на ДНК, в която се извършва един акт на репликация. Основен регулаторен елемент на репликацията е уникална секвенция наречена **начало на репликация**, в която се инициира самия процес. Бактериалната хромозома съдържа едно начало на репликация и следователно цялата бактериална хромозома представлява един репликон (Фигура 2). Хромозомите на археи и еукариоти могат да имат множество начала на репликация и така техните хромозоми могат да се състоят от множество репликони.



Фигура 1. Полуконсервативен механизъм на репликация



Фигура 2. Репликон. А. Бактериалната хромозома има едно начало на репликация и един репликон (тита-модел на репликация). Б. Еукариотните хромозоми имат множество начала на репликация и репликони.

В сравнение с прокариоти, еукариотните репликони са по-къси и скоростта на репликация е много по-бавна. Не всички репликони започват репликация по едно и също време, но иницирането на репликация в различни репликони се извършва по регулиран начин през S фазата на клетъчния цикъл. Точката, в която веригите на родителската ДНК се разделят локално и се извършва репликация (добавят се нови нуклеотиди), се нарича **репликационна вилка**.

Репликацията на ДНК може да бъде **еднопосочна или двупосочна**, в зависимост от това дали репликацията продължава от началото на репликация само в една посока или в двете посоки. При двупосочната репликация се формират две репликационни вилки, които се движат в противоположна посока. По този начин се извършва репликацията в бактериалните и еукариотните репликони. При еднопосочната репликация се формира една репликационна вилка, която се движи еднопосочно. Пример за еднопосочна репликация е тази на митохондриалната ДНК (мтДНК) при гръбначни животни, където две трети от митохондриалната ДНК се реплицира еднопосочно.

3. ДНК полимерази

ДНК-зависимите ДНК-полимерази са мултисубединични ензими, които катализират синтеза на нова ДНК, използвайки съществуваща ДНК верига като матрица. Всички ДНК-полимерази използват четирите дезоксирибонуклеозидтрифосфата – дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ като субстрати и вграждат дезоксирибонуклеозидмонофосфати – дАМФ, дГМФ, дЦМФ и дТМФ в нарастващата ДНК верига. Синтезът изисква едноверижна ДНК матрица, която определя последователността на новосинтезираната верига съгласно правилото за комплементарност на базите (А–Т и Г–С).

ДНК синтезът се извършва чрез удължаване на 3'-края на новосинтезиращата се веригата. Синтезът на ДНК се извършва в посока от 5'-края към 3'-края чрез присъединяване на дНМФ към 3'-края на новосинтезиращата се веригата. 3'-ОН групата на растящата верига действа като нуклеофил, който атакува α -фосфата на входящия дНТФ, което води до образуването на фосфодиестерна връзка и освобождаването на пирофосфат – **5'-3' синтетична активност**.

ДНК-полимеразите не могат да иницирират синтеза *de novo*, а удължават предварително съществуващ **РНК праймер**, който осигурява свободна 3'-хидроксилна (3'-ОН) група. Каталитичният механизъм на ДНК-полимеразата се изразява в образуване на фосфодиестерна връзка между 3'-ОН групата на последния нуклеотид от растящата верига и α -фосфатната група на постъпващия дНТР. 3'-ОН групата действа като нуклеофил и атакува α -фосфата, при което се освобождава пирофосфат. В резултат удължаването на ДНК става единствено в 3'-края на веригата и синтезът протича в посока 5'→3'.

Много ДНК-полимерази притежават и 3'→5' екзонуклеазна коригираща активност, чрез която отстраняват неправилно вградените нуклеотиди. Тази активност повишава точността на репликацията и значително намалява честотата на грешки в новосинтезираната ДНК.

При бактериите са описани пет различни ДНК полимерази, всяка със специализирани функции. ДНК полимеразата III е основният ензим, отговорен за репликацията на хромозомата, осигурявайки висока процесивност и корекция на грешки, необходими за точната репликация на генома. ДНК полимеразата I основно премахва РНК праймерите и запълва получените празнини, докато останалите полимерази (II, IV и V) участват главно в поправка на ДНК и транслезионна синтеза, позволявайки на клетката да се справя с увреждания на ДНК.

При еукариотите ситуацията е по-сложна, като са идентифицирани поне 14 различни ДНК полимерази. Сред тях ДНК полимерази α , δ и ϵ са основни за репликацията на ядрена ДНК: полимеразата α започва репликацията чрез синтезиране на кратък РНК-ДНК праймер, полимеразата ДНК полимеразата δ и ДНК полимеразата ϵ участват в синтеза на новите вериги. Другите еукариотни полимерази са специализирани за поправка на ДНК, транслезионна синтеза, митохондриална репликация и рекомбинация, което подчертава разделението на функциите и специализацията, необходими за поддържането на стабилността на генома при по-големи и по-сложни организми.

4. Основни етапи на репликацията

4.1. Инициация

Включва разпознаване на репликационното начало от комплекс от протеини, разделяне на родителските вериги и стабилизирането им в едноверижно състояние, при което се създава репликационно мехурче.

При прокариоти, репликацията започва от едно начало на репликация (*oriC* при *E. coli*). Инициаторни протеини като DnaA се свързват с тази област и разплитат ДНК, образувайки репликационно мехурче. Хеликазата допълнително развива ДНК, създавайки репликационна вилка. Протеини, които стабилизират единичните вериги, защитават разплетената ДНК. Праймазата синтезира кратки РНК праймери, които служат за начало на синтеза на ДНК.

При еукариоти, репликацията започва на множество места (множество начала) по линейните хромооми, за да се ускори процесът. Иницирането е по-сложно и е свързано към клетъчния цикъл. Преди репликация хроматиновата структура се разопакова, за да може ензимите да имат достъп. Синтезът на ДНК веригите се стартира от комплекс на ДНК полимеразата α и праймазна субединица (Полимеразата α /Праймаза). Праймазната субединица синтезира РНК секвенция с дължина около 7 нт, към която ДНК полимеразата прибавя 20 – 25 нт, образувайки т. нар инициаторна ДНК (идНК). Инициаторната реакция е рискова тъй като ДНК полимеразата α не притежава редактираща активност за поправка на грешни нуклеотиди. РНК праймерът и по-голяма част от идНК се подменят на по-късен етап.

Основният **контрол на ДНК репликацията** се осъществява на етапа на инициация, когато началата на репликация се активират само веднъж за клетъчен цикъл.

В прокариотите ДНК метилирането играе важна роля в контрола на ДНК репликацията, като осигурява времева информация за новосинтезираната ДНК. След репликацията родителската ДНК верига остава метилирана, докато новосинтезираната дъщерна верига първоначално е неметилирана, което води до хемиметилирано състояние. Това хемиметилиране не е случайно, а служи като регулаторен сигнал в клетката. В началото на репликацията, например в *oriC* при *E. coli*, хемиметилираната ДНК се разпознава от специфични протеини, които временно блокират повторното инициране на репликацията. Това забавяне гарантира, че репликацията започва само веднъж за всеки клетъчен цикъл, като по този начин се предотвратява свръхрепликация на генома. С течение на времето ДНК-аденин метилтрансферазата (Dam) метилира новосинтезираната верига, възстановявайки пълното метилиране и позволявайки началото да стане компетентно за следващия кръг на репликация. По този начин ДНК метилирането действа като молекулярен времеви механизъм, който помага за координирането на ДНК репликацията с бактериалния клетъчен цикъл и за поддържането на геномната стабилност.

Контролът на ДНК репликацията при еукариотите гарантира, че всяка хромозома се копира само веднъж за всеки клетъчен цикъл. Репликацията започва от множество начала, които преминават през следните етапи:

- **Лицензиране:** Това се случва по време на G1 фазата, когато комплексът за разпознаване на началото на репликацията, Cdc6 и Cdt1 зареждат МСМ хеликазата върху ДНК. Тази стъпка на лицензиране е възможна само при ниска активност на циклин-зависимите кинази (CDK). В този момент началото е „лицензирано“, но неактивно – готово за репликация, но самото копиране на ДНК още не е започнало.
- **Активиране на началото:** Това се случва по време на S фазата, когато активността на CDK е висока. Високата CDK активност (заедно с DDK) активира лицензираната хеликаза МСМ, като привлича останалите компоненти на репликационния апарат, и започва действителният ДНК синтез.

Повторната репликация се предотвратява чрез CDK-зависимо инхибиране на факторите за лицензиране и чрез инхибитора геминин, който блокира повторното зареждане на МСМ комплекса. Допълнителен контрол се осъществява от контролни (checkpoint) пътища, които реагират на увреждания на ДНК или на репликационен стрес.

4.2. Удължаване

Удължаването на новосинтезиращата се ДНК се извършва от друг комплекс от протеини, означаван като – **реплизома**, основен компонент на който е **ДНК полимеразата**. При придвижването на реплизомата по протежение на ДНК, родителските вериги се развиват и дъщерните вериги се синтезират от ДНК полимеразата, която катализира добавянето на нуклеотиди към нарастващите ДНК вериги.

Тъй като родителските вериги са ориентирани в противоположни посоки, репликацията протича по различен начин за всяка от новосинтезираните вериги – едната верига се синтезира непрекъснато, а другата – на части (*Фигура 3*).

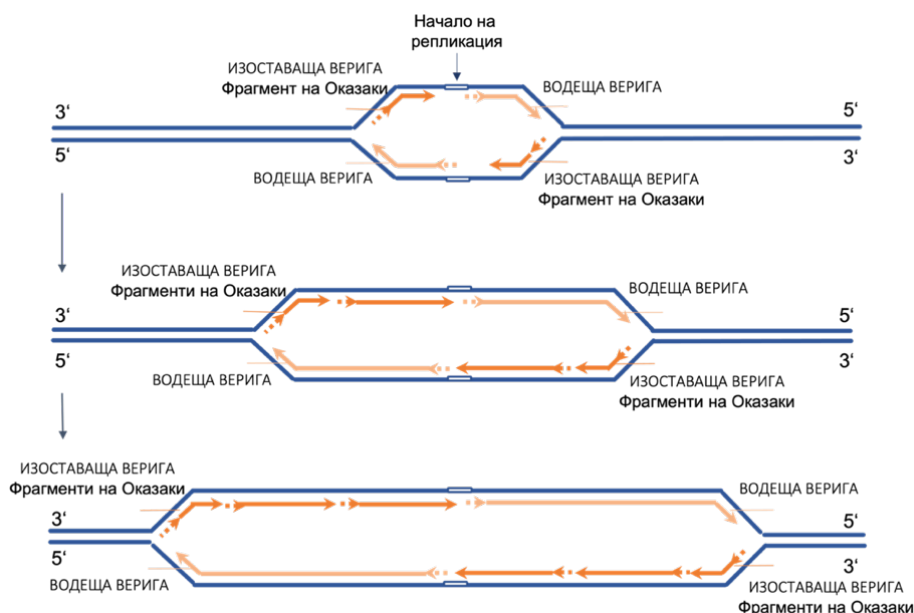
Водеща верига:

- тя се синтезира непрекъснато,
- образува се в същата посока, в която се отваря репликационната вилка,
- необходим е само един РНК праймер,
- ДНК полимеразата следва вилката а и добавя нуклеотиди без прекъсване.

Изооставаща верига:

- тя се синтезира на части (прекъснато).
- образува се в противоположна посока спрямо движението на репликационната вилка.
- необходими са много РНК праймери.
- ДНК се синтезира в къси участъци, наречени фрагменти на Оказаки.

Всеки фрагмент се синтезира в единствено възможната за ДНК полимеразата посока 5'→3'. Дължината на фрагментите е между 1000 – 2000 нт при прокариоти и 150 – 200 нт при еукариоти. При прокариоти, ДНК полимеразата III синтезира и двете вериги – водещата и изоставащата. При еукариоти, включват се няколко две ДНК полимеразы – ДНК полимеразата ϵ и ДНК полимеразата δ , които удължават съответно водещата и изоставащата верига. Оказаки фрагментите са по-къси, а хроматиновият контекст добавя допълнителна сложност.

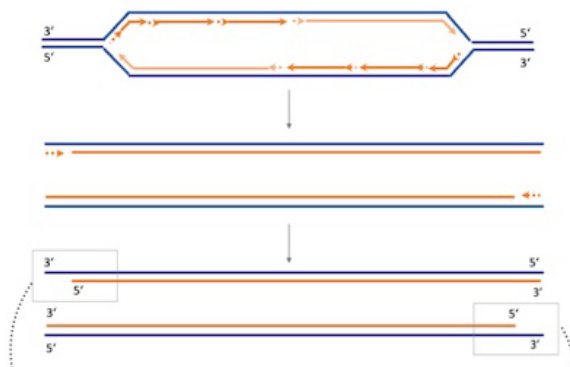


Фигура 3. Синтез на ДНК – непрекъснат и прекъснат синтез. Водещата верига се синтезира непрекъснато, а изоставащата верига се синтезира чрез фрагментите на Оказаки.

4.3. Приключване

При прокариоти, ДНК полимеразата I премахва РНК праймерите чрез своята 5'→3' екзонуклеазна активност, като едновременно разгражда праймера и го замества с ДНК нуклеотиди. ДНК лигаза след това запълва прекъсванията, завършвайки присъединяването на Оказаки фрагментите. Когато репликационни вилки се доближат, реплизомата се отделя и се финализира репликацията. При еукариоти, RNase H за премахва РНК праймерите, следва запълване на празнините от ДНК полимеразата δ и свързване на фрагментите от ДНК лигаза I.

При еукариоти, репликационните вилки се срещат и завършват в множество точки по хромозомите. Когато репликацион-



ната вилка се приближи до края на линейната хромозома възниква сериозен проблем: въпреки че водещата верига може да бъде реплицирана чак до края на хромозомата, изоставащата верига не може. Когато последният РНК праймер върху изоставащата верига се отстрани, няма начин той да бъде заменен.

Еукариотите могат да разрешат проблема, тъй като хромозомите завършват в двата края с теломери, съставени от повтарящи се нуклеотидни последователности. При човек, теломерите включват последователността 5'-TTAGGG-3', копията на която в някои човешки клетки могат да достигнат до 1500 – 2000 броя. Ключовият ензим, който предотвратява скъсяването на теломерите, е **теломеразата**. Теломеразите принадлежат към ензимния клас на обратните транскриптази, които създават едноверижна ДНК, използвайки едноверижна РНК като матрица. Ензимът носи къса молекула РНК, комплементарна на повтарящата се последователност в теломерите; тази РНК действа като матрица за синтеза на теломерна ДНК.

Транскрипцията е процес на пренос на генетичната информация от ДНК към РНК, който се извършва чрез синтез на РНК върху матрица ДНК. При прокариотите транскрипцията протича в цитоплазмата и може да се случва едновременно с транслацията. При еукариотите транскрипцията е в ядрото, а транслацията – в цитоплазмата, което пространствено и времево разделя двата процеса.

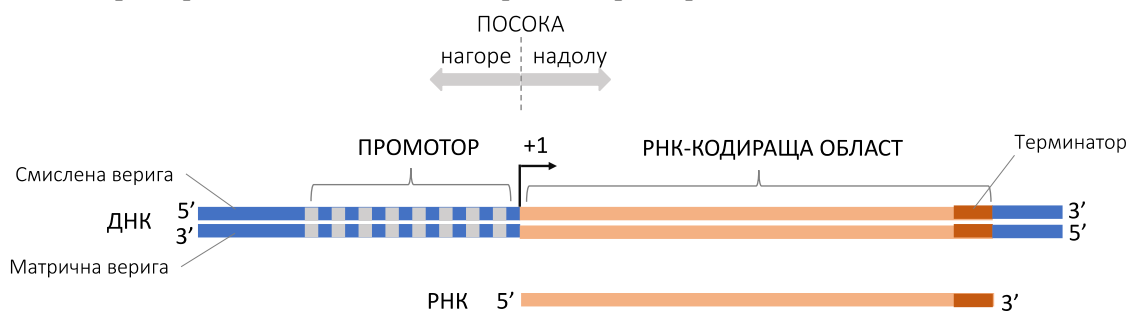
Процесът се катализира от ензима **ДНК-зависима РНК полимераза** (или само РНК полимераза). Ензимът се движи по едната верига на ДНК, която се нарича **матрична верига** и има 3'-5' поляритет, докато ДНК веригата с 5'-3' поляритет се нарича **смислена верига** (или кодираща). Новосинтезираната РНК е идентична със смислената ДНК верига с единствената разлика, че вместо тимин (Т) съдържа урацил (U).

1. Транскрипционна единица

Транскрипционната единица представлява участък от ДНК, който кодира една РНК молекула, заедно с всички последователности, необходими за осъществяване на нейната транскрипция. Тя включва три основни компонента: **регулаторна област (промотор)**, **РНК-кодираща област** и **терминатор** (Фигура 1).

Нуклеотидът в кодиращата верига на ДНК, от който РНК-полимеразата започва транскрипцията и който съответства на първия нуклеотид на транскрибираната РНК, се нарича **транскрипционно начало** и се означава с **+1**. В повечето случаи стартовият нуклеотид е пурин (най-често аденин).

Спрямо транскрипционното начало се дефинират посоките в транскрипционната единица: посоката, съвпадаща с движението на РНК-полимеразата, се означава като **надолу по веригата**, а противоположната – като **нагоре по веригата**. При повечето гени промоторът е разположен непосредствено нагоре от транскрипционното начало. Той не се транскрибира, но има ключова регулаторна функция, тъй като към него се свързват РНК-полимеразата и съответните транскрипционни фактори, което води до инициране на транскрипцията.



Фигура 1. Транскрипционна единица

При еукариотите транскрипционната единица обикновено обхваща един ген и води до синтез на **моносистронна РНК**, докато при прокариотите тя често включва няколко гена и продуцира **полицистронна РНК**.

2. РНК полимеразы

РНК-полимеразите са многосубединични ензими, които катализират синтеза на РНК, използвайки ДНК веригата като матрица. При бактериите една РНК-полимераза осъществява транскрипцията на всички видове РНК, докато при еукариотите съществуват три основни ядрени РНК-полимеразы. В растителната клетка се откриват още две РНК полимеразы. Транскрипцията в митохондриите и пластидите се извършва от специфични за органелите РНК полимеразы.

Всички РНК-полимеразы използват четирите рибонуклеозидтрифосфата (АТР, ГТР, СТР и УТР) като **субстрати** и вграждат рибонуклеозидмонофосфати (NMP) в нарастващата РНК верига. Транскрипцията изисква ДНК матрична верига, която определя последователността на РНК съгласно правилата за комплементарност на базите (А–U и G–C).

За разлика от ДНК-полимеразите, РНК-полимеразите **могат да иницирират синтеза *de novo*** и не изискват праймер. По време на инициацията и удължаването РНК-полимеразата локално развива двойната ДНК спирала, като образува транскрипционен балон с размер приблизително 12–14 базови двойки. Само едната ДНК верига служи като матрица, докато нематричната (кодираща) верига е изместена.

Каталитичният механизъм включва образуването на фосфодиестерна връзка между 3'-хидроксилната (3'-ОН) група на нарастващата РНК верига и α -фосфатната група на постъпващия рибонуклеозидтрифосфат. 3'-ОН групата действа като нуклеофил и атакува α -фосфата, при което се освобождава пирогосфат. В резултат синтезът на РНК протича изключително в посока 5'→3'.

РНК-полимеразите не притежават собствена 3'→5' екзонуклеазна коригираща активност, сравнима с тази на ДНК-полимеразите. Поради това транскрипцията е по-малко точна от ДНК репликацията.

2.1. Прокариотна РНК полимераза

Каталитичното ядро на бактериалната РНК полимераза (**кор-ензим**) съдържа четири основни субединици – $\alpha 2\beta\beta'$. Свързването на **σ -фактора** към кор-ензима образува **холоензима** ($\alpha 2\beta\beta'\sigma$), който се насочва специфично към промотора (Таблица 1).

Таблица 1. Субединици на прокариотната РНК полимераза

Субединица	Функция
α	необходим за сглобяване на ензима; взаимодействие с активиращи протеини
β	участва в каталитичната реакция, неспецифично свързване на ДНК
β'	участва в каталитичната реакция, неспецифично свързване на ДНК
ω	помощна функция при сглобяване на ензима
$\sigma 70$	специфично свързване към промотора

Кор-ензимът сам по себе си катализира полимеризацията, но се свързва с ДНК слабо и без да различава последователности. σ -факторът придава специфичност, осигурява стабилно свързване към промотора и локално разплитане на ДНК, така че транскрипцията да започне в началото на гена.

В бактериите съществуват **множество σ -фактори**, които насочват кор-ензима към различни групи гени. В *E. Coli*, $\sigma 70$ е основният σ -фактор в растящи клетки и контролира транскрипцията на повечето гени за основни клетъчни функции и метаболитни пътища.

2.2. Еукариотни РНК полимераз

- **РНК полимераза I** транскрибира гените на рибозомната РНК (28S, 5.8S и 18S рРНК), с изключение на гена на 5S рРНК. 18S, 5.8S и 28S рРНК обикновено са кодирани в една транскрипционна единица). Тази единица се транскрибира от РНК полимераза I и произвежда предшественик на рРНК, която впоследствие се обработва в тези три вида рРНК. Синтезът на рРНК се извършва в ядрцето, което е специализирана област в ядрото на еукариотните клетки. Ядрцето служи като място за транскрипция на рРНК и участва в обработката и сглобяването на рибозомни субединици.
- **РНК полимераза II** транскрибира всички протеин-кодиращи гени, както и множество гени за некодиращи РНК молекули като микроРНК и малки ядрени РНК (участващи в сплайсинга). РНК полимераза II е изключително чувствителна към токсина алфа-аманитин.
- **РНК полимераза III** транскрибира повечето от малките клетъчни РНК, включително тРНК и споменатата по-горе 5S РНК.

Сухоzemните растения притежават две допълнителни полимераз, РНК полимераза IV и РНК полимераза V. РНК полимераза IV произвежда къси интерфериращи РНК с дължина 24 нт, които взаимодействат с транскрипти на РНК полимераза V, за да контролират *de novo* метилирането на ДНК и заглушаването на транскрипцията на подвижните елементи (транспозони) в растителните геноми.

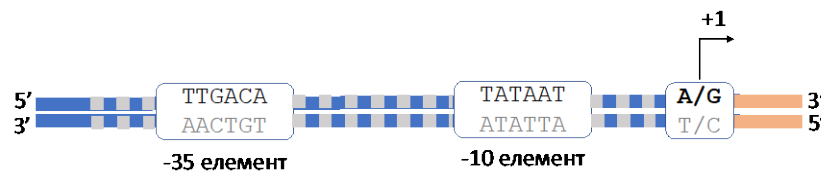
За разлика от прокариотната РНК полимераза, при която σ -факторът разпознава промотора и иницира транскрипцията, при еукариотите специфични **общи транскрипционни фактори** медиатират свързването на всяка РНК полимераза с нейния промотор.

3. Основни етапи на транскрипцията

3.1. Инициация на транскрипцията

Започването на транскрипцията е особено **критичен етап**, тъй като това е основната точка, в която клетката избира кои протеини или РНК да бъдат произведени. За да започне транскрипцията, РНК полимеразата трябва да може да разпознае промотора и да се свърже здраво с ДНК на това място. Създава се **транскрипционното мехурче** чрез локално развиване на ДНК в областта на свързване на РНК полимеразата. Начинът, по който РНК полимеразите разпознават промотора, се различава между прокариоти и еукариоти.

При прокариоти, **типичният бактериален промотор** съдържа два консервативни елемента: **-35 елемент** с консенсусна последователност TTGACA и **-10 елемент** (Pribnow box) с консенсусна последователност TATAAT, разположени приблизително на 35 и 10 нуклеотида нагоре от транскрипционното начало +1 (Фигура 2). Свързването на σ -фактора с промотора осигурява правилното позициониране на ензима и точното начало на транскрипцията.

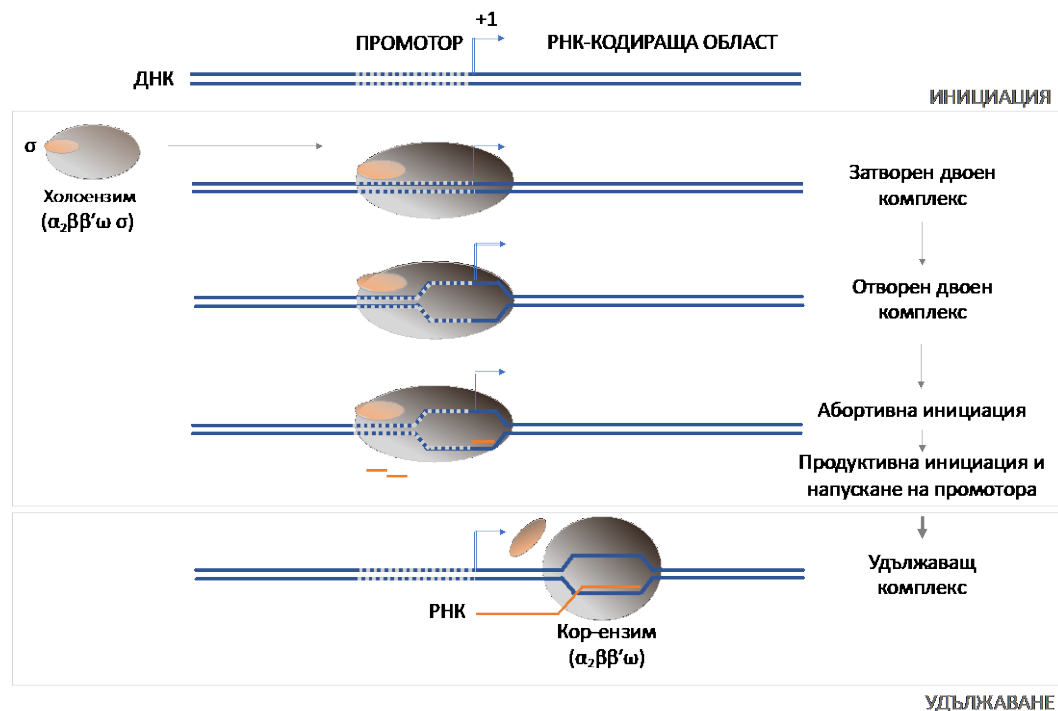


Фигура 2. Бактериален промотор

Транскрипцията започва, когато σ -факторът на РНК полимеразата разпознава промотора и се формира **затворен комплекс** с двойноверижна ДНК (Фигура 3). След локално разплитане на около 15 нуклеотида се образува **отворен комплекс** и **транскрипционно мехурче**, в което едната верига служи като матрица и първите два рибонуклеотида се свързват с фосфодиестерна връзка.

В началото полимеразата многократно започва и прекъсва синтеза, образувайки къси олигонуклеотиди – **абортивна инициация**. Инициацията става **продуктивна**, когато ензимът удължи РНК веригата достатъчно и напусне промотора, като така се осигурява стабилно и правилно ориентирано започване на синтеза на пълния транскрипт.

Дълго време се е смятало, че σ -факторът задължително напуска кор-ензима, след като е иницирал транскрипция. Днес се счита, че σ -факторът променя свързването си с кор-ензима през двата етапа на транскрипция – инициация и удължаване, преминавайки от състояние на здраво свързване по време на инициацията към състояние на хлабаво свързване по време на удължаване.



Фигура 3. Инициация на транскрипцията при прокариоти

При еукариоти, достъпът до ДНК се контролира от хроматиновата структура, затова началото на транскрипцията често изисква **хроматиново ремоделиране**, което „разхлабва“ нуклеозомите и позволява на ензимите да достигнат промотора.

Еукариотните промотори имат модулна организация – съставени са от няколко функционални блока, които заедно определят къде, кога и колко силно ще се транскрибира даден ген:

- Кор-промотор – минимална последователност около транскрипционното начало (често с ТАТА за РНК полимеразата II), която осигурява сглобяване на преинициращия комплекс.
- Проксимални елементи – къси регулаторни мотиви близо до кор-промотора, фино настройващи неговата активност.
- Дистални елементи – усилватели и заглушители, отдалечени от кор-промотора, комуникиращи с него чрез транскрипционни фактори.

Докато бактериалната РНК полимеразата разпознава промотора с помощта на единствен фактор, σ -фактора, еукариотните РНК полимерази не могат да разпознават промотора. При еукариоти и археи няма σ -фактори, вместо тях РНК полимеразите използват множество **главни транскрипционни фактори**, които взаимодействат както помежду си, така и с РНК полимеразата. Ролята на тези фактори е да разпознаят промотора и да иницират транскрипцията като позиционират ензима върху промотора и иницират формирането на **преинициращия комплекс**.

3.2. Удължаване на транскрипта

След успешно включване на първите нуклеотиди РНК полимеразата преминава в етап на удължаване на транскрипта. Ензимът напуска промотора, движи се по ДНК матрицата и последователно добавя правилно подобрени рибонуклеотиди към нарастващата РНК верига чрез образуване на фосфодиестерни връзки. Полимеразата поддържа малко транскрипционно мехурче с разплетена ДНК и кратък РНК-ДНК хибрид, като постоянно развива двойната спираला пред себе си и я възстановява зад себе си. При своето движение по матрицата, РНК полимеразата открива нови области за комплементарно свързване. Така по веригата на ДНК се движи един локално-разплетен хибриден участък, след който двете вериги се затварят.

3.3. Прекратяване на транскрипцията

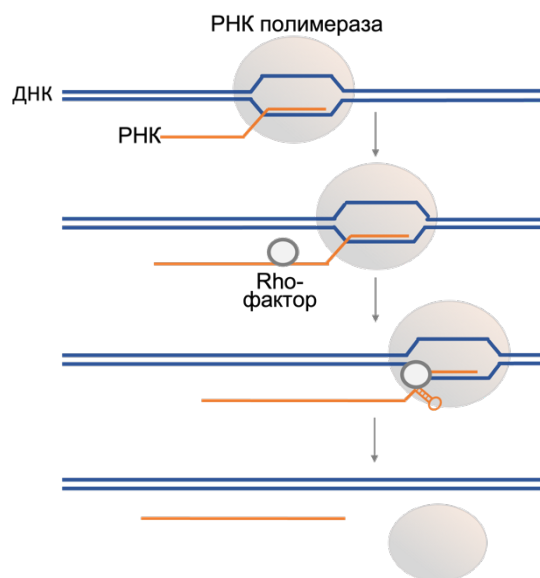
При прокариоти, прекратяването става чрез един от двата добре характеризирани механизма, които изискват образуването на фуркетни структури във вторичната структура на РНК.

При **Rho-зависима терминация**: РНК съдържа участък за свързване на АТФ-зависимата хеликаза **rho-фактор**. След свързването си rho-факторът се придвижва по транскрипта, „преследвайки“ РНК полимеразата. Терминиращото място образува бримка в края на транскрипта, която забавя полимеразата, позволявайки на rho-фактора да развие РНК:ДНК дуплекса, да измести полимеразата и да прекрати транскрипцията.

При **Rho-независима терминация**: Терминаторът съдържа палиндромна последователност и участък, богат на аденини. Транскрибираният палиндром образува стабилна бримка в РНК, последвана от урацилови остатъци, което отслабва взаимодействието с ДНК и полимеразата и предизвиква отделяне на РНК.

При еукариоти, прекратяването на транскрипцията е по-сложно и включва специфични последователности и протеини, които разпознават крайния сигнал.

При прокариоти продуктът на транскрипцията е иРНК, която не се модифицира и бързо се включва в транслацията. При еукариоти първичният транскрипт (пре-иРНК) преминава задължителни **пост-транскрипционни модификации**: **5'-кепиране**, **сплайсинг** (премахване на интрони и свързване на екзони) и **полиаденилиране на 3'-края**, за да се образува зряла иРНК, която напуска ядрото.



Фигура 4. Rho-зависимо прекратяване на транскрипцията при прокариоти

Протеиновият синтез (или транслация) е процес, при който информацията, записана в иРНК (респ. ДНК), се използва за производството на протеинови молекули. По време на транслацията нуклеотидната последователност на иРНК се прочита с помощта на генетичния код.

1. Генетичен код

Генетичният код е набор от правила, чрез които клетките преобразуват информацията в ДНК или РНК в протеини. Той се основава на **нуклеотидни триплети**, наречени **кодони**, всеки от които определя аминокиселина, включена по време на синтеза на протеини.

– **Колинеарност:** Колинеарността се отнася до линейното съответствие между нуклеотидната последователност на кодиращ регион и аминокиселинната последователност на кодирания протеин. По време на транслацията рибозомите четат иРНК – транскрибирана от ДНК – и преобразуват нейните кодони в специфична аминокиселинна последователност, използвайки генетичния код. Колинеарността е често срещана при прокариотите и много вируси. При еукариотите обаче гените често съдържат интрони, които се отстраняват по време на обработката на иРНК, така че колинеарността се отнася за обработената иРНК, а не за геномната ДНК.

– **Генетичният код е триплетен:** Той използва 4 символа – А (аденин), G (гуанин), С (цитозин) и U (урацил) и може да създаде 64 различни тринуклеотидни комбинации ($4^3=64$), в случая кодони. От тях, 61 кодона кодират една от 20-те аминокиселини. Три от тях (UAA, UAG, UGA) са „стоп“ кодони, не кодират аминокиселина и се използват за сигнализиране на прекратяването на протеиновия синтез. Кодонът AUG кодира метионин навсякъде, където се появява в иРНК, но също така има уникална функция за определяне на началната точка за протеинов синтез в повечето иРНК, и затова се нарича „старт“ кодон.

– **Генетичният код е изроден:** Болшинството аминокиселини се кодират от повече от един кодон. Например, аминокиселината валин се кодира от 4 кодона – GUU, GUC, GUA и GUG. Всъщност всички аминокиселини, с изключение на метионин (AUG) и триптофан (UGG), имат повече от един кодон.

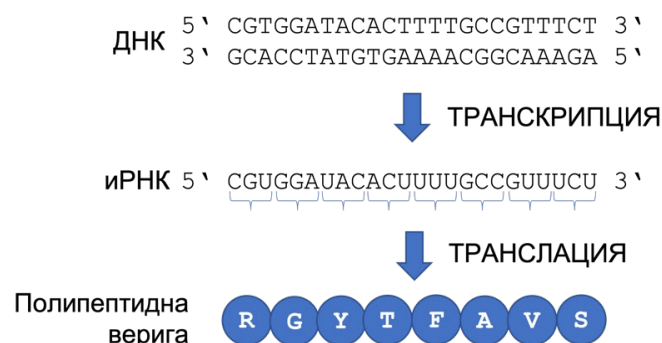
– **Генетичният код е универсален, с малки изключения:** Генетичният код е идентичен при почти всички видове, като едни и същи кодони определят едни и същи аминокиселини. Той може да се различава леко в определени организми и в митохондриите на някои еукариоти.

– **Генетичен код и рамка на четене:** Генетичният код се чете в нуклеотидната последователност на ДНК, или РНК, чрез неприпокриващи се кодони – рамка на четене. От трите възможни рамки на четене, обикновено само една има потенциал да бъде преведена в протеин – тази рамка се нарича „отворена рамка на четене“ – тя започва със старт кодон и завършва със стоп кодон.

2. Информационна РНК – матрица за протеиновия синтез

иРНК, както при прокариоти, така и при еукариоти, има следната структура (**Фигура 3**): 5' нетранслируем регион (5'-НТР), протеин-кодираща кодираща област и 3' нетранслируем регион (3'-НТР):

– **5'-НТР:** Разположен е нагоре от старт-кодона (AUG). Не се превежда в аминокиселини, но съдържа регулаторни елементи, които контролират свързването на рибозомата и инициацията на транслацията. При прокариоти тук се намира последователността на



Фигура 1. Колинеарност на гена и полипептидната верига при прокариоти

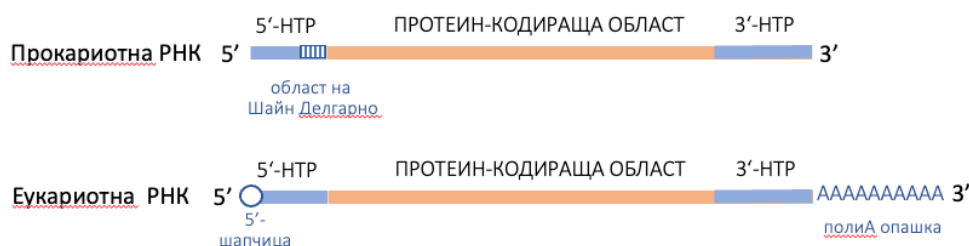
Шайн-Делгарно, която подпомага свързването на рибозомата. При еукариоти тази функция се изпълнява от последователността на Козак, която също улеснява инициацията на транслацията.

- **Протеин-кодираща област:** Започва със старт-кодона и завършва със стоп-кодон и съдържа кодоните, определящи аминокиселинната последователност на протеина.
- **3'-НТР:** Разположен след стоп-кодона. Не се превежда, но съдържа регулаторни елементи, които влияят на стабилността на иРНК, разпадането ѝ и ефективността на транслацията.

Особености на еукариотната иРНК:

- Всички зрели еукариотни иРНК имат **5'-шапчица** (7-метилгуанозин), която защитава молекулата от деградация и подпомага разпознаването от рибозомата.
- На 3' края се има **поли-А опашка**, която увеличава стабилността на иРНК и улеснява нейния експорт от ядрото.

Тези структурни елементи са ключови за правилното функциониране и регулация на иРНК при еукариотите.

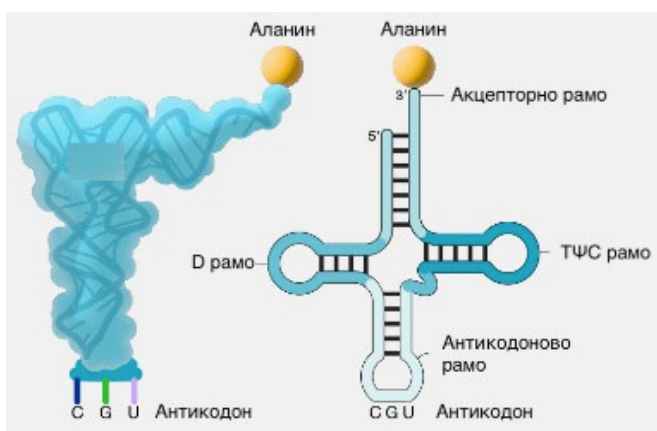


Фигура 3. Структура на иРНК при проکاریоти и еукариоти

3. тРНК – преводачи на генетичния код

Генетичният код се предава от иРНК в аминокиселинна последователност с помощта на транспортните РНК (тРНК) – сравнително малки **молекули**, чиято дължина варира от 75 до 93 нт. Някои от нуклеотидите в тРНК се свързват един с друг чрез водородни връзки, така че тРНК се нагъва във форма, която може да бъде представена двуизмерно като детелина. Тази форма допълнително се нагъва за да образува L-образна молекула в триизмерното пространство (Фигура 4). В молекулата на тРНК се откриват следните структурни елементи:

- **Акцепторно рамо:** получава се при свързване на нуклеотидите на 5'-края с тези на 3'-края на тРНК. 3'-краят завършва с терминалната група ССА, към която се свързва аминокиселината, за да се образува аминоксил-тРНК.
- **Антикодоново рамо:** съдържа триплетен антикодон, който се свързва със съответния кодон в иРНК.
- **D-рамо:** често съдържа дихидроуридин; играе важна роля в стабилизирането на третичната структура на тРНК.
- **ТΨС-рамо:** рамото се нарича ТΨС, за да се уточни наличието на риботимидин, псевдоуридин и цитидинови остатъци. Молекулите на тРНК са необичайни, тъй като съдържат голям брой модифицирани бази. ТΨС-рамото участва във взаимодействието на тРНК с рибозомата.
- **Променлива бримка:** тя се намира между антикодоновото рамо и ТΨС-рамото и, както подсказва името ѝ.



Фигура 4. Транспортна РНК (тРНК). Вторична структура (вдясно) с форма на детелина; L-образна третична структура (вляво). (National Human Genome Research Institute, www.genome.gov)

Изоакцепторните тРНК са тРНК молекули, които пренасят една и съща аминокиселина, но имат различни антикодони – те образуват **изоакцепторна група**. Това е следствие от изродеността на генетичния код, при която една аминокиселина се кодира от няколко кодона, разпознавани от съответна изоакцепторна група тРНК.

Специфичното **прикрепване на аминокиселините към тРНК** (натоварване на тРНК) се катализира от клас ензими, известни като **аминоацил-тРНК синтетази**. Реакцията е известна като аминоацилиране и води до образуване на **аминоацил-тРНК**. Всяка аминокиселина има своя аминоацил-тРНК синтетаза, която катализира нейното натоварване върху всички тРНК, които имат антикодони, съответстващи на тази аминокиселина (изоакцепторна група тРНК). Всяка аминоацил-тРНК синтетаза трябва да прави разлика между различните тРНК, така че само правилните да бъдат аминоацилирани. По този начин точното разпознаване на тРНК от тези ензими установява правилата на генетичния код.

4. Рибозомите – апаратът за синтез на протеини

Рибозомите са макромолекулни комплекси, които катализират протеиновия синтез от аминокиселини. Всяка рибозома се състои от малка и голяма субединица, съставени от рибозомна РНК (рРНК) и рибозомни протеини. Рибозомите и техните субединици се характеризират със Сведберг (S) единици, които отразяват техния размер и скорост на утаяване по време на центрифугиране.

Прокариотните клетки съдържат 70S рибозоми, съставени от 30S малка субединица и 50S голяма субединица. Еукариотните цитозолни рибозоми са по-големи (80S) и се състоят от 40S и 60S субединици. Освен това еукариотните клетки притежават митохондриални рибозоми, а растителните клетки също съдържат хлоропластни рибозоми. Тези органеларни рибозоми се различават по размер и състав от цитозолните рибозоми и много наподобяват тези, открити в бактериите и цианобактериите.

Преди да участва в синтеза на протеини, всяка аминокиселина се прикрепя към своята специфична тРНК, образувайки аминоацил-тРНК. По време на транслацията, тРНК последователно заемат три различни рибозомни места:

- *А-място* (аминоацилен сайт): свързва входящата аминоацил-тРНК, чийто антикодон се съвпада със съответния кодон на мРНК.
- *Р-място* (пептидилов сайт): задържа **пептидил-тРНК**, носеща нарастващата полипептидна верига.
- *Е-място* (изходен сайт): временно се свързва с **деацилираната тРНК**, преди тя да напусне рибозомата.

Голямата рибозомна субединица взаимодейства с 3'-ССА края на тРНК и съдържа **пептидил трансферазния център**, който катализира образуването на пептидна връзка. Малката субединица се свързва с антикодона на тРНК и осигурява точно декодиране на иРНК по време на транслацията и правилна транслокация на рибозомата по протежение на иРНК.

При еукариотите рибозомните субединици се синтезират и сглобяват в ядрото. Рибозомните протеини се импортират в ядрото, където се свързват с рРНК, за да образуват двете субединици, които след това излизат през ядрените пори. В цитоплазмата субединиците остават отделни, докато започне транслацията. Клетките съдържат милиони рибозоми, много от които се сглобяват в полирибозоми (полизоми), които едновременно транслират една молекула иРНК. Рибозомите могат също да се свързват с грапавия ендоплазмен ретикулум, където синтезират протеини, предназначени за секреция или мембранна локализация.

5. Основни етапи на транслацията

5.1. Инициация на транслацията

Инициацията на транслацията започва, когато малката рибозомна субединица се свърже с иРНК и позиционира стартовия кодон (AUG) в Р-мястото, където се настанява инициаторната тРНК, носеща метионин; след това се присъединява голямата субединица и се формира функционална рибозома.

При прокариоти, в инициацията участват **30S субединицата**, трите **иницииращи фактори** IF-1, IF-2 и IF-3 и **инициаторната tRNA^{fMet}** (Фигура 5). Повечето бактериални иРНК съдържат областта на Шайн-Делгарно – последователност разположена преди стартовия кодон и

комплементарна на участък от 16S рРНК, което чрез базово сдвояване позиционира правилно малката субединица. Инициаторната РНК носи формиран метионин (fMet), поради което новосинтезираните белтъци в *E. coli* започват с fMet, който обикновено се отстранява посттранслационно, докато вътрешните AUG кодони се разчитат от друга тРНК, включваща неформилиран Met. Инициацията протича в няколко стъпки:

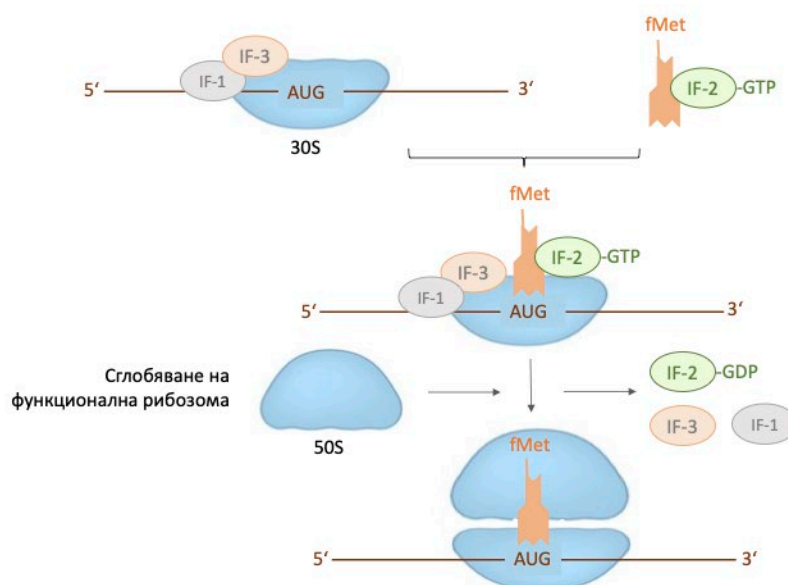
– *Образуване на тройния комплекс IF-3*иРНК*30S*

– IF-3 се свързва с 30S субединицата, предотвратява асоциирането ѝ с 50S и подпомага разпознаването на областта на Шайн-Делгарно.

– *Образуване на двойния комплекс IF-2(GTP)*fMet-tRNA^{fMet}* – IF-2, свързан с GTP, се асоциира със стартовата tRNA, натоварена с fMet.

– *Формиране на функционална 70S рибозома* – двата комплекса се свързват, като IF-2 настанява fMet-tRNA^{fMet} в Р-мястото така, че антикодонът ѝ да се сдвои със стартовия AUG; IF-3 проверява точността на разпознаването, а след присъединяването на 50S субединицата хидролизата на GTP до GDP води до освобождаване на инициращите фактори и конформационни промени, стабилизиращи функционалната 70S рибозома, готова за удължаване на полипептидната верига.

При еукариоти, малката субединица (40S) се свързва с 5'-шапчицата на еукариотната иРНК (те нямат Shine-Dalgarno последователност), и сканира веригата, за да открие стартовия AUG. Инициаторната тРНК носи неформилиран метионин, изисква се голям брой еукариотни инициращи фактори (eIFs), а рибозомата се сглобява като 80S комплекс (40S + 60S).



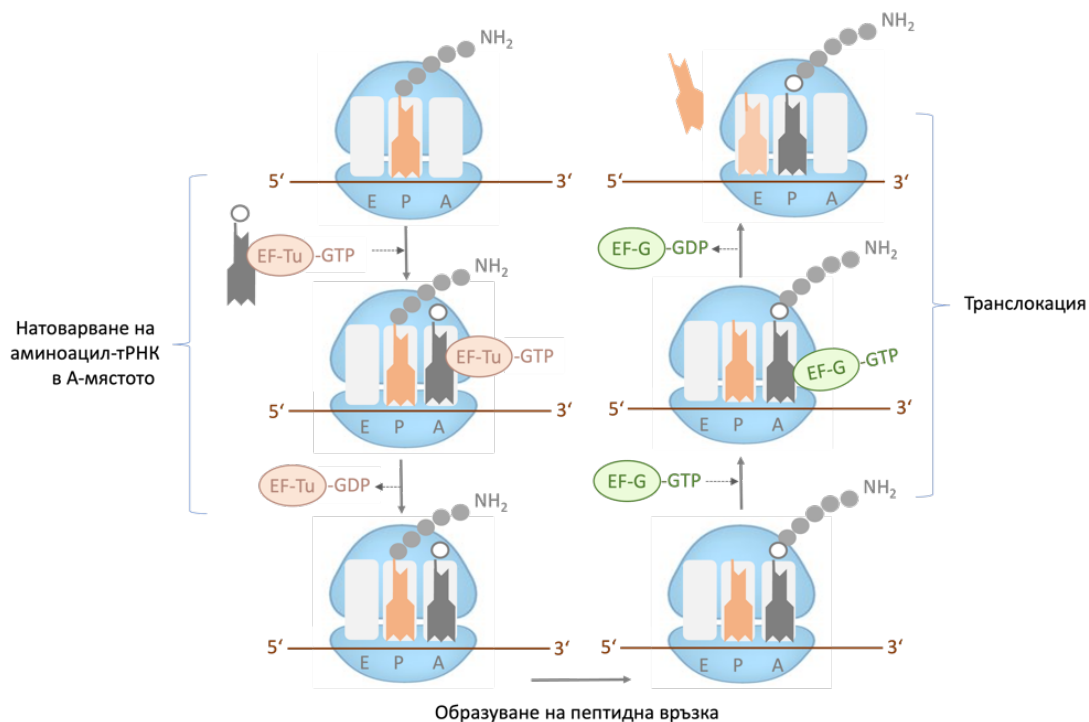
Фигура 5. Инициация на транслацията при прокариоти

5.2. Удължаване на полипептидната верига

При прокариоти, в етапа на удължаване полипептидната верига се удължава с по една аминокиселина. Той включва три основни етапа (Фигура 6):

- **Натоварване на аминоксил-тРНК в А-мястото:** аминоксил-тРНК, носеща следващата аминокиселина, навлиза в **А-мястото** на рибозомата, като антикодонът ѝ комплементира с кодона на иРНК. Стъпката се подпомага от фактора на удължаване EF-Tu (*при еукариоти* – eEF1).
- **Образуване на пептидна връзка:** Свободната аминокселина на аминоксил-тРНК атакува естерната връзка, свързваща растящия полипептид с тРНК (пептидил-тРНК), разположена в Р-мястото. С-края на полипептида се отделя от тРНК и се свързва чрез пептидна връзка към свободната аминокселина на новопостъпилата аминокиселина. Образуването на пептидната връзка е свързано с прехвърляне на растящата полипептидна верига върху новата аминокиселина – в Р-мястото остава деацилирана тРНК, а в А-мястото вече се намира пептидил-тРНК (полипептидът е удължен с една аминокиселина).
- **Транслокация:** Рибозомата се придвижва един кодон надолу по иРНК, удължената пептидил-тРНК се премества от **А-мястото** в **Р-мястото**, а празната тРНК се премества в **Е-мястото**, откъдето напуска рибозомата. **А-мястото е свободно да приеме следващата аминоксил-тРНК.** Стъпката се подпомага от фактора на удължаване EF-G.
- Този цикъл се повтаря до достигане на **стоп кодон**.

При еукариоти, фундаментално стъпките остават същите.



Фигура 6. Удължаване на полипептидната верига при прокариоти

5.3 Прекратяване на транслацията

Прекратяване на протеиновия синтез както в еукариотите, така и в бактериалните клетки, се осъществява, когато мястото А-мястото на рибозомата достигне до един от стоп кодоните (UAA, UAG и UGA) на иРНК. Протеините, наречени освобождаващи разпознават тези кодони и освобождават полипептида, който е прикрепен към последната тРНК в Р-мястото. Този процес е енергийно-зависим – енергията от хидролизата на GTP се използва за освобождаването на новосинтезирания протеин от тРНК в Р-мястото. Следва дисоциация на рибозомните субединици, и освобождаване на тРНК и иРНК.

Генната експресия представлява процес, при който генетичната информация се използва за синтез на функционални продукти – протеини или РНК. Протеин-кодиращите гени служат като матрица за производството на протеини, които изпълняват разнообразни клетъчни функции, включително катализиране на биохимични реакции, структурна поддръжка на клетките, участие в клетъчната сигнализация и други. В същото време некодиращите гени произвеждат различни видове РНК, като тРНК, рРНК, микроРНК и дълги некодиращи РНК. Тези молекули играят важна регулаторна и структурна роля, която е от съществено значение за контролирането на генната експресия.

1. Регулация на генната експресия при прокариоти

Основната цел на контрола на генната експресия в прокариотите е да регулира синтеза на протеини в отговор на вътрешни и външни промени в околната среда. Тази регулация е от решаващо значение за оцеляването и адаптивността на прокариотните организми, позволявайки им ефективно да управляват своите метаболитни ресурси и да реагират на различни условия.

1.1. Бактериалните гени са организирани в оперони и се контролират координирано

При прокариоти, гените, които кодират белтъци със свързани функции, най-често ензими от един метаболитен път, са организирани в клъстери, наречени оперони. **Оперонът** е единица за координирана експресия на група **структурни гени**, които са под контрола на общи *cis*-действащи регулаторни елементи (промотор, оператор и др.). Гените на оперона се транскрибират в една **полицистронна (мултигенна) иРНК молекула**, и трансляцията на всеки протеин от вътрешен AUG инициращ кодон води до координирана продукция на белтъците, кодирани от индивидуалните гени.

Регулацията на прокариотната транскрипция се осъществява от **регулаторни протеини**, които се свързват с регулаторни елементи, разположени близо до мястото на начало на транскрипция на транскрипционна единица. При отсъствие на регулаторни протеини, РНК полимеразата все още може да се свърже с промотора и да иницира транскрипция, но на ниско „базално“ ниво.

Регулаторните белтъци се кодират от регулаторни гени, те могат или да потискат транскрипцията (репресори) – негативен контрол; или да стимулират транскрипцията (активатори) – позитивен контрол. Съществуват и други нива на регулация – така например, молекула, наречена индуктор, може да се свърже с репресора и да го инактивира; или репресор може да не е в състояние да се свърже с оператора, освен ако не е свързан с друга молекула, корепресора.

Катаболитните пътища катализират разграждането на хранителни вещества за генериране на енергия под формата на АТР. **Индуцируемите оперони** често съдържат гени, кодиращи ензими, които участват в катаболитни процеси. Генната транскрипция е „изключена“, но може да бъде „включена“ в отговор на малка индуцираща молекула, идентична или подобна на ензимния субстрат. Ензимите са необходими само когато субстратът е наличен, така че експресията на опероните обикновено се индуцира само в неговото присъствие.

Анаболитните пътища използват енергия под формата на АТР и редуциращи еквиваленти под формата на NAD(P)H за да катализират синтеза на клетъчни компоненти от по-прости материали, напр. синтез на аминокиселини от малки дикарбоксилни киселини. **Репресируемите оперони** съдържат гени, кодиращи ензими, които участват в анаболитни процеси. Генната транскрипция е „включена“, но може да бъде „изключена“ в отговор на малка репресираща молекула, идентична или подобна на крайния продукт. Когато продуктът от биосинтетичния път започне да се натрупва в клетката, експресията на оперона се потиска.

Най-простите и най-добре разбрани примери за генна регулация се срещат в бактериите и във вирусите, които ги заразяват.

1.2. Лактозен оперон (*lac*-оперон)- индуцируем оперон

Генното регулиране на *lac*-оперон в *E. coli* е първият генетичен регулаторен механизъм, който е разбран в детайли, и става най-ярък пример за прокариотна генна регулация. Този ре-

гулаторен механизъм е разгадан от Франсоа Жакоб и Жак Моно, когато те изучават метаболизма на лактозата за да отговорят на въпроса как една биологична клетка знае какви ензими да синтезира. *Lac*-оперонът е необходим за транспортирането и метаболизма на лактозата в *E. coli* и много други чревни бактерии. Въпреки че глюкозата е предпочитаният източник на въглерод за повечето бактерии, *lac*-оперонът позволява ефективно усвояване на лактозата, когато глюкозата не е налична чрез активиране на бета-галактозидазата.

1.2.1. Структура на *lac*-оперона

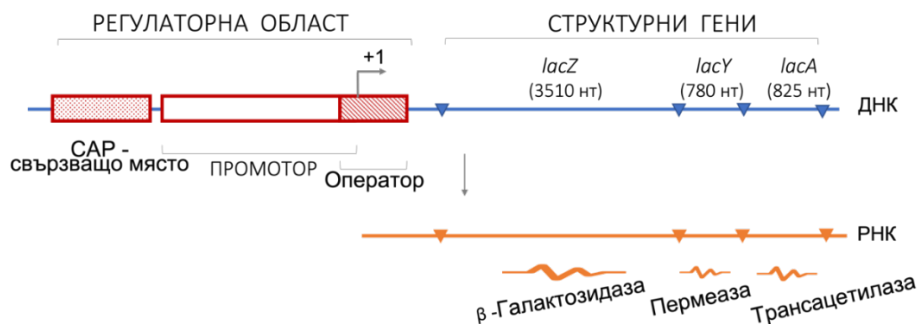
Lac-оперонът се състои от регулаторна област и 3 структурни гена, необходими за усвояването на лактозата (Фигура 1). Структурните гени са:

- *lacZ* кодира β -галактозидаза (LacZ), ензим, който разгражда дизахарида лактоза до глюкоза и галактоза.
- *lacY* кодира β -галактозид пермеаза (LacY), мембранен белтък, който транспортира β -галактозиди, включително лактоза, в клетката, използвайки протонен градиент.
- *lacA* кодира β -галактозид трансацилаза (LacA), ензим, който пренася ацетилна група от ацетил-СоА към тиогалактозид.

Само *lacZ* и *lacY* са необходими за катаболния метаболизъм на лактозата, докато *lacA* играе по-малка роля в този процес.

Регулаторната област съдържа регулаторни ДНК последователности. Това са участъци на ДНК, към които могат да се свържат определени регулаторни белтъци за контролират транскрипцията на оперона:

- промотор, към който се свързва РНК полимеразата;
- оператор, към който се свързва репресора – *lac*-репресор или LacI; когато *lac*-репресорът е свързан, РНК полимеразата не може да се свърже с промотора и да започне транскрипция, тъй като операторът се припокрива частично с промотора;
- CAP-свързващо място, към което се свързва активатора (от англ. Catabolite Activating Protein, CAP) – когато CAP е свързан, той стимулира транскрипцията като помага на РНК полимеразата да се свърже с промотора.

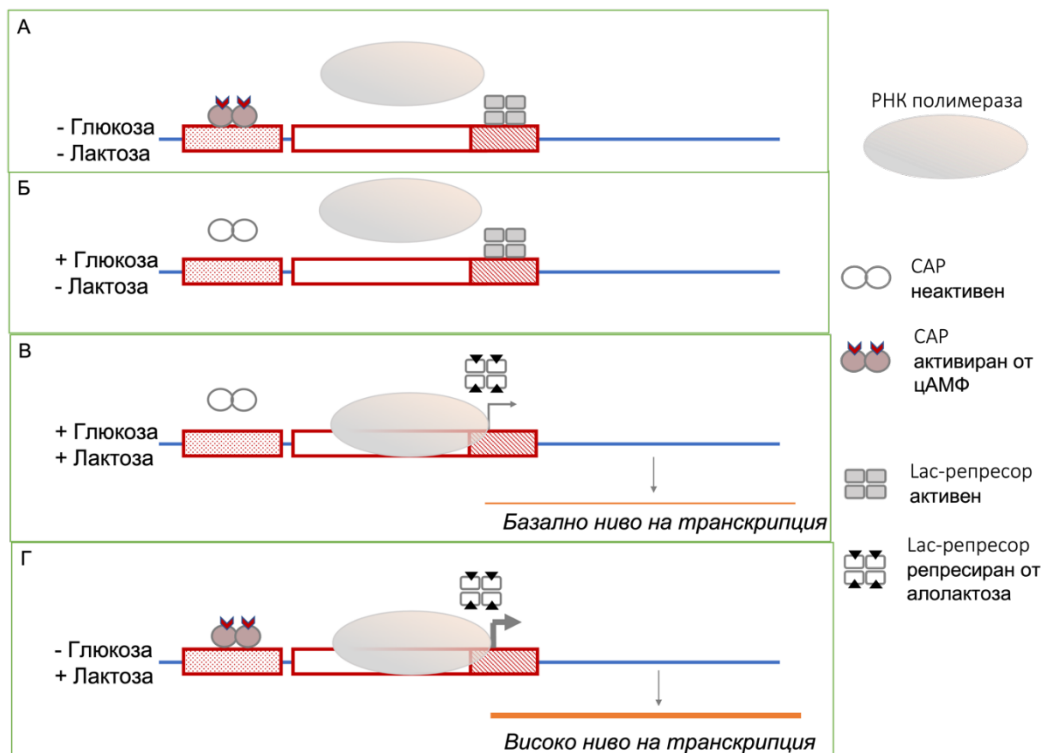


Фигура 1. Структура на *lac*-оперона

1.2.2. Регулация на *lac*-оперона

Lac-оперонът се контролира от слаб промотор, който свързва РНК полимеразата неефективно и инициира транскрипция на ниско базално ниво (Фигура 2). Тя е от решаващо значение за способността на клетката да реагира на промените в наличността на лактоза в околната среда, позволявайки бързото ѝ адаптиране, когато лактозата стане единственият източник на въглерод.

Активността на промотора, който контролира експресията на *lac*-оперона, се контролира от два регулаторни протеина. Единият протеин (*lac*-репресор) пречи на свързването на РНК полимеразата към промотора и потиска транскрипцията, упражнявайки негативен контрол, другият протеин (катаболитния активатор, CAP), когато е свързан с цАМФ, подпомага свързването на РНК полимеразата към промотора и стимулира транскрипцията, упражнявайки положителен контрол.



Фигура 2. Регулация на експресията на *lac*-оперона

Наличието или отсъствието на захарите лактоза и глюкоза контролират нивото на експресия на *lac*-оперона. Активирането му изисква наличието на лактоза (и следователно липсата на активен *lac*-репресор) и липсата на предпочитания енергиен източник, глюкоза (и следователно наличието на активен CAP).

• Негативен контрол на *lac*-оперона

Lac-репресорът се кодира от *lacI* гена, който се разполага нагоре от *lac*-оперона и се контролира от собствен промотор. Експресията на *lacI* гена е конститутивна и не зависи от наличието на лактоза, като непрекъснато се синтезират ниски нива на *lac*-репресора. Самият репресор се образува от четири идентични субединици, които се самосглобяват, за да образуват активния тетрамер.

При липса на лактоза в хранителната среда, *lac*-репресорът е в активна форма и блокира експресията на *lac*-оперона чрез свързване към оператора (Фигура 2. А и Б). В присъствие на лактоза, малка част от лактозните молекули претърпяват изомеризация до алолактоза. *Lac*-репресорът, който има голям афинитет към алолактозата, се свързва с нея, променя формата си и се инактивира. Той вече не може да се свърже с ДНК, и РНК полимеразата има достъп до промотора и може да започне транскрипция – индукция на *lac*-оперона (Фигура 2. В и Г).

• Позитивен контрол на *lac*-оперона

Силата на даден промотор се определя от способността му да свързва РНК полимеразата и да образува отворен комплекс. Промоторът на *lac*-оперона е слаб и следователно той се транскрибира слабо при индукция в среда с лактоза. Ако в хранителната среда присъства само лактоза като въглероден източник, CAP протеинът е в активна форма, свързва се към CAP-свързващото място на оперона и огъва ДНК. Така РНК полимеразата може да се свърже по-ефективно към промотора и транскрипцията на *lac*-оперона се стимулира значително (Фигура 2. Г).

CAP е друг пример за алостерично регулиран регулаторен белтък. Самият CAP се активира от цикличния АМР (цАМФ), който се синтезиран от АТФ с помощта на ензима аденилат циклаза. Само когато CAP е свързан с цАМФ, той може да се свърже към CAP място в промотора на *lac*-оперона. За разлика от *lac*-репресора, който се свързва с оператора само в отсъствието на неговия лиганд (алолактоза), CAP се свързва с CAP-мястото на промотора в присъствието на своя лиганд (цАМФ).

• Катаболитна репресия

Катаболитната репресия, наричана още глюкозна репресия, е механизъм, чрез който микроорганизмите потискат експресията на гени, необходими за използването на алтернативни из-

точници на въглерод, когато в средата присъства глюкоза. Този механизъм е добре изучен при *E. coli*, която расте най-бързо върху глюкоза. Когато *E. coli* се отглежда в среда, съдържаща глюкоза и лактоза, клетките първо метаболлизират глюкозата, а след изчерпването ѝ преминават към лактозата (диауксичен растеж).

В *E. coli* глюкозата потиска използването на лактоза чрез два механизма:

- Инхибиране на експресията на *lac*-оперона – когато глюкозата е налична, вътреклетъчните нива на цАМФ са ниски, което предотвратява образуването на комплекса CAP–цАМФ и води до слабо свързване на РНК полимеразата с промотора на *lac*-оперона, дори при наличие на лактоза.
- Инхибиране на транспорта на лактоза – транспортът на глюкоза в клетката чрез фосфотрансферната система (PTS) поддържа протеина ЕПА^{glc} в нефосфорилирано състояние, което му позволява да се свързва и да инхибира лактозната пермеаза (LacY), като по този начин се намалява навлизането на лактоза в клетката (индукторно изключване).

Дори при високи нива на глюкоза, когато транскрипцията на *lac*-оперона е изключително трудна, тя все още се случва, макар и много неефективна. Малки количества пермеаза обикновено се произвеждат поради редки, случайни събития, които могат да „стартират“ процеса веднага щом глюкозата се изчерпи, при условие че лактозата е налична. Докато глюкозата има силен инхибиторен ефект върху усвояването на лактозата, малки количества лактоза понякога могат да присъстват в клетките на *E. coli* заедно с глюкозата, особено при динамични условия на околната среда.

Регулация на генната експресия при еукариоти

Многоклетъчните еукариоти имат голям и сложен геном, организиран в много хромозоми. Всички соматични клетки съдържат една и съща ДНК, но се различават по структура и функция. Това разнообразие се обяснява с **диференциална генна експресия** – в различните клетъчни типове са активни различни гени.

• Основни цели на контрола на генната експресия при еукариоти

- Клетъчна диференциация и развитие – контролът на генната експресия позволява клетките да се специализират и да образуват тъкани и органи по време на развитието.
- Отговор на околната среда – клетките променят експресията на гени в отговор на външни сигнали като стрес, хранителни вещества и хормони.
- Хомеостаза и метаболизъм – регулацията на генната експресия поддържа вътрешния баланс на клетката и осигурява ефективно използване на енергията.
- Поддържане на клетъчна идентичност (епигенетична памет) – стабилни модели на експресия запазват функцията на диференцираните клетки при делене.

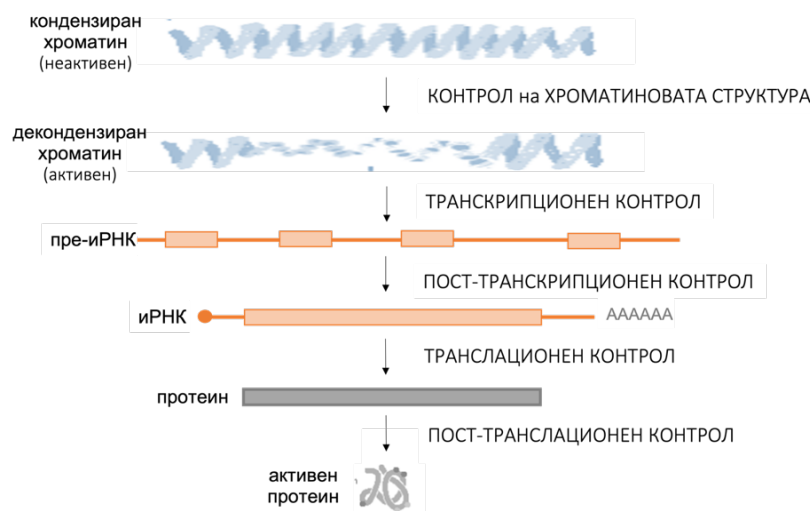
• Основни нива и механизми на регулация на генната експресия при еукариоти

В *прокариотната клетка*, прокариотната РНК полимераза транскрибира ДНК до иРНК, и още преди синтезата на иРНК да е завършена, рибозомите се прикрепват към растящата иРНК верига и започват да я транслират до белтък. В *еукариотната клетка*, транскрипцията и транслацията са разделени във времето и пространството. Синтезът на иРНК се извършва в ядрото, първичният транскрипт претърпява процесинг, който включва модификации на 5'- и 3'-краищата, сплайсинг, редактиране и др. Едва тогава зрелият транскрипт преминава в цитоплазмата, където се извършва белтъчната синтеза.

Контролът на генната експресия при еукариотите е сложен процес, който включва множество нива на регулация – това гарантира, че гените се експресират в правилния момент, в правилния тип клетка и в правилното количество. Принципите на контрол на генната експресия при еукариотите обхващат различни механизми, които регулират експресията на гените на различни етапи – от ДНК до функционалните протеини (*Фигура 3*):

- **хроматинов контрол** – опаковането на ДНК определя дали гените са достъпни; включва епигенетичен контрол като метилиране на ДНК (обикновено потиска гените), модификация на хистоните и др.;
- **транскрипционен контрол** – транскрипционни фактори взаимодействат с регулаторни елементи като промотори и енхансери за решат дали ще започне транскрипция и да определят нивата на иРНК;

- **пост-транскрипционен контрол** – обработката на иРНК и нейната подготовка за трансляция включва алтернативен сплайсинг (един ген може да произведе различни протеини), стабилизиране на иРНК и др.;
- **транслационен контрол** – регулира началото и ефективността на белтъчния синтез, напр. микроРНК могат да потискат трансляцията.
- **пост-транслационен контрол** – модификации (фосфорилиране, ацетилиране, убиквитинация) и разграждане на белтъците.



Фигура 3. Основни нива на регулация на генната експресия при еукариоти

• Координирана експресия на гени при еукариоти

При еукариотите гените не са организирани в оперони и всеки ген се транскрибира самостоятелно. Въпреки това множество гени могат да се активират или потискат едновременно, дори когато са разположени далеч един от друг или на различни хромозоми. Координацията на генната експресия се осъществява чрез транскрипционни фактори и други регулаторни белтъци, които се свързват със специфични регулаторни ДНК елементи (промотори, ехансери). Един и същ транскрипционен фактор може да регулира експресията на много гени едновременно. Допълнително, координираната експресия се подпомага от епигенетични механизми, сигнални пътища и некодиращи РНК, които осигуряват съгласувана работа на гените в отговор на клетъчни и външни сигнали.

Типове РНК вирусни геноми

Вирусните РНК геноми са едноверижни или двуверижни с размери от 3-33 кб и могат да бъдат линейни, сегментирани и рядко пръстеновидни. Класификацията им се базира на способността на геномната РНК да служи като информационна РНК (иРНК). Плюс-сенс РНК (+РНК, Група IV по Baltimore класификацията) са едноверижни геноми, които директно служат като иРНК за транслация (пикорнавируси, коронавируси). Минус-сенс РНК (-РНК, Група V по Baltimore) са едноверижни геноми, които изискват РНК зависима РНК полимераза (RdRp) за транскрипция на иРНК (инфлуенца, бяс). Амбисенс РНК геномите са едноверижни и съдържат участъци, част от които директно служат като иРНК, а други изискват предварителна транскрипция от RdRp (аренавируси). Двуверижните РНК вируси (Група III по Baltimore) транскрибират (-) РНК веригата от РНК дууплекса в иРНК с помощта на RdRp, която се носи вътре в капсида (напр. реовируси), докато ретровирусите (РНК-ОТ, Група VI по Baltimore) превръщат геномната (+) РНК в ДНК чрез обратна транскриптаза (ОТ) (напр. HIV).

Особености на вирусните РНК

РНК вирусните геноми съдържат една или повече отворени рамки на четене (ORF), кодиращи структурни и функционални белтъци, както и регулаторни елементи, които контролират експресията на гените. Основните *cis*-регулаторни последователности се намират в 5' и 3' UTR, където образуват вторични (стъбла-бримки) и третични (псевдовъзли) структури, разпознавани от вирусни и клетъчни ензими. Тези елементи осигуряват координирано превключване между репликация, транскрипция и транслация на вирусната РНК. Някои РНК вируси притежават терминални структури като 5' кеп и поли(А) опашка на 3'-края, подобно на еукариотните иРНК, докато други имат алтернативни модификации на краищата, като ковалентно свързан вирусно-кодирани белтък на 5'-края (Picornaviridae) или tРНК-подобни елементи на 3'-края (Togaviridae), които също повишават стабилността на РНК, улесняват транслацията и участват в инициацията на РНК синтеза. Последователности в интергенните региони също имат регулаторна функция – те съдържат субгеномни промотори със структурни мотиви, разпознавани от вирусната RdRp за синтез на субгеномни РНК. Много линейни РНК геноми имат директни терминални повтори (DTR) или обърнати повтори (IR), които подпомагат стабилността и репликацията.

Механизми на репликация и транскрипция на РНК вирусни геноми

(+) РНК вируси

При много (+) РНК вируси репликацията на генома изисква координирано действие на вирусни ензими като RdRp, хеликази с НТФаза активност, ензими за кепиране на РНК, както и неензимни вирусни белтъци, които подпомагат сглобяването и стабилизирането на репликационния комплекс. Белтъци на клетката гостоприемник често имат ключова роля за ефективната репликация на (+) РНК вируси. В инфектираните с голяма част от тези вируси клетки вътреклетъчните мембрани претърпяват ремоделиране, при което се формират специфични зони за прикрепване на вирусните репликационни комплекси; заедно с натрупващите се вирусни компоненти в тези места се образуват вирусни фабрики (виروплазми). При пикорнавирусите тези мембрани произхождат от ендоплазматичния ретикулум, при тогавирусите – от ендозомални мембрани, а при тобамовирусите – от хлоропластни мембрани. Модифицираните мембрани улесняват сглобяването и функционирането на вирусните репликационни комплекси, защитават вирусните РНК от клетъчния контрол и осигуряват пространствена организация и компартиментализация на процесите на репликация и транскрипция, както и координация с транслацията и асемблирането.

RdRp на (+) РНК вирусите притежава характерна структура състояща се от три домена наподобяващи- „пръсти“, „длан“ и „палец“ на „дясна ръка“. Доменът „длан“ включва централен четири-верижен β -лист и пет силно консервативни мотива (A–E). Мотиви A и C, съдържащи мотивите –DxxxxD– и –GDD–, имат ключова роля в координацията на метални йони и в осигуряването на специфичност при вграждането на нуклеотидите по време на каталитичната реакция.

Домените „пръсти“ и „палец“ затварят активния център на ензима. RdRp синтезира новата геномна РНК верига в посока 5' → 3'. Инициацията обикновено протича терминално от 3'-края на матричната РНК.

Механизмите за инициране на репликацията при (+) РНК вирусите са два – праймер-зависим и *de novo* (без праймер). При праймер-зависимия механизъм РНК-зависимата РНК полимераза може да използва РНК фрагмент (рядко срещан при (+) РНК вирусите) или белтъчен праймер. Най-характерният пример за белтъчен праймер е VPg (viral protein, genome-linked). VPg осигурява тирозинова 3'-хидроксилна група за ковалентно свързване на първия нуклеотид и служи като белтъчен праймер за инициация на синтеза на РНК при вируси от семейство *Picornaviridae*, например *poliovirus*. При *de novo* инициация RdRp започва синтезата на РНК директно чрез стабилизиране на първите нуклеозидтрифосфати в активния си център, без използване на праймер. Инициаторният НТФ, който често е гуанин трифосфат (ГТФ), осигурява 3'-ОН група за следващия нуклеотид. Този механизъм е характерен за вируси от семейства *Flaviviridae*, *Togaviridae* и *Coronaviridae*.

Инициация на РНК синтеза може да се наблюдава и във вътрешни участъци на генома, при което много едноверижни (+) РНК вируси синтезират субгеномни РНК (sgRNA) – по-къси РНК вериги, производни на генома, които служат като матрици за транслация на вътрешни рамки на четене, най-често кодиращи структурни белтъци. Субгеномните РНК се произвеждат чрез различни механизми. Първият е вътрешна инициация на транскрипция върху минус-вериги, която изисква специфични вътрешни промотори. Вторият механизъм е преждевременно прекъсване на синтезата на минус-веригата, при което РНК полимеразата отпада, синтезът е частичен и води до образуване на по-къси РНК молекули. Третият механизъм е прекъснат синтез, при който полимеразата превключва позиции и образува химерни транскрипти с лидерна последователност.

По време на репликацията на (+) РНК вируси са изолирани два основни типа РНК структури: 1) Първият тип структура е репликативната форма (RF) – напълно сдвоена двойноверижна РНК, която се формира, когато RdRp синтезира комплементарна (–) РНК върху геномната (+) РНК. Вторият тип е репликативният интермедиат (RI) – частично двойноверижни структури, при които (–) веригата служи като матрица за синтез на няколко нарастващи (+) вериги.

RdRp на РНК вирусите нямат коригираща нуклеазна активност, което води до висока честота на мутации (1 на 10³–10⁷ нуклеотида) и формиране на популации от подобни но не идентични вирусни геномни варианти – „квазивидове“.

(–) РНК вируси

РНК (–) вирусните геноми са плътно опаковани с нуклеопротеин, формирайки рибонуклеопротеинов комплекс (РНП/нуклеокапсид), който служи като матрица за вирусната РНК репликация и транскрипция. Някои представители притежават липидна обвивка, която придобиват от гостоприемника, докато други са без обвивка. Съставът на репликационния апарат се различава при сегментираните и несегментираните (–) РНК вируси, което определя и различните механизми на регулация на транскрипция и репликация при двата типа вируси.

Сегментираните (–) РНК вируси

Геномът на вируса на инфлуенца А е сегментиран и се състои от осем РНК молекули, всяка от които формира вирионен РНП комплекс, включващ едноверижна РНК, нуклеопротеин и хетеротримерна РНК-зависима РНК полимераза, съставена от субединиците PB1, PB2 и PA със строго специализирани каталитични функции. Този РНП комплекс функционира като матрица както за транскрипцията, така и за репликацията на вирусния геном.

За инициацията на синтеза на вирусни иРНК RdRp използва като праймер къс кепиран РНК фрагмент (10 – 15 нуклеотида), произхождащ от клетъчни иРНК, генериран чрез вградената ендонуклеазна активност на една от субединиците на полимеразния комплекс. Този механизъм на присвояване на кеп структурата „cap-snatching механизъм“ осигурява на вирусните транскрипти кеп, който им позволява да се конкурират за транслационни ресурси на гостоприемника. При завършване на транскрипцията, RdRp достига последователност от няколко урацила (U) близо до 3' края на РНК матрицата и „засяда“ многократно копирайки U, при което синтезира поли (А) опашката на иРНК. Този „stuttering“ механизъм обяснява синтезата на поли (А) опашка, която гарантира стабилност и транслационна ефективност на вирусните иРНК.

При репликацията RdRp синтезира новите геномни РНК без праймери чрез *de novo* инициация. За да предотврати преждевременното спиране и полиаденилиране по време на геномната РНК синтеза, вирусът използва нуклеопротеина като регулатор. Свободният нуклеопротеин е критичен за ефективната репликация на вирусната РНК, вероятно защото (1) взаимодейства с полимеразата и модифицира нейния режим на действие, и/или (2) защитава новообразуваната комплементарна (+) РНК от деградация чрез формиране на РНП структури. Смята се, че вирусната транскрипция се катализира предимно от полимеразата, асоциирана с първоначалния вирусен РНП комплекс, докато репликацията се осъществява основно от новосинтезираните полимеразни молекули. Специфичното свързване на полимеразата с 5'-края на новообразуваните вирусни РНК улеснява сглобяването на допълнителни молекули нуклеопротеин и така осигурява селективното опаковане на вирусна РНК.

Някои сегментирани (-) сенс РНК геноми използват амбисенс кодираща стратегия като носят в един и същ РНК сегмент две отворени рамки на четене (ORF) в противоположна ориентация, разделени от интергенен регион. Генът, разположен върху (-) веригата, се транскрибира директно в иРНК от геномната РНК, докато генът върху (+) веригата се експресира от иРНК, синтезирана върху комплементарната (антигеномна) РНК. Тази амбисенс стратегия позволява два гена да бъдат кодирани в един сегмент и така увеличава кодиращ капацитет на вирусния геном.

Несегментирани (-) РНК вируси

Вируса на везикуларен стоматит (Vesicular stomatitis virus- VSV, *Rhabdoviridae*) е типичен представител на несегментираните РНК (-) вируси. Неговият геном е линеен и носи пет гена в посока от 3' към 5' края на геномната (-) РНК. Репликацията и транскрипцията на този вирус зависят от прецизно взаимодействие между три основни компонента: нуклеопротеин (N), който обвива геномната РНК; полимеразния ензим (L); и фосфопротеин (P), който доставя L-полимеразата до РНП комплекса и подпомага нейното функциониране. При VSV полимеразният ензим съдържа всички необходими ензимни активности за транскрипция и репликация на генома. Транскрипцията започва от 3' края на генома. L-полимеразата транскрибира първия ген, след което спира в интергенния сигнал (съставен от терминаращ сигнал, нетранслируем динуклеотид и старт сигнал). Следва освобождаване на синтезираната РНК и полимеразата може или да отпадне, или да започне транскрипция на следващия ген. Този „старт-стоп“ механизъм създава градиент на експресия: гени, разположени близо до 3' края, се транскрибират по-често, докато гените в 5'-края са по-малко експресирани. Това позволява на вируса да регулира количеството на всеки протеин спрямо неговата роля в жизнения цикъл и процесите на вирусно сглобяване. Превключването от транскрипция към репликация зависи от нивото на свободния N протеин. Когато има достатъчно N, той се свързва с новосинтезираните РНК и предотвратява преждевременното спиране на полимеразата. В този случай L продължава синтеза на пълната геномна РНК без прекъсване, използвайки *de novo* инициация (без праймер). Ако N е недостатъчен, полимеразата следва „старт-стоп“ сигналите и произвежда отделни информационни РНК за всеки ген.

Двуверижни РНК вируси

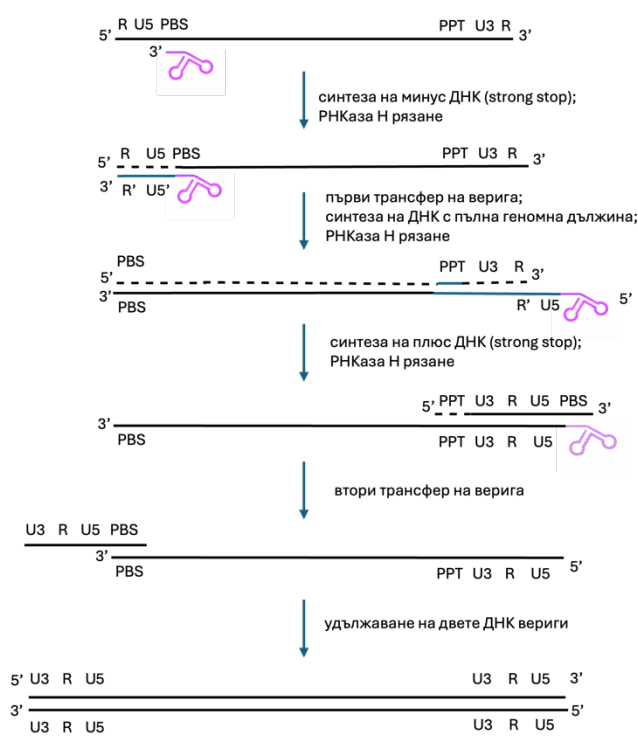
Броят на геномните сегменти при двуверижните РНК вируси варира от един до 12 в зависимост от вируса. При реовирусите геномът се състои от 10 – 12 двуверижни сегменти, всеки асоцииран с един RdRp комплекс, позволявайки паралелна транскрипция на всички сегменти във вириона. След проникване в клетката, външните капсидни слоеве се отстраняват и остава вътрешна „core“ частица, която защитава двуверижните РНК геноми и RdRp. Вътре в „core“ частицата, RdRp използва (-) веригата на всеки двуверижен РНК сегмент като матрица за синтеза на иРНК. Тази иРНК е кепирана на 5' края, което ѝ позволява след излизане през специфични канали във вириона да се транслира във вирусни белтъци. Новосинтезираната иРНК служи и като матрица за RdRp да синтезира нова (-) верига, образувайки нов двуверижен РНК геном. Новообразуваните двуверижни РНК молекули се пакетират с други вирусни компоненти образувайки зрели вириони в клетката гостоприемник.

Ретровируси

РНК генома на ретровирусите навлиза в цитоплазмата под формата на РНП комплекс, съдържащ вирусни белтъци и ензими. В този комплекс протича процесът на обратна транскрипция, при който вирусната РНК служи като матрица за синтез на линейна двуверижна ДНК. Синтезът

на ретровирусната ДНК зависи от двете ключови ензимни активности на обратната транскриптаза (RT): ДНК полимеразна активност, способна да копира както РНК, така и ДНК матрици, и РНКаза Н активност, която разгражда РНК веригата в РНК:ДНК хибрида. Както всички ДНК полимерази, RT се нуждае от праймер, който да осигури свободен 3'-ОН край за удължаване на веригата. Праймер за синтеза на минус ДНК верига, комплементарна на геномната РНК, е клетъчна тРНК (фигура 1). Тя се свързва с вирусния геном чрез сдвояване на своите 3'-крайни нуклеотида с комплементарна последователност- праймер свързващо място (primer binding site-PBS), локализирана близо до 5'-края на вирусната РНК. Геномната РНК съдържа къса повторена последователност R, разположена както в 5'-края ѝ, така и в близост до 3'-края преди поли(А) опашката; между R и PBS лежи участък U5, а непосредствено до 3' R региона – участък U3. Синтезът на минус

ДНК верига започва от 3'-края на частично разплетената тРНК, хибридиизирана към PBS, и продължава до достигане на 5'-края на геномната РНК, като се формира между нен фрагмент с дължина (около 100–150 нуклеотида) – „strong-stop“ минус ДНК верига. Частичното разграждане на РНК веригата в РНК: ДНК хибрида от РНКаза Н, позволява (–) ДНК фрагмента да се прехвърли и хибридизира към 3'-края на вирусната геномна РНК, което се отбелязва като първи трансфер на веригата. Този процес е възможен благодарение на идентичните повторени (R) последователности, присъстващи в двата края на РНК генома. След прехвърлянето на (–) ДНК фрагмента към R последователността на 3' края на вирусната РНК синтезът на минус ДНК веригата продължава, съпроводен от допълнителна, но непълна деградация на РНК матрицата от РНКаза Н. В геномната РНК остава къс полипуринов тракт (PPT), относително устойчив на РНКаза Н разграждане, който служи като праймер за синтеза на плюс ДНК верига. Тази синтеза се прекъсва след обратното транскрибиране на част от тРНК праймер и води до формиране на „strong-stop“ плюс ДНК верига. РНКаза Н отстранява тРНК праймер и освобождава (+) ДНК фрагмент, комплементарен на праймер свързващото място близо до 3'-края на минус ДНК веригата. Хибридизирането между праймер свързващите участъци в плюс ДНК и минус ДНК веригата представлява втория „strand transfer“, след което двете вериги се удължават, като всяка служи като шаблон за другата. Получената двуверижна ДНК съответства на РНК матрицата, но включва допълнителни повторени крайни участъци – дълги терминални повтори (Long Terminal Repeats- LTR), отсъстващи във вирусната РНК. Образуването на LTR изисква двата специфични прехода на полимеразата между различни участъци на матрицата (strand transfer). Това позволява правилното копиране на краищата на ДНК и създава сигналите, нужни на клетката, за да започне вирусната транскрипция. Синтезираната линейна двуверижна ДНК впоследствие се транспортира в клетъчното ядро, където краищата на LTR се свързват ковалентно с клетъчната ДНК на една от многобройните възможни интеграционни позиции под действието на вирусната интеграза. Интегрираният ДНК фрагмент (провирус) служи като матрица за синтез на вирусна РНК, идентична с геномната от РНК полимеразата II на гостоприемника. Транскрипцията се регулира от клетъчни транскрипционни фактори, свързващи се с регулаторните елементи в 5' LTR. Вирусните РНК се експортират в цитоплазмата, където сплайсването и несплайсването на транскрипти функционират като иРНК за синтез на вирусни белтъци, които се сглобяват с геномната РНК и напускат клетката чрез пъпкуване като нови вириони. След интеграцията провирусът не може да бъде изрязан от клетъчния геном и остава стабилно включен през целия жизнен цикъл на клетката.



Фиг. 1 Обратна транскрипция при ретровируси

Стратегии за генната експресия при РНК вирусите

Репликацията на РНК вирусите е тясно свързана с експресията на техните геноми. Много РНК вируси кодират множество гени върху единична геномна РНК. Поради ограниченията на еукариотната транслационна система, която транслира основно 5'-терминално разположена отворена рамка за четене (ORF), вирусите са развили различни стратегии за експресия на вътрешни ORF.

Една от тези стратегии е протеолитичното разрязване, при което един голям полипротеин се разгражда ко- и посттранскрипционно от вирус-кодирани протеази, генерирайки отделни функционални белтъци. Това води до почти равни количества от всеки белтък, като излишните могат да се натрупват като неразтворими агрегати или да се експортират в ядрото за регулаторни функции.

За да експресират вътрешни ORF, някои вируси използват механизми като прочитане на стоп кодони (readthrough) и смяна на рамката на четене (frameshift). При прочитане на стоп кодона благодарение на супресорни tРНК, рибозомата продължава транслацията, което води до синтез на белтъци с еднакъв N-край, но различен C-край, осигуряващи допълнителна функционалност. Промяната в рамката на четене (Frameshifting) позволява синтеза на сляти „fusion“ белтъци от препокриващи се рамки на четене.

Вирусите могат да регулират транслационната инициация и чрез „leaky scanning“ механизъм, при който 40S рибозомни субединици сканират 5' края на РНК, но могат да пропуснат първия старт кодон, ако той е в неподходящ контекст, и да започват транслация в по-надолу разположени ORF. Освен това, подобно на някои клетъчни РНК вирусите притежават вътрешни места за свързване на рибозомите – „internal ribosome entry sites“ (IRES), които представляват комплексни РНК структури, осигуряващи кеп-независима инициация на транслация. IRES структурите взаимодействат с транслационни фактори и РНК-свързващи протеини, които насочват транслационната машина за ефективен синтез на вирусни белтъци, включително в случаи когато кеп-зависимата транслация е инхибирана. Чрез комбинация от тези стратегии вирусите постигат ефективна експресия на всички ORF и строг контрол на нивата на белтъците през целия си жизнен цикъл.

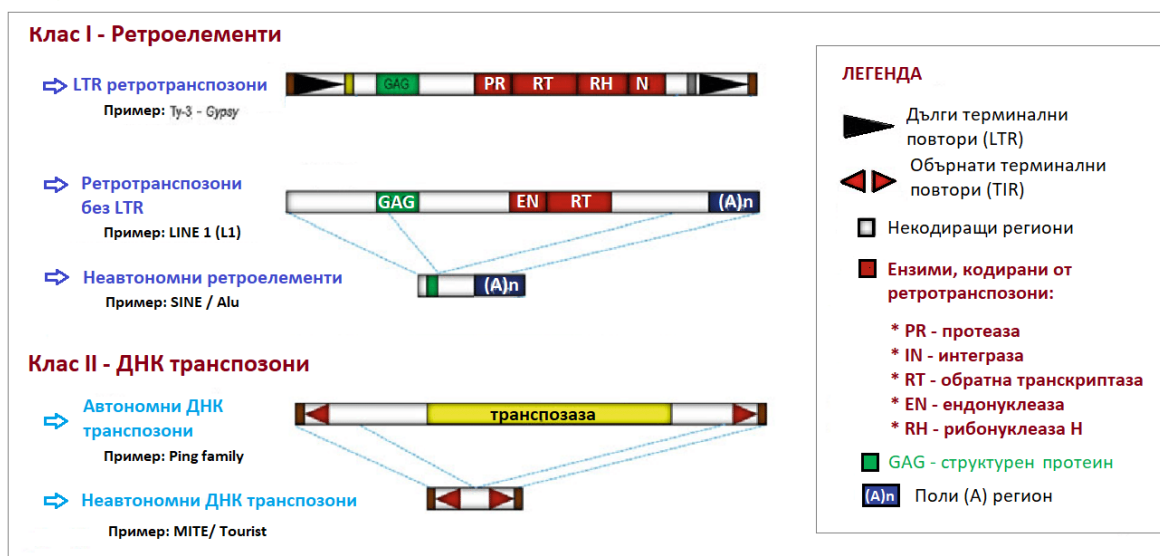
Дефиниции и класификация

Транспозоните, наричани още подвижни генетични елементи, или транспозонни елементи (ПГЕ, ТЕ) са ДНК секвенции, които имат способността да променят своето положение в рамките на генома. Открити са през 40-те години на XX век от **Барбара МакКлинтък** при изследвания върху генетиката на царевицата. Те са **универсален компонент на геномите** на всички живи организми – от бактерии до многоклетъчни еукариоти. Някои вируси много приличат на транспозони. В много еукариотни организми, включително човека, транспозоните и други секвенции произлезли от тях заемат значителна част от генома (над 45% при човека, над 80% при някои растения).

Транспозиция е процесът, при който подвижен генетичен елемент (транспозон) променя позицията си в рамките на генома. Възможна е както в една хромозома, така и между различни хромозоми. Осъществява чрез ензими, кодирани от самите транспозони.

Основна характеристика на транспозоните е, че те често носят гени за ензими, осъществяващи процеса на транспозиция (обратни транспозази, интегрази, транспозази и др. Тези ензими са различни за различните групи транспозони.

Класификацията на транспозоните се основава на **структурните им характеристики, на молекулярните механизми на транспозиция и на ензимите, които кодират (Фигура 1).**



Фигура 1. Основни групи транспозони

LTR ретротранспозоните имат дълги терминални повтори (LTR – long terminal repeats) в двата си края. Те структурно и функционално наподобяват ретровирусите. Към тази група се причисляват ендегенните ретровируси (ERV), Gypsy ретроелементите и др., а някои автори включват тук и ретровирусите като HIV вируса. При **ретротранспозоните без LTR** липсват дълги терминални повтори. **ДНК транспозоните** са широко разпространени при прокариоти, растения и животни. Обградени са от къси обърнати терминални повтори (TIRs), които са важни за придвижването им. Класификацията им е сложна и не е напълно изяснена.

Активни и неактивни, автономни и неавтономни...

Не всички транспозони кодират ензими за транспозиция. Когато ензимите, кодирани от едно транспозонно копие са функционални, транспозонът е автономен и активен, и може да се придвижва в рамките на генома. Когато транспозонът притежава гени за ензими за транспозиция, но те са повредени от мутации и не работят, той вече не е подвижен и се нарича **транспозонен фосил**. Огромна част от транспозоните и транспозонните фрагменти в човешкия геном са такива.

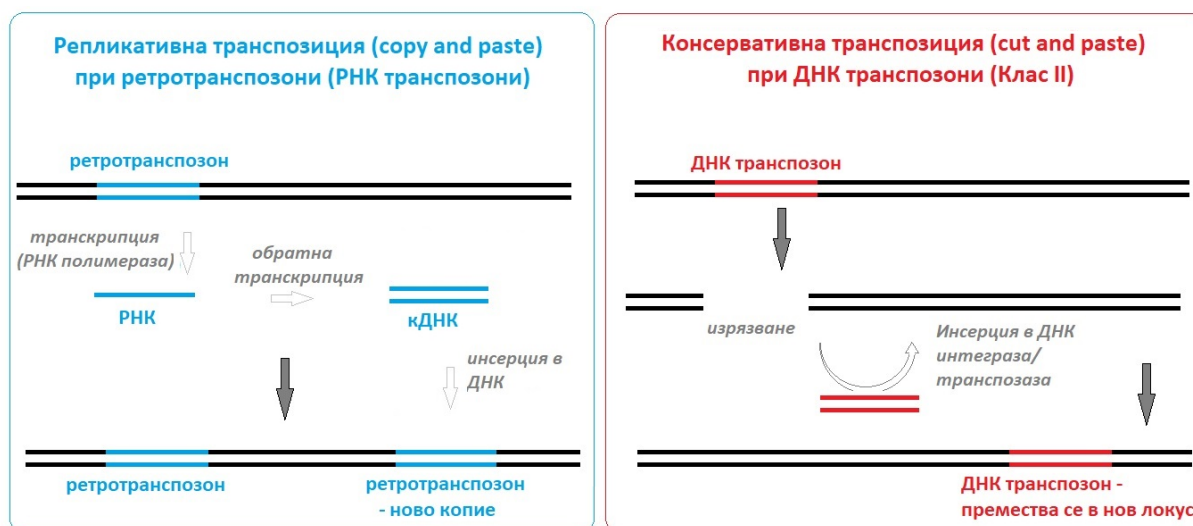
Има и транспозони, които са неавтономни (транспозони-стопаджии) – те никога не са имали ензими за транспозиция, а използват за придвижването си ензимния апарат на дадени активни транспозони. Например най-многобройният транспозон в човешкия геном – елементът *Alu*, е неавтономен транспозон от SINE групата, който използва за своето придвижване ензимния апарат на L1 транспозоните от LINE групата. Голяма група неавтономни ДНК транспозони са т.нар. MITE (Miniature Inverted Repeat Elements).

В съвременния човешки геном единствените активни транспозони са L1, няколко млади подсемейства *Alu*, както и специфичният за човека и човекоподобните маймуни хибриден *SVA* транспозон. Всички освен L1 са неавтономни „стопаджии“, ползващи неговия ензимен апарат. В човешкия геном всички LTR транспозони, както и всички ДНК транспозони са неактивни (транспозонни фосили).

Механизми на транспозиция

1. Репликативна транспозиция, или „Copy-and-Paste“. Характерна е за Клас I – ретротранспозоните (РНК транспозони). Ретротранспозонът първо се транскрибира в РНК копие от РНК полимеразата II или III, след което се презаписва обратно в ДНК и се inserтира на ново място. Ключов ензим е **обратната транскриптаза (RT)**, която синтезира копи ДНК върху РНК матрица. Тъй като оригиналното копие остава на мястото си, а новото се интегрира някъде другаде, броят на копията на транспозона се увеличава (геномна експанзия). Някои от най-„успешните“ ретротранспозони имат по хиляди, дори милиони свои копия в един геном. Това води и до увеличаване на размера на генома като цяло.

2. Консервативна транспозиция, или „Cut-and-Paste“. Характерна е за Клас II – ДНК-транспозоните. Поради този механизъм първите открити транспозони са наречени „скачащи гени“ (jumping genes). Елементът се изрязва физически от едно място в генома и се премества на друго. Ключов ензим в този процес е Транспозазата, която разпознава крайните обърнати повтори (TIRs), срязва двете вериги на ДНК и интегрира елемента на нова позиция в генома. Броят на копията в генома остава сравнително постоянен (не се увеличава директно при процеса). В донорния сайт остава двойноверижно прекъсване, което клетката трябва да поправи; там често остават следи от транспозона поради неточното му изрязване.



Фигура 2. Механизми на транспозиция

Произход на подвижните елементи

LTR-ретротранспозоните и ендемичните ретровируси (ERVs) много приличат на някои инфекциозни ретровируси. Смята се, че те споделят общ прародител, от когото са наследили ензима обратна транскриптаза. Разликата между тях е основно в гена *env* (гликопротеин на обвивката), който при ретровирусите е активен, а при ретротранспозоните липсва или е повреден и нефункционален (псевдоген).

Ретротранспозоните без LTR (напр. LINEs) се смятат за още по-древни. Тяхната обратна транскриптаза е тясно свързана с група II самосплайващи се интрони при бактериите. Предполага

се, че LINE-елементите са се появили в еукариотите още при самото зараждане на еукариотната клетка (вероятно чрез ендосимбиозата на митохондриите).

ДНК-транспозоните имат древни родствени връзки с плазмиди и бактериофаги. Структурата на много ДНК-транспозони (TIRs в краищата и ген за транспозаза) е подобна на бактериалните IS-елементи (Insertion Sequences).

Подвижните елементи в един геном могат да възникнат *de novo* от неподвижни секвенции; да бъдат предадени от един вид в друг с помощта на хоризонтален генен трансфер (ХГТ – пренос на ДНК между организми от различни видове); или да бъдат унаследени от предишното поколение (вертикален трансфер).

Теории и хипотези за ролята на транспозоните

1. Транспозоните като отпадъчна ДНК (Junk DNA)

Предложена е през 70-те години от С. Оно. Според нея некодиращата ДНК, включително и транспозоните са просто „генетичен боклук“ – неутрални последователности, които не носят нито полза, нито пряка вреда. Клетката ги пренася пасивно през поколенията, просто защото няма механизми, чрез които лесно да се освободи от тях. ПГЕ се разглеждат като еволюционни „фосили“, които постепенно губят способността си за движение поради натрупване на мутации.

2. Транспозоните като себична/егоистична ДНК (Selfish DNA)

В тази концепция, предложена от Докинс, Оргъл и Крик, транспозоните се разглеждат като молекулярни паразити – не са просто пасивен „боклук“, а активни елементи, чиято единствена цел е самовъзпроизвеждането, често за сметка на клетките на „гостоприемника“. Те се разпространяват в генома, докато негативният ефект върху гостоприемника не стане твърде голям. На свой ред, организмите се стремят да ограничат инвазията на егоистичните елементи, и са развили различни системи за защита (метиране, защита чрез малки РНК и др.), които действат подобно на геномна имунна система.

3. Природно генно инженерство: транспозоните като геномни архитекти

Тази концепция се развива във времето, като транспозоните все повече се разглеждат като ключови инструменти за реорганизация на генома и бърза адаптация при стресови условия. Още откривателката на транспозоните Барбара Макклинтък изказва революционната за времето си идея, че геномът не е статичен обект, а е „чувствителен орган на клетката“, който активира транспозоните като механизъм за пренареждане и адаптация в отговор на стрес. Идеята за транспозоните като геномни архитекти е разгърната и от Дж. Шапиро с т.нар. „**природно генно инженерство**“. Според тази концепция геномите притежават вградени механизми за саморедактиране, едни от най-важните от които са транспозоните. Те не са просто случайни мутагени, а специализирани инструменти, които клетката използва за активна реорганизация на своята ДНК. Според Шапиро, пренареждането на генома чрез транспозони е координиран процес, който може да доведе до бързи и мащабни еволюционни иновации.

4. Континуум между паразитизъм и мутуализъм

Тази концепция разглежда отношенията между транспозона и гостоприемника (клетъчния геном) като променящи се във времето и в зависимост от контекста. Когато нов транспозон попадне в генома (напр. чрез хоризонтален трансфер), той първоначално се държи като паразит – размножава се агресивно, причинява вредни мутации и клетката активно се опитва да го заглуши. С времето „войната“ между клетката и транспозона води до примирие (ко-адаптация). Клетката развива по-ефективен контрол, а транспозонът става по-малко вреден за гостоприемника си. В някои случаи клетката „опитомява“ транспозона (екзаптация) – използва негови протеини или регулаторни последователности за свои нужди. В тези случаи имаме молекулярен мутуализъм – транспозонът получава местообитание и „безплатна“ репликация, а клетката получава нова биологична функция.

Ефекти от активността на транспозоните

1. Мутагенеза и геномна реорганизация

Транспозоните са основните двигатели на генетичната вариабилност. Те могат да причинят огромно разнообразие от мутации в различен мащаб – в целия спектър от точкови мутации, през делеции и инсерции до мащабни геномни реорганизации. Активността им често е деструктивна – над 200 заболявания при човека са причинени директно или индиректно от транспозони. Например, вмъкването на транспозон (L1 или Alu) в кодираща секвенция или регулаторен регион

нарушава функцията на съответния ген. Тази **инсерционна мутагенеза** може да доведе до заболявания като хемофилия А, мускулна дистрофия на Дюшен и др. Поради високата степен на хомология помежду си, многобройните копия на ретроелементите често служат като субстрат за хомоложна рекомбинация. Това води до мащабни делеции, дупликации и инверсии, които са в основата на много наследствени заболявания и туморогенеза, но понякога, в еволюционен мащаб – и до бързо видообразуване и **геномна реорганизация**.

2. Транспозоните и епигенетиката

- **Геномна защита.** В нормални условия, повечето транспозони в геномите са заглушени чрез метилиране на ДНК или репресивни хистонови маркери. Има дори хипотеза, че **метирането на ДНК** първоначално е възникнало при еукариотите не за регулиране на собствените гени, а като имунна система за „заглушаване“ на агресивните транспозони.

В половите и зародишните клетки на животните се е развил специален клас малки некодиращи РНК, посветени на геномната защита от транспозонни инвазии – **PIWI-асоциирани малки РНК (piRNA)**. Механизмът им на действие е много сходен с CRISPR-Cas системата при бактериите. Тези малки, 24 – 31 nt РНК молекули произлизат от транспозони или транспозонни фрагменти и след транскрипцията си се свързват с PIWI-протеините (РНКазы и модификатори на хроматина). При активиране на даден транспозон, piRNA разпознава неговата иРНК секвенция, а асоциираният PIWI-протеин я нарязва и инактивира. При другия начин на действие, комплексът PIWI протеин – piRNA отива в ядрото, намира „адреса“ на активния транспозон и го заглушава, като привлича метилиращи ензими. Дефекти в piRNA системата водят до стерилитет – без тази защита, през периодите на отслабено метилиране в зародишната линия, „изпуснатите“ транспозони бързо разрушават геномите на половите клетки.

- **Епи-транспозонна хипотеза.** Според тази хипотеза, в периоди на стабилност клетката поддържа транспозоните в силно метилирано, „заглушено“ състояние чрез епигенетични механизми. При природен катаклизъм, рязка промяна в климата и др., тези епигенетични бариери отслабват – екологичният стрес води до клетъчен и геномен стрес, а стресът – до глобално деметилиране и „отключване“ на транспозоните. Това създава вълна от разнообразни нови мутации. Повечето от тях са вредни и много индивиди загиват, но малка част създават нови уникални фенотипни свойства и комбинации, които са ключът към оцеляване в новата среда. Следва бърза поява на нови генотипове и фенотипове (адаптивна радиация). След нормализиране на условията, епигенетичният контрол се установява отново в новата равновесна точка. Епи-транспозонната хипотеза е много добро молекулярно обяснение за скокообразния характер на еволюцията (прекъснато равновесие, *punctuated equilibrium*).

3. Примери за функционални (опитомени) транспозони

- **Регулаторни модули.** LTR повторите на ретротранспозоните носят силни промотори и енхансери, които често активират съседни гени като норма ии като патология. Над 25% от човешките гени (особено свързаните с метаболизъм, имунитет, сигнална трансдукция) ползват като основни или алтернативни промотори секвенции, произлизащи от LTR. Alu-елементите пък носят готови или криптични сайтове за сплайсинг, за свързване на транскрипционни фактори и микроРНК, и имат потенциал да интегрират гени в сложни регулаторни мрежи.

- **Дълги некодиращи РНК.** Голяма част от дългите некодиращи РНК (lncRNA) в човешкия геном произлизат директно от подвижни елементи (напр. HERVs, LINE-1 и Alu). Някои от тези lncRNA са жизненоважни за поддържането на еухроматиновата или хетерохроматиновата структура на хроматина, други участват в организирането на глобалната триизмерна структура на хроматина.

Някои РНК транскрипти с произход от транспозони могат да изпълняват и важни специфични функции за организма като **поддържането на плурипотентността на стволовите клетки**. HERV-H са ретротранспозони, които се експресират преференциално в човешките ембрионални стволови клетки. Там HERV-H функционира като ядрена дълга некодираща РНК (lncRNA), ключова за поддържане на тяхната плурипотентност.

- **Теломерите и теломеразата.** Каталитичната субединица на теломеразата TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) има структурна и функционална хомология с обратната транскриптаза на ретротранспозоните без LTR. Двата ензима имат много сходни консервативни домейни за синтез на ДНК върху РНК матрица.

Някои организми (напр. винената мушица *Drosophila*) дори нямат теломераза, а самите теломери се поддържат директно чрез насочена транспозиция на специфични ретротранспозони (HeT-A и TART).

- **Синцитинът – плацентата, имуносупресията и живораждането.** Протеинът синцитин, който е жизненоважен за сливането на клетките и формирането на синцитиотрофобласта на плацентата, е всъщност „опитомен“ **env** протеин от древен ендегенен ретровирус (HERV-W). При вирусите **env** протеините предизвикват сливането на обвивката на вируса с мембраната на клетката. Тази функция е опитомена от бозайниците при „изобретяването“ на плацентата. Синцитият действа като плътна физическа бариера, която не позволява антителата на майката да проникнат и да атакуват плода. Допълнително, опитоменият **env** протеин носи имуносупресорен домейн (ISD), който блокира пролиферацията на Т лимфоцитите и NK клетките от имунната система на майката, и променя цитокиновия ѝ профил към по-голяма толерантност. Още по-интересно, оказва се че ендегенни ретровируси са били опитомявани с цел плацентация независимо няколко пъти при по-големите групи плацентни бозайници – гризачи, хищници, преживни и примати (конвергентна еволюция). Без този важен транспозонен протеин живораждането при бозайниците не би било възможно.

- **Рекомбинация в имунната система.** Гените **RAG1** и **RAG2**, които извършват V(D)J рекомбинацията при генерирането на антителата в В и Т лимфоцитите, са тясно свързани с ДНК транспозоните. Ендонуклеазата **RAG1** е произлязла от **транспозаза** на древен „опитомен“ ДНК транспозон. Тя разпознава специфични къси региони в генома на предшественика на лимфоцита (RSS секвенции), които пък са наследени от TIRs – обърнатите терминални повтори на ДНК транспозоните. **RAG2** няма директна връзка с транспозоните, но е епигенетичен детектор и стабилизатор на **RAG1** – контролира точния момент от жизнения цикъл на лимфоцита, в който да се извърши рязането. Дефекти в тези два гена са свързани с тежък комбиниран имунодефицит (SCID).

- **Синаптичната пластичност, паметта и ученето:** Протеинът **Arc**, който е ключов за синаптичната пластичност и формирането на дългосрочната памет при бозайниците, произлиза от **gag** – капсиден протеин на LTR ретротранспозон от семейството Gypsy, който е бил интегриран в генома на нашите предшественици преди стотици милиони години. Подобно на вирусните си хомолози, **Arc** протеините се самосглобяват в кухи капсули (капсиди), в които „пакетират“ собствената си иРНК, други иРНК, микроРНК и дори lncRNA. Подобно на вирусна инфекция, тези капсиди се изнасят от неврона чрез мехурчета (екзосоми) и се пренасят до съседни клетки, където освобождават своя товар, позволявайки пренасяне на сложни информационни пакети между невроните. Това „опитомено“ вирусно свойство е фундаментално за способността на мозъка да реорганизира своите невронни мрежи и е в основата на дългосрочната памет и ученето. Много от мутациите в **Arc** протеина или неговия промотор са летални, а тези които не са, са асоциирани с тежка интелектуална недостатъчност, шизофрения, биполарно разстройство и др.

Заклучение

Съвременното виждане за транспозоните е, че те не са просто генетичен товар за клетките, а могат да бъдат ключови елементи за еволюционните иновации, способни са да променят и реконструират геномите, както и да подлежат на функционално опитомяване (екзаптация) – свойства, важни за геномната гъвкавост и бързата адаптация на видовете при променящи се условия.

Векторите са един от най-важните елементи при клониране и експресия на хетероложни гени. По дефиниция, вектор е всяка ДНК молекула, способна да осъществи насочен пренос на генетична информация, като осигури: репликация чрез *ori* сайт (осигурява размножаване на вектора независимо от генома на клетката-гостоприемник); възможност за клониране на чужда ДНК чрез MCS или други методи (позволява вграждане на целевия ген, Gene of Interest – GOI); и селекция на трансгенни от нетрансгенни организми чрез селективен маркер (дава възможност да се изберат само клетките, приели вектора).

Въз основа на своя произход, векторите се подразделят на плазмидни, вирусни/фагови, фагмиди, космиди и изкуствени хромозоми.

Класификация и основни компоненти на векторите

Векторите се класифицират по редица признаци като произход и капацитет за клониране, поведение в клетката-топология и др. Плазмидните вектори са производни на бактериални плазмиди (кръгови двДНК) и имат капацитет за клониране на чужди фрагменти до 3 – 4 kb. Те се използват за рутинно клониране и експресия на протеини. Фаговите вектори са базирани на вирусни секвенции и могат да клонират фрагменти до 30 – 35 kb (приместителни вектори), което ги прави подходящи за разработване на геномни ДНК библиотеки. Фагмидите са хибридни плазмидни вектори с включен фагов *ori* сайт (напр. *f1 ori*), които запазват капацитета на плазмидите, но позволяват получаване на едноверижна ДНК за секвениране или сонди. Космидите са плазмидни вектори, включващи фаговите *cos* краища на фаг ламбда, и са проектирани да клонират големи фрагменти до 45 kb, използвани също за геномни ДНК библиотеки. Най-голям капацитет имат изкуствените хромозоми (ВАС – бактериални и YAC – дрождеви), които се прилагат за картиране на големи геноми, например човешкия. Според предназначението си векторите могат да бъдат подразделени на клониращи и експресионни. Клониращите вектори са предназначени за изолиране, размножаване, субклониране и секвениране на ДНК фрагменти. Те не предполагат задължително експресия на клонирания ген. Типични представители са pBR322, pUC и pBluescript SK⁺/– (следва да се даде кратко описание на един от векторите и да се представи диаграма на организацията му). Експресионните вектори от своя страна са проектирани така, че клонираният ДНК фрагмент да се транскрибира и транслира в белтъчен продукт. Те съдържат промотори, рибозомно-свързващи сайтове, терминатори и често регулаторни елементи за контрол на експресията. Всички те изискват клониране в определена ориентация и спазване на рамката на четене на зададена от промотора. Пример за такъв вектор е pKK233-2 (следва да се даде кратко описание на вектора и да се представи диаграма на организацията му).

Според капацитета си за конюгативен трансфер плазмидните вектори биват конюгативни и неконюгативни. Конюгативните плазмиди притежават способност да се предават от една бактериална клетка на друга чрез бактериална конюгация. Това свойство има значение както за експерименталната ефективност, така и за биобезопасността. Неконюгативните плазмиди не могат самостоятелно да се пренасят между клетки. Поради по-ниския риск от хоризонтален генен трансфер те са предпочитани в лабораторната практика.

Според модела на функциониране векторите могат да бъдат подразделени както следва:

- Автономни вектори – съдържат всички необходими елементи за репликация и функциониране в клетката-гостоприемник.
- Бинарни вектори – изискват допълнителен помощен вектор за правилното си функциониране.
- Коинтегративни вектори – функционират чрез рекомбинация между два различни вектора, които поотделно не са автономни.

Всеки вектор, независимо от типа следва да притежава няколко основни генетични елемента. Първият е началото на репликация (*ori*-сайт), който отговаря за инициране на процеса на репликация и е пряко участва в контрола на броя копия на плазмидите в клетката. Броят копия на плазмидите зависи също и от размера на плазмидната молекула, като зависимостта е обратно пропорционална. Например, pBR322 *ori* осигурява малък до среден брой копия, около 15 – 20,

докато мутираният pMB1 ori (използван в pUC) осигурява голям брой копия, около 500 – 700. Векторите се делят на такива със слаб контрол (висок брой копия, напр. pUC) и строг контрол (нисък брой копия, напр. pSC101). Вторият компонент е селективен ген, който обикновено кодира устойчивост към антибиотик (AmpR, TetR, KmR и др.) и се използва за селекция на трансгенни от нетрансгенни бактерии. Третият ключов елемент е множественият сайт за клониране (MCS). Това е къса област от вектора, в която са клъстерирани няколко уникални рестрикционни сайта. MCS служи като място за инсертиране на чуждата ДНК и често е локализиран в рамките на втори селективен или репортерен ген, което позволява скрининг на рекомбинанти чрез инсертна инактивация или синьо-бяла селекция.

Плазмидни вектори: Класически примери и механизми

Плазмидните вектори са най-често използвани поради лесната им поддръжка, добив във високи количества и удобство за работа.

Вектор pBR322. Векторът pBR322 е един от първите популярни плазмидни вектори, създаден през 1977 г. Той е с размер 4361 bp и има ori от pBR322 ori, който осигурява малък до среден брой копия. Основна негова характеристика е, че носи два гена за устойчивост: AmpR (ампицилин) и TetR (тетрациклин). Всеки от тези гени може да бъде инактивиран чрез инсерция; например, инсертирането на ДНК фрагмент с *Bam*HI или *Hind*III инактивира TetR гена. Тази характеристика позволява инсертна инактивация за скрининг на рекомбинанти. Недостатъците на pBR322 включват неговата конюгативност (потенциален риск за хоризонтален генен трансфер), ограничени възможности за клониране, поради малкото уникални рестрикционни сактове и сравнително по-нисък добив на ДНК в сравнение с по-новите вектори.

Векторите pUC са с по-малък размер (2686 bp) и са неконюгативни. Те използват pUC ori (мутирал pMB1 ori), който осигурява голям брой копия (около 500-700) и висок добив на плазмидна ДНК. За разлика от pBR322, pUC19 има само един селективен ген – AmpR. За скрининг на рекомбинанти се използва синьо-бяла селекция чрез lacZ ген, кодиращ alpha-субединицата на beta-галактозидазата, който е прекъснат от MCS при успешно клониране (При представяна на тази част следва да се представи фигура илюстрираща картата на вектора pUC19).

Фагмиди – вектори pBlueScript II SK+/-

Това са хибриди вектори (фагмиди) с размер 2961 bp, които имат pUC ori и AmpR ген (подобно на pUC) и използват синьо-бяла селекция. Ключов фагов елемент е включването на fl ori-сайт на бактериофага fl. Наличието на този ori позволява, при инфекция с помощен фаг, клонираната двойноверижна ДНК да бъде пакетирана и получена като еднOVERИЖНА ДНК, което е важно за секвениране или получаване на ДНК сонди. Векторът също така разполага с два фагови промотора (T3 и T7), фланкиращи MCS, които дават възможност за *in vitro* синтез на РНК от клонирания фрагмент.

Фагови вектори и космиди

Фаговите вектори са разработени за клониране на по-големи ДНК фрагменти, необходими при изграждане на геномни библиотеки. Бактериофаг lambda е типичен фаг с „глава и опашка“ и литичен/лизогенен цикъл. Геномът му е 49 kb, линеен, с cos сайтове в краищата. Cos сайтовете са 12 bp еднOVERИЖНИ краища, които са комплементарни и позволяват ковалентно затваряне на ДНК след инжектирането в *E. coli*. Те са и места за нарязване от А протеина (ендонуклеаза), който генерира индивидуални фагови геноми от дългите ДНК вериги по време на пакетирането. Фаг-lambda може да толерира ДНК фрагменти, които са с около 10% по-дълги или по-къси от нормалния му геном. Заместителните вектори (напр. EMBL4) използват концепцията за заместване на ненужен за литичния цикъл фрагмент (stuffer регион) с чужда ДНК, което увеличава капацитета за клониране до 25 kb.

Космидите са хибридни вектори, които съчетават характеристиките на плазмидите и фаговите вектори. По същност те са плазмидни вектори, модифицирани с два cos края на фага lambda. Космидът се държи като плазмид в *E. coli*, но може да бъде пакетирани като фагов геном. Ключовият механизъм е, че фаговият пакетирания механизъм на lambda фага разпознава два cos сайта и пакетира ДНК между тях, което позволява *in vitro* пакетирание на голям ДНК фрагмент. Основното предимство е клониране на фрагменти до 45 kb, което ги прави идеални за създаване на геномни ДНК библиотеки.

Клониране в плазмидни вектори, скрининг и селекция на рекомбинанти

Класическият подход за клониране използва ензимите рестриктази за нарязване и ДНК лигаза за свързване и протича в няколко етапа: подготовка на векторната и чуждата ДНК, лигиране, трансформация, селекция и скрининг.

Селекция на трансформанти. Целта е да се изолират само бактериалните клетки, които са приели ДНК молекула (трансформанти), което се постига чрез селективния ген на вектора (напр. AmpR). Култивирането на твърда среда, съдържаща съответния антибиотик, осигурява прорастването само на клетките, приели плазмидна ДНК (трансгенни).

Скрининг за рекомбинанти. Скринингът е критичната стъпка за различаване на нерекомбинантните плазмиди (самозатворен вектор) от рекомбинантните плазмиди (вектор с инсертиран GOI).

Инсертна инактивация. Този метод разчита на наличието на втори селективен ген (напр. TetR в pBR322), чиято функция се инактивира (прекъсва) при инсертирането на чуждата ДНК в рамките му. Използва се фактът, че включването на чужда ДНК в рамките на гена за устойчивост към антибиотик (напр. TetR) води до промяна в аминокиселинната последователност на кодиращия протеин, което го прави нефункционален. Процедурата (пример pBR322) започва със селекция, където трансформантите се посяват на среда с ампицилин и всички прорасли колонии са AmpR. Следва скрининг чрез реплика (копиране на колониите) на втора среда, съдържаща тетрациклин. Нерекомбинантните клонове (празен вектор) са с генотип AmpR, TetR и прорастват и на двете среди, докато рекомбинантните клонове (с инсерт) са с генотип AmpR, TetS и прорастват само на ампицилин. Рекомбинантните клонове са тези, които не са прораснали на тетрациклин, поради инактивацията на TetR гена.

Синьо-бяла селекция. Този метод се използва при вектори като pUC и pBluescript, където клонирането се извършва в MCS, разположен в рамките на lacZ репортерния ген. Принципът се основава на α -комплементация, където векторният lacZ ген кодира α -субединицата на β -галактозидазата, допълвайки дефекта на бактериалния щам гостоприемник. Когато плазмидът е празен, се формира функционален ензим. Инсертирането на чуждата ДНК в MCS прекъсва lacZ рамката на четене, като по този начин деактивира ензима β -галактозидаза.

Процедурата включва посевка на среда, съдържаща селективен антибиотик (Amp), X-gal (безцветен хромогенен субстрат) и IPTG (индуктор). Нерекомбинантните клонове (празен вектор) имат активна β -галактозидаза, която разгражда X-gal, образувайки синьо съединение. Рекомбинантните клонове имат неактивна β -галактозидаза и колониите остават бели. Белите колонии се избират като вероятни рекомбинанти. Този подход е по-ефективен и бърз от инсертната инактивация, тъй като не изисква пренасяне на колониите на втора селективна среда (При представяне на тази част следва да се представи фигура илюстрираща синьо-бяла селекция).

Получаването на индивидуални ДНК клонове представлява фундаментален и концептуално определящ елемент на съвременната молекулярна биология и генното инженерство. Чрез изолирането, поддържането и възпроизводимото анализиране на отделни ДНК фрагменти в подходящи векторни и хост-системи става възможно детайлното изследване на структурата, функцията и регулацията на гените. Тези подходи са в основата на функционалната геномика, молекулярната медицина, индустриалната биотехнология и синтетичната биология.

Геномни и копи ДНК библиотеки

Геномните библиотеки представляват представителни колекции от рекомбинантни клонове, които съвкупно обхващат целия геном на даден организъм. Те включват както кодиращите гени, така и не кодиращите региони – интрони, промоторни области, енхансери, терминатори и интергенни последователности. Основната цел на геномната библиотека е да осигури дългосрочен и стабилен достъп до всяка геномна последователност, независимо от това дали съответният ген се експресира, в каква тъкан и при какви физиологични условия. Поради тази причина геномните библиотеки са особено ценни за структурен анализ на генома, за идентифициране на регулаторни елементи и за сравнителна геномика.

Първата и критична стъпка при разработването на геномна библиотека е изолирането на висококачествена, високомолекулярна геномна ДНК. Изискванията към този етап са строги, тъй като механичните срязвания и химичните увреждания могат да доведат до фрагментация и загуба на информация. Изолираната ДНК се подлага на частично рестрикционно третиране с една или повече рестрикционни ендонуклеази. Частичната рестрикция има за цел да генерира припокриващи се ДНК фрагменти с различна дължина, което осигурява пълно покритие на генома и минимизира риска даден ген да бъде разрязан на нефункционални части.

След рестрикционната обработка ДНК фрагментите се фракционират по размер чрез агарозна гел-електрофореза. Изборът на фрагменти с определена дължина е пряко свързан с използвания вектор. За клониране на малки фрагменти (до няколко килобази) могат да се използват плазмидни вектори, докато за по-големи участъци се предпочитат фагови вектори, космиди, бактериални изкуствени хромозоми (BAC) или дрождеви изкуствени хромозоми (YAC). След лигиране на геномните фрагменти във вектора се извършва трансформация или трансдукция в подходяща хост-система, най-често *E. coli* или *Saccharomyces cerevisiae*. Всеки получен бактериален или дрождев клон съдържа различен фрагмент от генома, а съвкупността от всички клонове образува геномната библиотека. Следва да се представи фигура, илюстрираща получаването на геномна ДНК библиотека.

Съществено свойство на всяка геномна библиотека е нейната пълнота или представителност, която се дефинира като вероятността всеки ген или геномен участък да бъде представен поне в един клон. Теоретично необходимият брой клонове зависи от големината на генома, средния размер на вмъкнатите фрагменти и желаната вероятност за пълно покритие. В практиката това налага работа с голям брой клонове и използване на високоефективни методи за трансформация и скрининг.

Копи ДНК библиотеките представляват принципно различен тип библиотеки, тъй като те отразяват само експресираната част от генома. Изходният материал за тяхното създаване е информационната РНК, изолирана от определена тъкан, орган или клетъчна популация при конкретни физиологични или експериментални условия. Това означава, че кДНК библиотеката съдържа само онези гени, които се транскрибират към момента на изолиране на РНК, като липсват интрони и повечето регулаторни не кодиращи последователности.

Изолирането на РНК изисква особено внимание поради високата чувствителност на РНК молекулите към действието на рибонуклеази. За получаване на висококачествена РНК се използват строги условия, включващи инактивиране на РНази и работа в стерилна среда. Тъй като информационната РНК представлява само малка част от тоталната РНК, често се прилага обогатяване на мРНК чрез използване на олиго(dT) конюгирани носители, които се свързват със специфичната поли(А) опашка на еукариотните мРНК.

След изолирането на мРНК се извършва синтез на първата кДНК верига чрез обратна транскрипция. Процесът се катализира от обратна транскриптаза и изисква праймер, който може да бъде олиго(dT), случаен хексамер или ген-специфичен олигонуклеотид. След частично или пълно отстраняване на РНК матрицата се синтезира втората ДНК верига с участието на ДНК полимеразата. Получената двуверижна кДНК се подлага на допълнителни ензимни обработки за получаване на подходящи краища за клониране. Следва да се представи фигура, илюстрираща получаването на кДНК библиотека.

кДНК библиотеките имат редица предимства, особено когато целта е експресия на еукариотни гени в прокариотни системи. Липсата на интрони позволява директен синтез на функционален белтък, без необходимост от сплайсинг. От друга страна, кДНК библиотеките не съдържат информация за регулаторните елементи на гените и не отразяват пълната геномна организация, което ограничава тяхното приложение при определени типове анализи.

Скрининг на библиотеки

Скринингът на геномни и копиДНК (кДНК) библиотеки представлява ключов етап в генното инженерство, тъй като позволява идентифицирането и изолирането на конкретни гени или клонове с желани функционални характеристики. Независимо от типа библиотека, целта на скрининга е да се открият онези рекомбинантни клонове, които съдържат целевата ДНК последователност или експресират съответния белтъчен продукт. Изборът на подходящ метод за скрининг зависи от естеството на библиотеката, характеристиките на търсения ген и наличната информация за неговата структура или експресия.

Скринингът на геномните библиотеки най-често се базира на анализ на ДНК ниво. За разлика от тях, кДНК библиотеките представляват прилагането както на нуклеин-киселинни, така и на експресионно-базирани методи за скрининг.

Критичен фактор при всички подходи е представителността на библиотеката, т.е. вероятността търсеният ген да присъства поне в един клон. Поради големия брой клонове, особено при геномните библиотеки, скринингът изисква ефективни, чувствителни и специфични методи.

Най-широко използваните подходи за скрининг на геномни и кДНК библиотеки са хибридизационните методи, базирани на комплементарното свързване между нуклеинови киселини. Те изискват наличието на сонда – маркирана ДНК или РНК последователност, хомоложна на търсения ген.

Друг метод за скрининг е т. нар colony и plaque хибридизация. При този подход бактериалните колонии (или фагови плаки) се реплицират върху мембрана, след което клетките се лизират и ДНК се фиксира върху носителя. Мембраната се инкубира с белязана сонда, която се хибридизира със съответните комплементарни клонове. Положителните сигнали позволяват директна идентификация на клоновете, съдържащи целевата последователност. Този метод е приложим както за геномни, така и за кДНК библиотеки и е особено ефективен при наличие на предварителна информация за нуклеотидната последователност на гена.

Когато библиотеката е конструирана в експресионен вектор, е възможно скринингът да се извърши на протеиново ниво. Това е характерно предимно за кДНК библиотеки, при които целта е изолиране на ген, кодиращ определен белтък. В този случай може да се използва Western blot. При Western blot скрининга рекомбинантните протеини се експресират в host системата (обикновено *E. coli*), разделят се чрез SDS-PAGE и се детектират с помощта на специфични антитела. Този метод позволява не само идентификация на положителните клонове, но и оценка на молекулното тегло и експресионното ниво и стабилността на белтъка.

Получаване на индивидуални клонове, чрез PCR

Друг подход за получаване на индивидуални клонове е използването на полимеразна верижна реакция. Тя представлява мощен и широко използван метод за получаване на индивидуални ДНК клонове по целенасочен начин. PCR позволява селективна амплификация на конкретна ДНК последователност, дефинирана от два праймера, които фланкират целевия регион. Методът се основава на циклично повтарящи се етапи на денатурация на двойноверижната ДНК, анелиране на праймерите и елонгация на новосинтезираните вериги от термостабилна ДНК полимеразата.

Изборът на полимеразата е от решаващо значение за последващото клониране.

Класическата Taq ДНК полимеразата притежава способността да добавя по един несдвоен аденинов остатък в 3'-края на PCR продукта. Тази характеристика, първоначално считана за не-

достатък, се превръща в основа на Т/А клонирането. За разлика от нея, високоточните (high fidelity) полимерази не добавят такива надвеси, което изисква допълнителни ензимни стъпки при подготовката на PCR продукта за клониране.

Клонирането на PCR продукти в pGEM-T Easy е класически пример за Т/А клониране. Векторът pGEM-T Easy е линеен плазмиден вектор с предварително добавени 3'-тиминови нуклеотиди, които са комплементарни на 3'-адениновите краища на PCR продукта. Това позволява ефективно и ориентационно независимо лигиране без необходимост от рестрикционна обработка на амплифицирания фрагмент. Следва да се представи фигура, илюстрираща вектора и клонирането в него.

Векторът съдържа репликационен произход от типа pUC, което осигурява висок брой копия в бактериалната клетка, както и ген за резистентност към ампицилин, използван за селекция на трансформирани клетки. Допълнително, в зоната на клониране е разположен lacZ α фрагмент, който позволява прилагането на синьо-бяла селекция. Вмъкването на чужд ДНК фрагмент прекъсва рамката на lacZ α , което води до образуване на бели колонии върху хранителна среда, съдържаща X-gal и IPTG.

След лигирането рекомбинантните плазмиди се въвеждат в компетентни клетки на *E. coli* чрез химична трансформация или електропорация. Получените колонии се подлагат на селекция и скрининг, а положителните клонове се анализират допълнително чрез PCR, рестрикционен анализ или секвениране. По този начин се потвърждава наличието, размерът и интегритетът на клонируания фрагмент.

Получаването на индивидуални ДНК клонове чрез описаните подходи създава основата за последващи функционални, структурни и експресионни изследвания. Геномните и кДНК библиотеките осигуряват глобален и систематичен достъп до генетичната информация, докато PCR-базираното клониране предоставя бърз и целенасочен инструмент за изолиране на конкретни гени. Комбинацията от тези методи формира ядрото на съвременните генно-инженерни стратегии и продължава да бъде ключов двигател за развитието на биологичните и биомедицинските науки.

Молекулните маркери представляват специфични участъци от ДНК, които показват ясно различима генетична вариация между индивиди, популации или видове и могат да бъдат надеждно идентифицирани чрез молекулярно-биологични методи. Те служат като генетични „етикети“, позволяващи проследяване на наследствената информация, независимо от фенотипните признаци и влиянието на факторите на околната среда.

В молекулярната екология ДНК маркерите се използват, като основен инструмент за изследване на генетичната структура и динамика на популациите в естествени условия. Чрез тях се анализира генетичното разнообразие в рамките и между популациите, оценява се нивото на генен поток и генетична диференциация, както и влиянието на екологични фактори върху генетичната организация на организмите. Маркерите позволяват също да се реконструират еволюционни процеси като миграции, изолация, адаптация и селекция.

Молекулните маркери намират широко приложение при идентифициране на видове и подвидове, установяване на родствени връзки, анализ на размножителни системи и определяне на произхода на индивиди или популации. В контекста на опазването на биоразнообразието, те се използват за идентифициране на генетично застрашени популации, за оценка на ефектите от фрагментация на местообитанията и за подпомагане на стратегии за управление и съхранение на природните ресурси.

Молекулните маркери могат да бъдат класифицирани по различни критерии, в зависимост от техните генетични характеристики, начина им на унаследяване, степента на вариабилност и методите, използвани за тяхното откриване и анализ. Тези класификации имат важно методологично значение, тъй като позволяват целенасочен избор на подходящ тип маркер в зависимост от конкретния изследователски въпрос в областта на молекулярната екология.

Важна класификация на ДНК маркерите се базира на геномната им локализация. В този контекст се разграничават ядрени и органелни молекулни маркери. Ядрените маркери се намират в ядрената ДНК и се унаследяват от двамата родители, което ги прави особено подходящи за анализ на популационна структура, генен поток и рекомбинационни процеси. Органелните маркери, локализирани в митохондриалната или пластидната ДНК, обикновено се унаследяват еднородителски и се използват за проследяване на еволюционни линии, историческа демография и филогеографски модели.

Молекулните маркери могат да бъдат класифицирани и според тяхната мутационна динамика и степен на генетична вариабилност. Маркери с ниска честота на мутации са по-подходящи за изследване на дългосрочни еволюционни процеси и дълбоки филогенетични връзки, докато маркери с висока мутационна честота предоставят по-фина резолюция и са предпочитани при анализ на близкородствени индивиди, съвременна популационна структура и краткосрочни екологични процеси.

Допълнителен критерий за класификация е методът на детекция и използваната лабораторна технология. В зависимост от подхода се разграничават маркери, базирани на различия в дължината на ДНК фрагменти, маркери, основани на нуклеотидни замени, както и маркери, идентифицирани чрез директно секвениране на определени геномни региони. Развитието на високопроизводителните геномни технологии значително разширява възможностите за използване на молекулни маркери и позволява анализ на големи набори от данни с висока точност.

Молекулните маркери могат да бъдат разглеждани и от гледна точка на тяхното приложение в научните изследвания. В зависимост от това, дали целта е идентификация на видове, анализ на родствени връзки, оценка на генетичното разнообразие или изследване на адаптивни и еволюционни процеси, се избират маркери с различна информативност и аналитичен потенциал.

Един от най-съществените критерии за класификация се основава на начина на унаследяване и възможността за разграничаване на алелите. По този критерий, молекулните маркери се разделят на кодоминантни и доминантни. Кодоминантните маркери позволяват едновременно идентифициране на двата алела при хетерозиготни индивиди, което осигурява детайлна информация за генетичната структура на популациите и позволява прецизна оценка на хетерозиготността и генетичното разнообразие. Доминантните маркери, от друга страна, дават информация

единствено за наличието или отсъствието на даден алел за конкретен локус, което ограничава генетичната резолюция, но често ги прави по-лесни за прилагане и икономически по-достъпни.

Кодоминантни маркери:

Микросателити (SSR – Simple Sequence Repeats, Прости повтарящи се последователности)

Микросателитите, известни още като прости повтарящи се последователности или микросателитна ДНК, представляват едни от най-ценните кодоминантни молекулни маркери в съвременната екологична и популационна генетика. Те се състоят от тандемно повтарящи се мотиви от 1 до 6 базови двойки, разпределени по цялата дължина на генома, както при прокариотни, така и при еукариотни организми. Тези последователности образуват полиморфни локуси, при които различните индивиди в популацията притежават различен брой повторения на един и същ мотив, което води до висока степен на генетично разнообразие и позволява прецизна идентификация и генотипизиране.

Микросателитите показват висока степен на полиморфизъм благодарение на голямата им мутабилност. Мутациите често са резултат от приплъзване на ДНК полимеразата по време на процеса репликация. Този висок полиморфизъм прави микросателитите особено полезни за разграничаване между близкородствени индивиди и популации. Като кодоминантни молекулни маркери, микросателитите позволяват едновременно идентифициране на двата алела при хетерозиготни индивиди за изследваните локуси, като по този начин осигуряват точна и надеждна генотипизация на индивидите по отношение на тези локуси. Макар че имат тенденция към хомоплазия, т.е. явление, при което алели с еднакъв брой повторения (еднакъв размер) се появяват в различни индивиди, но не са хомоложни по произход, техният висок полиморфизъм ги прави изключително полезни за популационни генетични проучвания. Тази маркерна техника намира широко приложение при анализ на генетичното разнообразие между различни популации, изследване на популационната структура и измерване на генния поток между географски разделени популации. Прилагат се при проучвания в областта на репродуктивната екология, включително определяне на бащинство, разбиране на сложните системи за чифтосване в дивите популации, както и в криминалистиката. Многобройните приложения включват идентификация на индивиди за задълбочени екологични проучвания, както и оценка на ефективния размер на популацията. Тяхната способност за надеждно разграничаване на близкородствени популации ги прави полезни, при изследване на метапопулационната динамика и при оценка на последствията от фрагментацията на местообитанията, върху генетичната структура на видове.

Секвениране на целеви ДНК региони

Секвенирането на целеви ДНК региони представлява определяне на точната нуклеотидна последователност в избрани участъци от генома с цел анализ на вариации, идентифициране на мутации или генетична характеристика на индивида или популацията. За разлика от други ДНК маркери, които измерват размер или просто наличие на полиморфизъм, ДНК последователностите предоставят точната информация за базовата композиция на даден ДНК регион. Те позволяват прецизна идентификация на еволюционните връзки между различните алели, поради факта че мутациите веднъж придобити се запазват и се предават в потомството. Кодоминантната им природа позволява хетерозиготите ясно и недвусмислено да се различават от хомозиготите. Поради способността да разкриват точните еволюционни отношения между алелите, нуклеотидните последователности са изключително полезни за филогенетични проучвания и при калибриране на молекулярни часовници. Тъй като различни геномни региони имат различни нива на изменчивост, в зависимост от типа на селекция е възможно да се избере подходящ регион за изследване на нивото на еволюционно време, което е от интерес за конкретния проект.

ДНК последователностите намират широко приложение при разбиране на популационните процеси, включително механизмите на генетичния дрейф и действието на естествения отбор. Те са полезни при филогеографски проучвания, позволявайки прецизна реконструкция на исторически модели на дисперсия и популационно разширяване на ареалите в миналото. Определяне на нуклеотидните последователности в определени геномни региони е изключително важно при изучаване на видообразуване и при идентифициране на протекла хибридизация между индивиди принадлежащи на различни видове. При екологични проучвания ДНК последователностите мо-

гат да се използват за идентификация на видове чрез ДНК баркодинг, както и за проучване на болестотворни и паразитни организми.

RFLP маркери (Разлика в дължината на рестрикционните фрагменти, Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFLP маркерите се основават на вариации в дължината на ДНК фрагментите, получени след разрязване с конкретни рестрикционни ензими. Рестриктазите са ензими, които разпознават и режат специфично ДНК в определени (обикновено палиндромни) нуклеотидни последователности. Ако в определен регион има полиморфизъм, който създава или елиминира място за рязане от ензима, различните индивиди ще притежават различни по размер ДНК фрагменти след ензимното третиране.

RFLP анализът започва с екстракция на тотална ДНК от образца. Екстрахираната ДНК се подлага на рязане с една или повече рестриктази. Различните индивиди могат да имат различия в местата на разпознаване, поради вариации на нуклеотидните последователности, което да доведе до получаване на различни рестрикционни профили. Получените фрагменти се разделят чрез гел-електрофореза и се визуализират чрез оцветяване с етидиев бромид. Размерите на фрагментите се определят чрез сравнение със стандартен ДНК маркер. Един от основните недостатъци на традиционните RFLP техники е необходимостта от голямо количество ДНК, с високо качество. Този проблем е елиминиран с разработването на PCR-RFLP метода, който комбинира предварително намножаване на целеви регион чрез PCR (работа с минимални количества ДНК) с последваща рестрикционна обработка. Този подход е по-целенасочен, по-практичен и по-икономичен от анализ на цялата геномна ДНК.

RFLP маркерите са кодоминантни молекулярни маркери, които позволяват разграничаване на хомозиготни и хетерозиготни генотипи при изследваните индивиди. В миналото RFLP маркерите са били широко използвани в молекулярната екология и са изиграли съществена роля в развитието на популационната генетика. Въпреки това, те имат редица ограничения. Полиморфизмът, който могат да разкрият е ограничен до наличието на вариации в рестрикционните сайтове. Освен това, методът е трудоемък и времеемък, особено при обработката на голям брой проби. Разработването на RFLP маркери за нов вид обикновено изисква предварително познаване на нуклеотидната последователност на целевия геномен регион.

RFLP маркерите имат историческо значение в развитието на молекулярната екология и остават полезни за конкретни приложения. Те могат да се използват при анализ на популационната генетика и при изследване на генетичната диверсификация между различни популации. Маркар че все по-често биват заменени от други, по-съвременни методи, те намират приложение в редица проучвания, поради надеждност и яснота при интерпретация на резултатите.

SNP маркери (Единични нуклеотидни полиморфизми, Single Nucleotide Polymorphism)

SNP маркерите са вариации в ДНК секвенциите, които са резултат от промяна на един единствен нуклеотид в определена позиция на ДНК. SNP се среща, както в кодиращи, така и в не кодиращи региони на генома, като по-често са локализирани в не кодиращите участъци (интрони, промотори и интергенни региони). Честотата им е изключително висока (един SNP на всеки 100 – 300 базови двойки в човешкия геном), което ги прави най-разпространените генетични варианти. Въпреки че SNP обикновено имат само два алела за локус, големия им брой във всеки геном компенсира ниската им информативност. SNP разположени в близост до гени или в геномни региони, наследявани съвместно с тях, могат да служат, като индиректни маркери за генотипизиране и за изследване на връзката между генетични варианти и фенотипни признаци. Функционалните SNP в кодиращи региони могат да променят аминокиселинната последователност на протеините чрез миссенс или нонсенс мутации, да нарушат сплайсинг сайтове или регулаторни елементи, като по този начин да повлияят белтъчната функция, стабилност или ниво на експресия.

SNP маркерите са кодоминантни молекулярни маркери, които позволяват директно определяне на генотипите на изследваните индивиди. Поради широкото си разпространение в генома, те представляват изключително богат източник на информация за генетичната вариационност. Анализът на SNP е сравнително прост и в значителна степен подлежи на автоматизация. Благодарение на наличието на специализирани бази данни, голям брой SNP вече са идентифицирани

и добре охарактеризирани. SNP маркерите се отличават с висока възпроизводимост и ниски нива на грешки при генотипизация, особено при използване на съвременни технологични платформи.

SNP маркерите намират широко приложение в молекулярната екология, стимулирано от бързото развитие на технологиите за масово генотипизиране. Те се използват при анализи в популационната генетика, включително за оценка на генетичната диверсификация и популационната структура. SNP маркерите са приложими и при изследване на процесите на естествения отбор, тъй като позволяват идентифициране на генетични варианти с потенциално функционално значение. Освен това те са ценен инструмент при анализ на протекла хибридизация и интрогресия между близкородствени видове. SNP маркерите намират все по-широко приложение и в изследванията на адаптивната генетика и механизмите на местна адаптация.

Доминантни маркери

RAPD маркери (Случайно амплифициране на полиморфна ДНК, Random Amplified Polymorphic DNA)

RAPD маркерите се получават чрез PCR реакция с къси (обикновено десет базови двойки) праймери. Праймерите се свързват комплементарно, на случайни места в генома на конкретния индивид в различни позиции. Всеки праймер може да се свърже на множество места по протежението на генома, но само тези места, които са достатъчно близо едно от друго и в противоположна ориентация, ще доведат до получаване на продукт. Полученият профил от амплифицирани фрагменти отразява разпределението на местата за свързване на праймерите в генома на дадения индивид.

RAPD анализът е относително прост за провеждане и не изисква предварително познание на геномните последователности. Индивидите с идентични профили на получените ивици се приемат за генетично идентични по тези локуси, докато индивидите с различни модели показват наличие на генетични различия.

RAPD маркерите са доминантни маркери, което означава, че хетерозиготите не могат да се различат от хомозиготите на базата на наличието или отсъствието на ивица. Те изискват минимален предварителен анализ – не е необходимо предварително познание на последователностите на целевия организъм. Анализът е бърз и относително икономичен. Обаче RAPD маркерите имат значителни недостатъци, които ограничават тяхното използване. Липсата на възпроизводимост е основен недостатък на техниката – различни лаборатории или дори различни PCR машини могат да дадат различни резултати от един и същ образец, поради колебания в концентрацията на ДНК, параметрите на PCR програмата, производителя на реагентите и редица други технически фактори. ДНК ивиците с различни размери по презумпция се приемат като продукт от амплификация на различни локуси.

RAPD маркерите имат историческо значение в развитието на молекулярната екология, но в значителна степен са заменени от по-надеждни техники. Те все още намират изолирани приложения при генетични сравнения, особено за идентификация на диагностични маркери за конкретни видове или фенотипни признаци. Тяхната основна полза днес е, като предварителен скрининг, като инструмент за изучаване на генетичното разнообразие преди прилагане на по-скъпи и трудоемки методи.

AFLP маркери (Полиморфизъм в дължината на амплифицираните фрагменти, Amplified Fragment Length Polymorphism)

AFLP маркерите комбинират елементи на рестрикционно рязане на ДНК и PCR амплификация, осигурявайки хибриден подход, който позволява генериране на множество маркери. ДНК се реже с две различни рестриктази, които режат отместено и водят до получаване на лепливи краища. Къси адаптори с известна нуклеотидна последователност се свързват към стърчащите краища на ДНК фрагментите. След това, специфични праймери, които се свързват към адаптора, се използват в PCR амплификацията. Чрез подходящо подбиране на праймерните секвенции и допълнително добавени към тях селективни нуклеотиди, може да се постигне амплификация на избрано подмножество от рестрикционните фрагменти, което да доведе до генериране на сложен модел от множество ДНК фрагменти.

AFLP маркерите представляват доминантни молекулярни маркери с висока информативност, тъй като при анализ на един образец могат да се детектират десетки до стотици ивици,

което води до получаването на богати и уникални генотипни профили. Те се характеризират с по-висока възпроизводимост в сравнение с RAPD маркерите. AFLP маркерите не изискват предварително познание на нуклеотидните последователности на анализирания организъм. Тази маркерна техника позволява да се генерират данни от множество локуси едновременно, което позволява бърза оценка на генетично разнообразие. Недостатъци на техниката е нейната доминантност, техническата сложност и факта, че не е лесно да се подложи на автоматизация. Прилагането на AFLP маркери за нови видове е относително скъп и трудоемък процес.

AFLP маркерите намират широко приложение при анализ на популационната генетика, включително оценка на генетичната диверсификация и популационната структура на различни видове. Те са полезни при определяне на нови видове и при разграничаване на криптични видове, които са морфологично неразличими. AFLP маркерите могат да се използват при проучвания на еволюционни отношения между близки таксони. Тяхната способност да генерират множество маркери едновременно ги прави полезни при анализ на хибридизационни събития и произходи между близкородствени видове.

Сравнителен анализ и избор на маркери

Успешното приложение на молекулни маркери в екологични и еволюционни изследвания изисква внимателен избор на подходящ тип маркер, в зависимост от изследователския проблем, биологичните характеристики на изследвания организъм и наличните технически и финансови ресурси. Кодоминантните маркери позволяват директно определяне на генотипите и изчисляване на алелните честоти, което ги прави особено подходящи за популационно-генетични анализи. Микросателитите остават сред най-често използваните маркери, поради високата си мутационна честота и генетична информативност. Анализът на ДНК последователности предоставя детайлна информация за еволюционните взаимоотношения между таксони, докато SNP маркерите намират все по-широко приложение в резултат на напредъка в технологиите за генотипизиране. Доминантните маркери въпреки, че не позволяват пълна генотипизация, могат да бъдат полезни при първичен скрининг на голям брой проби или при специфични приложения, като идентифициране на видове.

Молекулярните маркери представляват незаменим инструмент в съвременната екологична генетика, тъй като позволяват по-задълбочено разбиране на популационните процеси, еволюционните механизми и взаимодействието между генетиката и екологията. Кодоминантните маркери, по-специално микросателитите и ДНК последователностите, предоставят най-детайлна информация за генетичната структура и динамика на популациите. Доминантните маркери, въпреки своите ограничения, запазват значимостта си при определени специфични приложения. Бъдещето на молекулярните маркери ще зависи от продължаващото развитие на молекулярно-генетичните технологии и от нарастващите потребности на екологичните изследвания.

1. Бази данни

Биологичните бази данни представляват организирани хранилища за биологична информация, поддържани в стандартизиран формат и предназначени за дългосрочно съхранение, търсене и анализ на данни. Те обхващат широк спектър от молекулярни обекти и нива на организация – ДНК и РНК секвенции, протеинови последователности, цели геноми, транскриптоми, метагеномни набори от данни и т.н. Стандартизацията (формати, идентификатори, контролирани речници и метаданни) е ключова, защото позволява интегриране на резултати от различни лаборатории и платформи.

В практиката се разграничават два основни типа бази данни и съдържание:

- Първични данни – експериментални резултати в суров или минимално обработен вид (напр. секвенции, прочити, сурови сигнали).
- Вторични данни – добавена стойност чрез анотации, анализи и прогнози (напр. функционални бележки, предсказани домени, таксономична класификация, структурни модели).

Съвременните бази данни обикновено поддържат връзки между различни „слоеве“ информация: секвенция → ген/транскрипт → протеин → функция/сигнални пътища → фенотип, което улеснява биоинформатичните анализи и интерпретацията на резултатите.

Една от най-използваните инфраструктури в областта е базата данни на NCBI (National Center for Biotechnology Information), който поддържа и интегрира голям брой публични биологични бази данни и инструменти за търсене и анализ. Сред тях централно място заема GenBank – публична база данни за нуклеотидни секвенции (ДНК/РНК) от различни организми, която се актуализира регулярно и се попълва от изследователи по целия свят чрез процеси на подаване, валидация и анотация.

GenBank записите се публикуват в стандартизиран формат, който съдържа ключови раздели от метаданни и структурирано описание на секвенцията. Класическият GenBank формат включва три основни раздела:

- Заглавна част (header) – идентификатори, източник, дължина, молекулен тип, таксономия, референции към публикации и др.
- Характеристика (features) – анотации за гени, кодиращи региони (CDS), екзони/интрони, регулаторни елементи, продукти и бележки; използват се координати и квалификатори.
- Секвенция (sequence) – самата нуклеотидна или аминокиселинна последователност, представена в четим вид (обикновено с номерация).

В заглавната част често се срещат полета като LOCUS (име и базова информация), DEFINITION (кратко описание), ACCESSION и VERSION (номер за достъп и версия), SOURCE/ORGANISM (източник и таксономия) и REFERENCES (връзки към публикации). Разделът FEATURES използва стандартизирани ключови думи (напр. gene, CDS, mRNA) и квалификатори (напр. /product, /gene, /protein_id), което позволява автоматизирано извличане на кодиращият регион (CDS) и превод в аминокиселинна последователност при нужда.

Поради публичния и кумулативен характер на GenBank, качеството и полезността на данните зависят както от автоматизираните проверки, така и от човешкото анотиране за коректността на подадените метаданни. В реални анализи често се комбинират данни от GenBank с други ресурси (напр. RefSeq за референтни записи), което намалява риска от дублиране и несъответствия.

Сравняването на секвенции, извлечени от такива бази данни, позволява да се откриват хомологии, еволюционни връзки и функционални сходства. На базата на сходството може да се правят обосновани изводи за произход, консервативни мотиви, домени и потенциална функция, особено когато се използват добре анотирани референтни последователности.

В практиката биологичните бази данни се отличават и по степен на обработка: първичните хранилища съхраняват сурови секвенции и експериментални резултати, докато вторичните ресурси добавят експертна анотация, референтни набори и интерпретативни слоеве (напр. функци-

онални анотации, доменни предсказания, варианти и клинични интерпретации). Тази многослойност позволява едновременно проследимост към първоизточника и лесна употреба за анализи.

Ключов организационен механизъм е използването на уникални идентификатори (напр. номер за достъп – accession number), които гарантират еднозначно намиране и цитиране на записите и позволяват версии при актуализации. Обикновено към секвенцията се прикрепят много метаданни: таксономия, източник (организъм/тъкан), метод на секвениране, публикация, лабораторен протокол и бележки за качество.

Стандартизирани формати подпомагат обмена между инструменти и платформи. Освен GenBank формат и FASTA, широко се използват GFF/GTF за геномни анотации, както и BED за координатни набори. Съгласуваните описания улесняват автоматизирани процеси за анотация и сравнителна геномика.

NCBI предоставя интегриран достъп чрез системата Entrez, която свързва взаимно бази данни за секвенции, гени, протеини, литература и таксономия. Сред често използваните ресурси са:

- RefSeq – референтни последователности за гени, транскрипти и протеини, подходящи за стандартизирани сравнения.
- SRA (Sequence Read Archive) – сурови прочити от масово паралелно секвениране (NGS), полезни за повторен анализ и мета-анализи.
- GEO (Gene Expression Omnibus) – експресионни данни (напр. микрочипове, RNA-seq), свързани с експерименти и метаданни.
- dbSNP – вариации, (еднонуклеотидни полиморфизми, SNP), клинични интерпретации и доказателства за връзка с фенотипи.
- Taxonomy и Assembly – таксономична рамка и асемблирани цели геноми (assemblies).

Паралелно с NCBI съществуват и други международни инфраструктури: EMBL-EBI (Европа) и DDBJ (Япония), които обменят данни с GenBank в рамките на INSDC, а специализирани ресурси като UniProt (протеини) и PDB (структури) осигуряват допълнителни слоеве за анализ и интеграция. На практика изследователите комбинират няколко бази данни според целта – например бърза идентификация (колекции) или висока надеждност на анотацията (референтни набори).

2. Алайнмънт

Алайнмънтът (сравняване) на биологични секвенции е фундаментален метод в биоинформатиката, чрез който две или повече последователности се подреждат така, че да се максимизира съпоставимостта между хомоложните позиции. Целта е да се идентифицират съвпадения, консервативни региони, инсерции и делеции, които отразяват мутационни процеси и еволюционни събития.

При сравняване на двойка секвенции (pairwise) подравняването класическите оптимални методи се базират на динамично програмиране (напр. Needleman–Wunsch за глобално и Smith–Waterman за локално подравняване). Те гарантират оптимален резултат спрямо избраната схема за оценка, но са по-изчислително тежки при големи бази данни.

При протеинови секвенции „съвпадение“ не се свежда само до идентичност. Често при протеини се използва понятието сходство (similarity), което отчита консервативни замествания (напр. левцин ↔ изолевцин) чрез матрици за заместване като PAM и BLOSUM. Изборът на матрица влияе на чувствителността към близки или далечни хомологии.

Multiple sequence alignment (MSA) обикновено се реализира чрез евристични подходи (напр. прогресивно подравняване и итеративно уточняване), защото точният оптимум е трудно постижим при много секвенции. MSA е ключов вход за извеждане на консенсусни последователности, откриване на мотиви, филогенетично моделиране и оценка на селективен натиск.

В отчетите за алайнмънт е полезно да се разграничават: (1) идентичност (identity), (2) сходство (similarity) и (3) покритие (coverage). Висока идентичност при ниско покритие може да означава съвпадение само в кратък домен, докато умерена идентичност при високо покритие често е по-информативна за функционална близост. Освен това сходство се наблюдава само при сравняване на протеини.

Основните елементи при алайнмънта са:

- Съвпадение (match) – еднакви нуклеотиди/аминокиселини на съответни позиции; обикновено носи положителен принос към резултата и откриването на хомоложни региони.
- Несъвпадение (mismatch) – различни символи на съответни позиции; отразява заместване (мутация).

- Дупки/пропуски (gaps) – Изкуствено въведен празен символ (–), който позволява по-добро подравняване; въвеждат се, за да моделират инсерции и делеции (индели).

По обхват се различават два основни подхода:

- Глобален алайнмънт (global alignment) – подравнява последователностите по цялата им дължина; подходящ, когато те са сходни и сравними като размер.
- Локален алайнмънт (local alignment) – намира най-добре съвпадащите региони (сегменти) в рамките на по-дълги секвенции; полезен при наличие на домени, консервативни мотиви или при различни дължини.

По брой секвенции се разграничават:

- Pairwise alignment – подравняване на две секвенции, често за оценка на сходство, идентификация и бърз анализ.
- Multiple sequence alignment (MSA) – подравняване на множество секвенции; позволява откриване на консервативни позиции, изграждане на филогенетични дървета и моделиране на домени/мотиви.

Приложенията на алайнмънта са разнообразни: идентификация на неизвестни гени и протеини чрез сравнение с известни последователности; откриване на функционални домени и активни центрове; оценка на вариации и мутации; анализ на еволюционни връзки; изготвяне на филогенетични дървета; дизайн на праймери и сонди; подготвителна стъпка за структурно моделиране и анотация на геноми. Изборът между локален и глобален подход, както и между pairwise и multiple подравняване, се определя от биологичния въпрос, очакваната степен на сходство и наличните данни. Локалният алайнмънт е в основата на търсенето в бази данни и на програмата BLAST.

3. BLAST

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) е група от алгоритми и онлайн услуги за бързо търсене на локални сходства между секвенции. Вместо да прави изчерпателен (и бавен) оптимален алайнмънт с всички записи, BLAST използва евристичен подход: открива кратки съвпадащи фрагменти, разширява ги до локални алайнмънти и оценява статистическата значимост на резултатите. Това позволява ефективно сканиране на големи бази данни.

При интерпретация на резултатите ключови показатели са:

- Score – числови оценки за качеството на подравняването.
- E-value – очакван брой случайни съвпадения със същия или по-добър резултат; по-ниска стойност означава по-значим резултат.
- Percent identity и coverage – процент идентичност и покритие на заявката.

Съществуват пет основни варианта на BLAST според типа на заявката (query) и типа на базата данни (database), като всеки има типични приложения:

- blastn – нуклеотидна заявка срещу нуклеотидна база; използва се за идентификация на ДНК/РНК фрагменти, проверка на праймерни продукти, търсене на близки хомолози и контаминации.
- blastp – протеинова заявка срещу протеинова база; подходящ за функционална анотация на протеини, откриване на домени и оценка на еволюционна близост при аминокиселинни последователности.
- blastx – нуклеотидна заявка, преведена във всички рамки, срещу протеинова база; полезен при откриване на потенциални кодиращи региони в транскрипти/континги и при анотация на нови геноми.
- tblastn – протеинова заявка срещу нуклеотидна база, преведена във всички рамки; използва се за намиране на гени/ортолози в геномни секвенции, когато протеинът е по-консервативен от ДНК последователността.
- tblastx – нуклеотидна заявка, преведена във всички рамки, срещу нуклеотидна база, също преведена; най-чувствителен при отдалечени хомологии на кодиращи региони, но е и най-ресурсоемък.

Таблица 1. Типовете BLAST според заявката и базата данни, както и необходимостта от превод между нуклеотидни и аминокиселинни последователности.

Вид BLAST	Тип заявка (query)	Тип база данни (database)	Конверсия/превод (nt ↔ aa)
blastn	Нуклеотидна (ДНК/РНК)	Нуклеотидна база	Не. Сравнение nt ↔ nt.
blastp	Протеин (aa)	Протеинова база	Не. Сравнение aa ↔ aa.
blastx	Нуклеотидна (ДНК/РНК)	Протеинова база	Да. Заявката се превежда (6 рамки) nt → aa.
tblastn	Протеин (aa)	Нуклеотидна база	Да. Базата се превежда (6 рамки) nt → aa.
tblastx	Нуклеотидна (ДНК/РНК)	Нуклеотидна база	Да. И заявката, и базата се превеждат nt → aa (6×6); най-ресурсоемък.

При избор на база данни често се прави компромис между обхват и надеждност. Колекции като nr/nt са максимално обхватни, но съдържат дублирания и различно качество на анотациите. Анотирани набори (напр. RefSeq или Swiss-Prot) са по-„чисти“ и по-подходящи за функционално заключение, но може да пропуснат редки/нови варианти.

Настройките на BLAST влияят съществено върху чувствителността и специфичността. Филтрирането на ниска комплексност (напр. повтарящи се региони) намалява фалшивите попадения, а ограничения по таксономия помагат да се тества конкретна хипотеза (например търсене на хомолози само в бактерии). За къси последователности често е необходимо да се коригират големината на фрагментите и E-value прага, за да не се пропускат реални съвпадения.

Типични приложения на BLAST в научната и приложната практика включват:

- Идентификация на неизвестна секвенция (ген/транскрипт/протеин) чрез най-близки хомолози и функционални анотации.
- Проверка за контаминация и смесени проби (например бактериални или векторни последователности).
- Локализиране на гени в геномни контиги (особено чрез tblastn/blastx) и подпомагане на геномна анотация.
- Откриване на ортолози/паралози и подбор на маркерни гени за филогенетични анализи.
- Подкрепа при дизайн на праймери чрез проверка за специфичност.

Ограничение е, че BLAST оценява статистическа значимост спрямо конкретната база данни и не гарантира функционална еквивалентност. Високото сходство може да се дължи на споделен домен, а не на еднаква биологична роля; затова често се комбинира с доменни бази (напр. Pfam), анализ на консервативни мотиви и филогенетична проверка.

Практическият работен процес често включва избор на подходяща база (напр. нуклеотидни колекции, RefSeq, специализирани геномни набори), настройка на параметри (праг за E-value, филтри за ниска комплексност, ограничения по таксономия) и последваща експертна интерпретация. Важно е да се оценят както статистическите метрики, така и биологичният контекст – например дали високата идентичност се отнася до кратък консервативен мотив или до значима част от секвенцията.

Комбинацията между добре поддържани биологични бази данни (като ресурсите на NCBI/GenBank), коректно избран тип алайнмънт и адекватно използване на BLAST позволява надеждна идентификация и анотация на секвенции, формулиране на хипотези за функция и произход и ускоряване на изследователския процес. В този смисъл биоинформатичните инструменти не заменят експеримента, но значително подобряват планирането му и извличането на смисъл от натрупаните молекулярни данни.

За да се минимизират грешни интерпретации, добрата практика е BLAST резултатите да се потвърждават с допълнителни критерии – биологична правдоподобност на анотациите, доменна архитектура на протеините, консистентност с филогенетични анализи и, при възможност, експериментална верификация. Така базите данни и методите за сравняване на секвенции се превръщат в надеждна основа за вземане на решения при анотация на геноми, сравнителна геномика и молекулярна диагностика и др.

Въведение и фундаментални принципи на експерименталния дизайн

При планирането на биологичен експеримент от първостепенно значение е неговото структуриране по начин, който да позволява получаването на ясен и еднозначен отговор на конкретен биологичен въпрос. Експерименталния дизайн включва изготвянето на детайлен и прецизно описан план, който следва да бъде окончателно подготвен преди започването на същинската експериментална работа. Разглежданият научен проблем трябва да бъде анализиран комплексно, като се отчитат не само биологичните, но и организационните, методологичните и етичните аспекти на изследването. Такъв многопластов подход, гарантира научната валидност, възпроизводимостта и етичната коректност на експеримента.

Всеки успешен експеримент започва с ясно формулирана хипотеза, добре дефиниран дизайн и солидна теоретична подготовка. Планът на експеримента може да бъде структуриран съгласно т.нар. правило на „петте К“: Кой ще проведе експеримента, Какво представлява изследваният биологичен проблем, Къде ще се осъществи експерименталната работа, Кога ще бъде реализирана и завършена и Как ще бъдат приложени избраните методи и извършени съответните анализи.

От съществено значение е изясняването на научния контекст чрез задълбочена литературна справка, обхващаща съществуващите научни публикации по темата. Анализът на литературата позволява да се установи, какво е постигнато до момента, дали са провеждани сходни експерименти и по какъв начин настоящото изследване може да допринесе за разширяване на съществуващото научно познание. В този процес използването на надеждни и утвърдени научни източници е от съществено значение.

Планирането на експеримент предполага прецизно обмисляне на всички етапи от научното изследване, като се отчитат нужните ресурси, сроковете за изпълнение, ангажираният персонал, апаратурата, както и необходимите реагенти и консумативи. Следва да бъдат обмислени и потенциалните затруднения, както и възможните стратегии за тяхното преодоляване. Тъй като идеални експерименти не съществуват, важно е да се постигне баланс между оптималния експериментален дизайн и реалните практически възможности. Инвестирането на време и усилия в етапа на планиране, води до по-надеждни и информативни резултати, както и до по-ефективно използване на ресурсите и избягване на неоправдани разходи.

Хипотеза, планиране и вариране в биологичните системи

Първата и фундаментална стъпка в планирането на всеки експеримент е формулирането на ясна, точна и конкретна хипотеза. Невъзможно е да се изгради добре структуриран експериментален дизайн без ясно дефиниране на изследователския проблем. Хипотезата представлява логически обосновано твърдение, относно функционирането на изследваната експериментална система и следва да бъде подкрепена с теоретични аргументи и предходни научни данни. В контекста на статистическото тестване, нулевата хипотеза обикновено предполага липса на статистически значима разлика или ефект, докато алтернативната хипотеза допуска наличието на статистически значима промяна. При експериментални изследвания, насочени към установяване на ефект или зависимост, основната цел е отхвърлянето на нулевата хипотеза в полза на алтернативната въз основа на емпиричните данни.

Провеждането на пилотно проучване е съществен етап преди реализацията на основния експеримент. То позволява прецизиране на изследователските цели и оптимизиране на експерименталната методология, включително протоколите за събиране и обработка на данни. Добре планираното пилотно изследване допринася за максимална ефективност на основната фаза на експеримента и да избегнем потенциални проблеми, които могат да се появят впоследствие.

Във всеки биологичен експеримент изследваните образци неизбежно се различават помежду си по всеки един показател от интерес. Основна задача на експерименталния дизайн е минимизирането или контролирането на вариациите, дължащи се на фактори, които не са обект на изследване. Тези вариации, често определяни като случаен шум, могат да прикрият реалните ефекти на изследваните фактори. Целта е да можем да проследим ефектите единствено на тези

фактори, които са обект на нашето проучване. Критичното мислене и научният скептицизъм са неотменими компоненти при формулирането и оценката на хипотези. За да бъде една хипотеза научно убедителна, тя трябва да бъде подложена на строг критичен анализ и да издържи на проверка от научната общност.

Биологичните системи се характеризират със значителна сложност и вариабилност, поради което измерваните стойности на даден признак могат да варират съществено между отделните експериментални единици. Контролирането на тази вариация е ключов аспект за справяне със случайните отклонения и за постигане на надеждни резултати. Анализът следва да се основава на представителна извадка, която адекватно отразява характеристиките на изследваната популация, а не на единични наблюдения. При подбора на експерименталните единици трябва стриктно да се спазват принципите на рандомизацията, с цел ограничаване на систематичните пристрастия и на независимостта на повторенията, за да се гарантира статистическата валидност на анализа.

Повторения, рандомизация и контрол на объркващите фактори

Ключов аспект за справяне с варирането в биологичните изследвания е анализът на група от независими експериментални образци, а не само на един отделен индивид. Повторенията, известни като реплики, са от фундаментално значение в биологичните и молекулярно-биологичните експерименти. Анализът следва да се основава на независими експериментални единици, произхождащи от изследваната популация, тъй като в противен случай съществува риск от възникване на псевдоповторение (псевдорепликация), което може да създаде подвеждащо впечатление за адекватен обем от данни. Псевдоповторението представлява често срещан източник на грешки в експерименталния дизайн и възниква, например, когато множество измервания върху един и същи индивид се третира, като независими наблюдения.

Всички статистически анализи, прилагани в биологичните експерименти, се основават на наличието на повторения. Те формализират концепцията, че с увеличаването на броя на наблюденията намалява вероятността установените ефекти да се дължат на случайни фактори. Наличието на адекватен брой реплики повишава надеждността и статистическата достоверност на експерименталните данни и създава предпоставки за откриване на закономерности. Увеличаването на броя на повторенията води до по-голяма увереност, че наблюдаваните разлики са резултат от изследваните фактори, а не от случаен шум. Оптималният брой повторения следва да бъде определен въз основа на очаквания размер на ефекта и желаната статистическа мощност на експеримента.

Рандомизацията представлява ефективен подход за контролиране на влиянието на случайните вариации и за ограничаване на систематичните пристрастия. Измерванията и разпределението на експерименталните единици трябва да се извършват на случаен принцип. При експериментален дизайн, включващ контролна и експериментална група, измерванията не бива да се провеждат последователно първо в едната, а след това в другата група, тъй като това може да въведе систематична грешка. Чрез рандомизацията се осигурява равна вероятност всяко измерване да се отклонява в положителна или отрицателна посока от средната стойност, поради случайна вариация.

Ако искаме да проучим влиянието на една независима променлива върху зависима променлива, трябва да се уверим, че няма други фактори (объркващи фактори), които изкривяват резултатите. При добре планиран експеримент тези объркващи фактори могат да бъдат елиминирани или контролирани. Блокирането е метод, при който разделяме експерименталните единици в блокове, така че всяка група съдържа субекти със сходни характеристики по отношение на контролираната променлива. В рамките на всеки блок, експерименталните единици се разпределят на случаен принцип между изследваните групи. Този подход позволява контролиране на значителните вариации в резултатите и е особено подходящ за теренни проучвания и клинични изпитвания.

Експериментални дизайни и контролни групи

При планирането на експеримент е необходимо да бъдат отчетени редица ключови елементи, сред които наличието на контролни групи, нивата на третиране и факторите на влияние. Един от най-опростените и широко използвани експериментални дизайни е напълно рандомизиран дизайн. Той намира често приложение в лабораторни изследвания, при които условията са строго контролирани и позволяват минимизиране на нежеланото вариране. Този тип дизайн е подходящ и в ситуации, при които се очаква висок процент на отпадане на експериментални

единици по време на изследването. Напълно рандомизираният дизайн, обаче е по-малко ефективен в случаи с изразено вариране между експерименталните субекти, при което е необходимо прилагането на по-прецизни експериментални подходи. При сдвоения (paired) дизайн експерименталните единици първоначално се групират в двойки, въз основа на сходни характеристики, след което всяка двойка се разпределя на случаен принцип между съответните експериментални условия. Този подход осигурява по-добра съпоставимост между изследваните единици и значително намалява влиянието на индивидуалните различия. Друг вариант е вътресубектният (within-subject) дизайн, при който една и съща експериментална единица последователно преминава през различни третираня във времето. В този случай сравнението се извършва между състоянията на един и същ субект в различни моменти, а не между различни индивиди. Сплит-плот (split-plot) дизайнът представлява допълнителен тип експериментален дизайн, приложим при изследвания, включващи повече от един експериментален фактор и се използва широко в селскостопанските и агрономическите изследвания.

Контролните групи заемат централно място в биологичните експерименти, тъй като осигуряват референтна основа за интерпретация на резултатите от експерименталните интервенции. Общоприет принцип е, че всеки експеримент следва да включва подходящи контроли. Дори когато контролните условия не са строго дефинирани е необходимо, наличието на референтен стандарт за сравнение. Отрицателната контролна група представлява група, при която не се прилага никакво третиране, което позволява определяне на естественото ниво на изследваната променлива. Положителната контролна група включва експериментални единици, подложени на стандартно или утвърдено третиране, с цел сравнение на ефектите на различни интервенции. Историческата контрола се основава на използването на предварително събрани данни от литературни източници, като референтна информация, особено приложима в ситуации, при които съществуват етични ограничения за провеждане на нови контролни експерименти. Успоредната контрола комбинира използването на отрицателни и положителни контролни групи, анализирани едновременно с експерименталната група.

Изборът на експериментален дизайн следва да бъде съобразен с формулираната научна хипотеза, спецификата на изследваната биологична система и наличните ресурси. Например, при експериментален дизайн с два фактора е възможно да се анализира не само индивидуалното влияние на всеки фактор върху зависимата променлива, но и наличието на взаимодействие между факторите, т.е. дали ефектът на единия фактор зависи от нивото на другия.

Събиране, записване и анализ на данни

Събирането на данни трябва да отговаря на строги методологични принципи, които гарантират надеждността и валидността на получената информация. Измервателните уреди трябва да се калибрират според спецификациите на производителя и да се проверяват редовно. Точността и прецизността са различни понятия, които трябва да разграничаваме. Точността се отнася до това, дали измерванията са правилни и съвпадат с реалната стойност, докато прецизността се отнася до последователността и повторимостта на измеренията.

Важен момент е минимизирането на влиянието на времето като объркващ фактор. Начинът, по който се събират и записват данните, може да варира във времето, защото хората не са машини и начинът на работа може да се промени, поради умора или други фактори. По същия начин, двама различни изследователи могат да записват едни и същи резултати по различен начин, което може да доведе до отклонения. Ако е възможно броят на хората, провеждащи един конкретен експеримент, трябва да бъде минимизиран. В случаите, когато това не е възможно, защото експериментът изисква работа в екип, трябва да се приемат стратегии за намаляване на вариациите, като стандартизиране на методите и обучение на всички участници по определен протокол.

Ефективното записване на данни с помощта на компютърни технологии е препоръчително, но трябва да вземем предвид, че и машините могат да се повредят. Данните трябва да бъдат записвани поне на две-три различни места, за да се избегне тяхната загуба. Воденето на лабораторен дневник следва определени правила и служи като доказателство за извършената работа. Важно е да има ясно дефинирани и категоризирани правила за отнасяне към всяка възможна категория, ако такова вариране е възможно.

При експериментален дизайн с контролна и експериментална група, рандомизацията е изключителна важна за избягване на систематични отклонения. Измерванията трябва да се провеждат рандомизирано, а не първо за всички контролни и след това за всички експериментални еди-

ниции. Трябва да се избягва прекомерното натоварване, защото умората увеличава вероятността от човешки грешки. Никога не трябва да се съхраняват данни само в едно копие.

Изборът на експериментален дизайн и статистическите методи за анализ на събраните данни са взаимосвързани и трябва да бъдат добре обмислени преди стартирането на експеримента. Достатъчно време трябва да се отдели за предварително проучване, за да се демонстрира, че възможните отклонения и неточности в експеримента са пренебрежимо малки и не влияят значително върху крайните изводи. Дори и да има отклонения, те трябва да бъдат достатъчно малки, за да не компрометират статистическата значимост на резултатите. При планирането на експеримента, трябва да се предвидят допълнителни методи за валидиране на резултатите чрез втори или дори трети анализ.

Избор на нива на третиране и балансиран дизайн

Един от критичните аспекти на експерименталния дизайн е изборът на нивата на третиране, за даден експериментален фактор. При планирането на експеримент е необходимо ясно да се определи, както броят, така и конкретните стойности на тези нива. Когато се очаква линеен ефект на изследвания фактор върху зависимата променлива, обикновено е достатъчно да се използват минималната и максималната биологично възможни стойности. В случаите обаче, когато съществува предположение за нелинейна зависимост, например наличие на оптимум или прагова стойност е необходимо, включването на повече нива на третиране, за да се изследва формата на зависимостта и да се определи точният характер на връзката между променливите.

Балансираният експериментален дизайн осигурява максимална статистическа мощност при фиксиран брой експериментални единици, когато те са разпределени равномерно между отделните групи. При подбора на нивата на третиране следва да се отчита, че всеки дизайн включва, както предимства, така и ограничения. Целесъобразно е по-голяма плътност на нивата на третиране да се предвиди в интервалите, в които се очаква най-голямо вариране или най-силно влияние на фактора. Този подход позволява по-прецизна оценка на ефекта и по-добро моделиране на зависимостта между независимата и зависимата променлива. В определени случаи използването на небалансирани експериментални групи може да бъде оправдано по етични съображения. Например, при експерименти с лабораторни животни, когато експерименталното третиране е свързано с повишен стрес или болка, броят на индивидите в съответната експериментална група може да бъде намален, за сметка на увеличаване на броя в контролната група. Подобен подход позволява ограничаване на потенциалните неблагоприятни ефекти върху животните, като същевременно може да доведе до повишаване на общата статистическа ефективност на експерименталния дизайн.

Методи за събиране на проби и лабораторна практика

Събирането на проби може да бъде осъществено чрез различни подходи в зависимост от целите и спецификата на конкретния експеримент. Рандомизираното събиране на проби осигурява напълно случаен подбор на експерименталните единици и спомага за минимизиране на влиянието на объркващи фактори. Последователното събиране на проби предполага продължаване на вземането на материал до достигане на предварително определен критерий за достатъчност, установен чрез междинен анализ и е особено подходящо при наличие на финансови или етични ограничения. Стратифицираното събиране на проби включва предварително разпределение на извадката, съобразно пропорциите на отделните категории или биотопи в изследваната среда и намира широко приложение при полеви изследвания. Систематичното събиране на проби се характеризира с подбор на експериментални единици на равни, предварително определени интервали.

От съществено значение при планирането и провеждането на всеки експеримент е предварителното отчитане на организационните и техническите аспекти на изследването. Необходимо е да се оцени наличието на апаратурата, която е критична за изпълнението на експерименталните процедури, както и наличието на квалифициран персонал с необходимата експертиза за работа с нея. Следва да бъде анализиран и капацитетът на лабораторната инфраструктура, включително възможностите за едновременно обработване на проби на различните етапи от експеримента. Също така е важно да се прецени, дали изследователският екип разполага с достатъчен брой специалисти и с необходимия набор от компетенции за успешно реализиране на изследването.

Икономическият аспект на експерименталната работа не бива да бъде пренебрегван. Необходимо е изготвянето на ясен и реалистичен бюджет, който да обхваща всички разходи, свързани

с експерименталните процедури, аналитичните методи и времеви ресурс, необходим за изпълнение на изследването. Всички необходими консумативи, химикали и материали следва да бъдат осигурени предварително или доставени своевременно, за да се избегнат прекъсвания в експерименталния процес. От методологична и техническа гледна точка е препоръчително използването на едни и същи химикали и реактиви през целия период на експеримента, тъй като тяхната подмяна може да въведе допълнителна вариабилност и да повлияе на възпроизводимостта на резултатите.

Етични аспекти при проучвания с живи организми

При провеждането на изследвания с човешки субекти е задължително получаването на информирано съгласие, което предполага доброволно участие и предварително, адекватно запознаване с целите, методите, потенциалните рискове и ползи от проучването. Участниците следва да бъдат изрично уведомени за правото си да оттеглят съгласието си и да прекратят участието си във всеки момент от изследването, без да търпят каквито и да било неблагоприятни последици. Тъй като преждевременното отпадане на значителен брой участници може да компрометира валидността на изследването, от съществено значение е всички права, задължения и потенциални рискове да бъдат ясно и недвусмислено дискутирани още на етапа на включване в проучването.

Етичните съображения са от ключово значение и при експерименти с животни, както и при изследвания, провеждани в естествени или полеви условия. Недостатъчно добре планираните експерименти, могат да доведат не само до неоправдан разход на ресурси, но и до сериозни етични нарушения. При събирането и обработката на лични данни следва да се спазват строги изисквания за поверителност и защита на информацията. Имена, персонални идентификатори, възраст и други лични данни не трябва да се събират, освен ако това не е абсолютно необходимо, за целите на изследването. В случаите, когато е необходимо водене на регистър на участниците, следва да се използват кодирани идентификатори, като свързаната с тях информация се съхранява отделно и при засилени мерки за сигурност. Участниците трябва да бъдат ясно информирани и уверени, че личната им информация ще бъде защитена и няма да бъде разкривана публично.

Дизайнът и анализът на биологичния експеримент представляват интегриран процес, при който всяко решение, от формулирането на хипотеза и избора на експериментален дизайн до събирането и статистическия анализ на данните, пряко влияе върху достоверността и надеждността на научните резултати. Качественото планиране, което отчита биологичните, методологичните, организационните, икономическите и етичните аспекти, гарантира възпроизводими и научно значими изводи и предотвратява неоправдан разход на ресурси и етични нарушения. Основната цел на експерименталния дизайн е събирането на данни, които позволяват надеждно тестване на конкретна хипотеза и коректна интерпретация на резултатите, което изисква солидна методологична подготовка и критично мислене от страна на изследователя.

Основна задача на съвременната биотехнология е разработването и внедряването на научно обосновани и ефективни технологии за получаване на биопродукти, като аминокиселини, органични киселини, витамини, антибиотици, протеини, ензими, ваксини и др., базирани на биосинтетичните, биотрансформационните и биодеградационни способности на различни биологични агенти. От тези, използвани за индустриално производство, микроорганизмите са доминираща група, защото: имат най-кратко генерационно време; проявяват най-висока специфична скорост на растеж; характеризират се със значително по-проста генетична организация; позволяват по-лесно целево манипулиране на генома; проявяват висока степен на пластичност на метаболизма и възможност за насочването му в желана посока, дори и само чрез промяна в състава на хранителната среда; имат сравнително прости за удовлетворяване хранителни изисквания; позволяват сравнително лесно култивиране в изкуствени условия; могат да усвояват отпадни продукти, в качеството на хранителни субстрати, което позволява разработването на технологии със сериозен екологичен ефект и не на последно място продуктивността им не зависи от климатични, географски условия и сезонност.

Към индустриалните микробни продуценти на биопродукти се предявяват и редица изисквания: да имат кратко генерационно време и възможности за бързо натрупване на биомаса в комплексни хранителни среди; да проявяват висока специфична скорост на растеж в условията на индустриално култивиране; да синтезират целевия продукт във висока концентрация от единица субстрат за единица време; да синтезират преимуществено целевия продукт и да не продуцират или в минимална степен, странични метаболитни продукти; да са устойчиви на мутагенни фактори и фаги; микробните клетки да са големи или лесно да образуват агломерати; по възможност да са мицелни култури; да не синтезират токсини; да не са патогенни и да са безвредни за околната среда.

Като индустриални продуценти на микробни биопродукти намират приложение представители от различни таксономични групи бактерии, актиномицети, дрожди и плесенни гъби.

Бактерии

Най-характерните особености на бактериите, имащи отношение към използването им като промишлени продуценти на биопродукти, са техните малки размери, кратко генерационно време, сравнително проста генетична организация и това, че една част от тях – Грам-отрицателните, натрупват синтезираните целеви продукти преимуществено вътре в клетката. Малките размери са основният технологичен недостатък на бактериите, защото значително затрудняват отделянето на фино суспендираните клетки от течните ферментационни среди чрез сепарация или центрофугиране. За целта трябва да се прилагат процеси на разделяне под високо налягане с използването на филтър преси, които са по-трудни за експлоатация. Едно от най-важните предимства на бактериите от технологична гледна е краткото генерационно време, което значително съкращава продължителността на ферментационния процес и намалява икономическите разходи за производството. По-простата им генетична организация позволява сравнително лесно да се въздейства върху техния геном, респективно да се повиши биосинтетичния им потенциал. Натрупването на целевите вещества вътреклетъчно също създава затруднения при изолирането и пречистването на биопродуктите и налага прилагането на допълнителни технологични операции за дезинтеграция на бактериалната биомаса. Болшинството от бактериите, използвани за индустриално производство на биопродукти, са от групата на мезофилните. По време на култивирането се отделя значително количество биологична топлина от системата, което налага използването на огромни обеми охлаждаща вода за биореакторите, което е и един от най-големите разходи в производствени условия. Това провокира повишен интерес към възможностите за използване на термофилни бактерии, като продуценти на термостабилни биопродукти. Най-широко промишлено приложение са намерили представители от следните видове: *Bacillus subtilis* – продуцент на протеази; термофилни щамове *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* – продуценти на термостабилни амилолитични ензими; *Xanthomonas campestris*, *Leuconostoc dextranicum*, *Erwinia amylovora* – про-

дуценти на микробни екзополisahариди; регулаторни мутанти на *Corynebacterium glutamicum* и *Brevibacterium flavum* – продуценти на аминокиселини; *Pseudomonas dentrificans* – продуцент на витамин В₁₂, млечнокисели бактерии от видовете *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* – за производство на ферментационни млечнокисели продукти и органични киселини, както и смесени бактериални култури, формиращи активната утайка, използвана за аеробно пречистване на отпадни води.

Актиномицети

Актиномицетите са прокариотни микроорганизми с мицелен строеж, изграден от мрежа от гъсто преплетени, но много тънки хифи, които лесно се разкъсват. Мицелният строеж на актиномицетите позволява по-лесното им отделяне от културалните среди чрез вакуум филтрация, което е предимство от технологична гледна точка. Актиномицетите имат продължително генерационно време, като за пълното спорулиране на някои видове са необходими 10÷14 дни, което значително удължава продължителността на индустриалните биотехнологични процеси, особено в частта получаване на посевен материал. Например продължителността на ферментационния процес за получаване на макролидния антибиотик тилозин от *Streptomyces fradiae* е 140-160 часа, а на салиномицин и монензин – достига и над 360 часа. Устройството на актиномицетния геном е значително по-сложно в сравнение с бактериалния, а по обем е приблизително два пъти по-голям от този на другите прокариоти, напр. при *Streptomyces avermitilis*, продуцент на антипаразитния препарат аверметкин, който включва около 9 млн. базови двойки. Регулацията на генната експресия при актиномицетите е много по-сложна от тази при останалите прокариоти. При стрептомицетите, продуценти на биологично активни вещества, са идентифицирани между 60 и 65 σ -фактора, които разпознават различни типове промотори, докато при *E.coli* те са едва 7. Всичко това сериозно затруднява приложението на различни техники за генетична рекомбинация с цел повишаване продуктивността на щамовете. Актиномицетите са аеробни микроорганизми, които в условията на дълбочинно култивиране изискват най-интензивна аерация в сравнение с всички останали групи промишлени продуценти на биопродукти, достигаща стойности до и над 1 m³/(m³.min⁻¹). Повечето от актиномицетите с промишлено значение са мезофилни, но се прилагат и някои термофилни щамове – продуценти на термостабилни ксиланази. Оптималната стойност на рН за развитието на актиномицетите е в диапазона 6,8 ÷ 7,2. Подобно на плесенните гъби, те продуцират широк набор външноклетъчни ензими, което им позволява да усвояват и голям брой хранителни субстрати, дори някои отпадни продукти. Основните технологични предимства на актиномицетите се изразяват в мицелния им строеж и във възможността да усвояват голям брой хранителни субстрати, а недостатъците – в продължителното генерационно време и повишената потребност от кислород по време на промишленото им култивиране. Над 80% от промишлено произвежданите антибиотици по биотехнологичен път се продуцират от актиномицети, като интерес представляват представителите главно от три семейства – *Streptomycetaceae*, *Micromonosporaceae* и *Nocardiaceae*. Към различните видове от род *Streptomyces* се отнасят най-голям брой от щамовете, които са намерили индустриално приложение като продуценти на антибиотици: *S.aureofaciens* – тетрациклин и хлортетрациклин; *S.rimosus* – окистетрациклин; *S.griseus* – стрептомицин; *S.erythreus* – еритромицин; *S.noursei* – нистатин; *S.albus* – салиномицин; *S.cinamonensis* – монензин; *S.fradiae* – тилозин; *S.levoris* – леворин; *S.venezuellae* – хлорамфеникол; *S.antibioticus* – олеандомицин; *S.tenebrarius* – тобрамицин и др.

Дрожди

Дрождите са еукариотни микроорганизми, чиито клетки са значително по-големи от бактериалните, което позволява по-лесно да се отделят от културалните среди чрез центрофугиране, сепарация или флотация. Дрождевата клетка е обхваната от здрава и трудна за разрушаване клетъчна стена, изградена основно от глюкани и манани, което значително затруднява технологичните операции по изолиране и пречистване на вътреклетъчните целеви продукти. Дрождите се размножават главно чрез пъпкуване, чрез спори и много рядко чрез бинарно делене. Хаплоидните аскоспори могат да се слоят или да се разделят, което позволява да се получат диплоидни, полиплоидни или изогенни щамове дрожди с подобрени биосинтетични качества. Дрождите, намерили индустриално приложение в биотехнологичните производства са сапрофитни, мезофилни, факултативно анаеробни с рН оптимум в слабокиселата област на рН 4,5 ÷ 5,0, което е естествена бариера срещу бактериална контаминация на ферментационните среди и предимство.

Като въглеродни източници усвояват ферментируеми захари от групата на хексозите и не проявяват амилолитична активност, което в известна степен ограничава спектъра на субстратите, влагани в състава на комплексните хранителни среди, използвани в индустриални условия. Интерес от технологична гледна точка представляват отделни представители на клас *Ascomycetes*. Най-голямо промишлено приложение от групата на аскоспорогенните дрожди имат видове от родовете *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*, главно за получаване на етанол, микробни-белтъчни продукти и някои витамини.

Плесенни гъби

Плесенните гъби са еукариотни организми, изградени от хифи, които образуват мицелна структура. Хифите на плесените са много по-дебели от актиномицентните и са обхванати със здрава клетъчна стена, която съдържа хитозан, глюкани и известно количество целулоза. Това позволява да бъде преодолян проблема с възможността за разкъсване на хифите от разбъркващите устройства в биореактора. Мицелният строеж на плесените улеснява отделянето на биомасата от ферментационната среда чрез филтрация под вакуум. Повечето плесени, използвани за индустриалното производство на биопродукти, са мезофилни, развиват се при висока относителна влажност и в сравнително широк рН диапазон 4,5 – 8,0, като съответните оптимални стойности са 65 – 75% и рН 5,5 – 7,5. Усвояват много широк набор хранителни субстрати като отпадни продукти от селското стопанство, ХВП и др., което улеснява композирането на индустриалните хранителни среди. Имат много добре развит секреторен апарат, което ги прави подходящи продуценти на различни външноклетъчни целеви биопродукти. Плесените са доминиращите промишлени продуценти на ензими, а по отношение на антибиотиците отстъпват водещото място на актиномицетите. Основен недостатък на плесените е продукцията на токсини от някои видове, което лимитира промишленото приложение на токсигенни щамове. Накратко ще изброим само някои от най-използваните видове плесени в индустриалните биотехнологии и продуцираните от тях целеви продукти: от род *Aspergillus*, видовете *A. niger*, *A. oryzae*, *A. awamori*, *A. terreus* – продуценти на амилази, ксиланази, пектинази, протеази и лимонена киселина; род *Penicillium*, видовете *P. notatum* и *P. chrysogenum* – продуценти на β -лактамни антибиотици; род *Rhizopus*, видовете *Rh. arrhizus* и *Rh. nigricans* – продуценти на липази; род *Mucor*, видовете *M. miehei*, *M. mucedo*, *M. pusillus* – продуценти на протеази; род *Trichoderma*, видовете *T. reesei* и *T. longibrachiatum* – продуценти на целулази и ксиланази.

Детайлното познаване на морфологичните, физиологичните, генетичните и технологичните особености на микробните продуценти на биопродукти е задължително условие за разработването на ефективни индустриални биотехнологични процеси, които да осигурят условия за максимална експресия на биосинтетичния потенциал на продуцентите с висок коефициент на икономическа ефективност.

Едни от основните групи биопродукти, които се произвеждат по ферментационен път от микроорганизми са витамините и антибиотиците, които се отнасят към нискомолекулните биологично активни вещества (БАВ). Те се получават най-често в условията на периодически дълбоочно култивиране на високопродуктивни щамове в комплексни хранителни среди. Съставът на средите и параметрите на стадия култивиране – температура, рН, аерация, интензивност на разбъркване и др. се оптимизират по отношение на конкретната двойка продуцент – биопродукт. Следферментационният етап на биотехнологичните производства има за цел изолиране, пречистване, концентриране и формулиране на целевия продукт при запазване на биологичната му активност. Броят и последователността на технологичните операции, включени в технологичната схема за производство, зависят от локализацията на целевия продукт – вътреклетъчно или външноклетъчно, съдържанието му в културалната среда, физикохимичните му свойства, необходимата степен на пречистване, която трябва да се постигне, селективността и икономическата ефективност на прилаганите технологични подходи.

Витамините са клас есенциални съединения с разнообразна химична природа (ароматни, хидроароматни, алифатни, хетероциклени и др.), които проявяват биологична активност *in vivo*. От откритите и изучени 13 витамина, 4 са мастно разтворими – витамин А (ретинол), витамин D (холекалциферол), витамин Е (α -токоферол) и витамин К (филохинон). Останалите витамини – С (аскорбинова киселина), В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), В₃ (ниацин), В₅ (пантотенова киселина), В₆ (пиридоксин), В₁₂ (цианкобаламин), F (фолиева киселина), Н (биотин) и РР (ниацин) са водоразтворими. Разбира се тази класификация до известна степен е относителна, защото съвремен-

ната фармацевтична наука и практика предлагат и мацноразтворими витамини във водоразтворима форма. От гледна точка на биологичната им активност, витамините могат да се категоризират, като такива с антиоксидантна (витамини А, Е и С), с коензимна (група В и Н), с регулаторна активност (D, Е, С) и др. От изброените витамини В₁₂ (цианкобаламин) се получава индустриално единствено по биотехнологичен път чрез насочен микробен биосинтез и витамин С (L-аскорбинова киселина) – чрез комбинация от микробна биотрансформация и серия от последователни химически превръщания.

Витамин В₁₂ е бионеорганично съединение от групата на кобалкориноидите. Молекулата му се състои от две части – планарна, представена от тетрапиролен коринов пръстен, чиито 4 ядра са координационно свързани с Со чрез N атоми и нуклеотидна, представена от 5,6-диметилбензимидазол. Биологично активните форми на витамин В₁₂ са коензими на амоняклиязи, хидролиязи, рибонуклеотидредуктази и метилтрансферази. В индустриални мащаби витамин В₁₂ се получава само по биотехнологичен път от бактерии, като годишното му производство възлиза на 9200 т. Поради сложната структура на кобаламина *de novo* образуване на молекулата се осъществява с участието на ензими, кодирани от над 30 различни гена, което възлиза на около 1% от целия бактериален геном. Като продуценти на витамина са използвани микроаерофилните бактерии от род *Propionibacterium* – *P.shermanii* и *P. freudenreichii*, в среда с 5,6-диметилбензимидазол и СоCl₂. Описани са мутантни щамове *P.shermanii* и *P. freudenreichii*, от които в условията на анаеробно култивиране е достигнат максимален добив около 30 – 40 mg/L. Днес доминиращите индустриални продуценти на витамин В₁₂ са щамове от вида *Pseudomonas denitrificans*, които в аеробни условия, в меласови хранителни среди, съдържащи бетаин, с добавка на кобалтови соли и предшественик 5,6-диметилбензимидазол продуцират над 65 mg/L витамин В₁₂. Чрез хетероложна експресия на гените *bluB*, *bluE* и *bluF* в щамове от вида *Rhodobacter capsulatus* се стимулира синтеза на 5,6-диметилбензимидазол, като по този начин отпада необходимостта от екзогенното му внасяне в състава на средата и така е постигнато значително повишение в тоталната продукция на витамина. Чрез фузия на протопласти на *Protoamniobacter ruber* и *Rhodopseudomonas spheroides* са получени рекомбинанти *Rhodopseudomonas protamicus*. При култивиране в комплексна хранителна среда, съдържаща глюкоза, пептон, дрождев екстракт, урея СоCl₂ и соли при неутрална стойност на рН, получените фузанти продуцират до 135 mg/mL витамин В₁₂. При всички, описани продуценти витаминът е вътреклетъчен и се изолира от биомасата след лизиране на клетките, последвано от йонообменна сорбция, хроматографско пречистване на елуата и кристализация.

Витамин С е най-машабно произвеждания витамин в света с годишна производителност около 350 000 т. Молекулата му е изградена от шест С атома два, от които С₄ и С₅ са асиметрични. Наличието на два асиметрични С атома определя възможността за съществуване на 4 различни оптични изомера, от които само L-аскорбиновата киселина проявява биологична активност. Между С₁ и С₄ има γ-лактонен пръстен, а между С₂ и С₃ – ендиолна групировка. Ключови за проявата на биологичната активност на витамин С са лактонният пръстен, ендиолната структура и L-конфигурация на хидроксилната група при С₅. За индустриално получаване на L-аскорбинова киселина от D-глюкоза се прилагат технологии, които комбинират химични и биотехнологични етапи. Най-известният от тези синтези е разработен от Райхщайн и Грюснер и се основава на редукция на D-глюкоза. Технологичният процес включва пет последователни етапа, от които четири са химични, а един е биотрансформационен: I етап – каталитично хидриране на D-глюкоза до D-сорбитол; II етап – биотрансформация на D-сорбитола до L-сорбоза; III етап – получаване на 2,3,4,6-диизопропилиден -L-сорбоза чрез ацетониране; IV етап – получаване на 2-кето-L-гулоновата киселина и V етап – енолизация у лактонизация за получаване на L-аскорбинова киселина. Биотрансформацията на D-сорбитола в L-сорбоза се осъществява при дълбочинно аеробно култивиране на *Gluconobacter suboxydans*, като хранителната среда се инокулира с посевен материал в количество 10 – 15% (v/v). Процесът на микробна биотрансформация продължава 15 – 18 h, при което се достига степен на окисление на D-сорбитола, не по-ниска от 95%. Освен по периодичен начин, биотрансформационният процес може да се проведе по полунепрекъснат (доливен) или непрекъснат начин. Известни са промишлени процеси на превръщане на D-сорбитола в L-сорбоза с имобилизирани в ПААГ клетки на *Gluconobacter suboxydans*. В литературата са описани и други пътища за получаване на витамин С от глюкоза, които за разлика от синтеза на Райхщайн и Грюснер започват с окисление на глюкозата до глюконова киселина. От тях най-известен е пътът на 2,5-дикето-D-глюконовата киселина. Той включва два основни биохимични етапа

– (1) окисление на D-глюкозата през D-глюконова и 2-кето-D-глюконова киселина до 2,5-дикето-D-глюконовата киселина и (2) – редукция на 2,5-дикето-D-глюконовата киселина до 2-кето-L-гулонова киселина. Първият етап на процеса се осъществява с мутантни щамове от род *Erwinia* в среда, съдържаща глюкоза, царевичен екстракт и соли. Вторият етап се осъществява с мутантен щам от род *Corynebacterium* в среда, съдържаща глюкоза, царевичен екстракт, соли, тиамин и калциев пантотенат. Това е и икономически най-ефективният метод за получаване на витамин С. С цел да се избегне двустъпалния характер на процеса са конструирани щамове от вида *Erwinia herbicola*, в които успешно е експресиран ген от *Corynebacterium sp.*, кодиращ синтеза на 2,5-дикето-D-глюконат редуктаза. Това позволява процесът, да се провежда като едностъпален.

Антибиотиците (АБ) са специфични нискомолекулни съединения, вторични метаболити от жизнената дейност на различни организми или техни аналози и производни, които притежават висока физиологична активност и избирателно потискат и/или задържат развитието на определени микроорганизми, протозои и някои злокачествени образувания. Те се класифицират на групи по различни показатели – химическа структура, антимикробен спектър, механизъм на действие, начин на получаване и др. Независимо, че вещества с антимикробно действие са изолирани микроорганизми, лишеи, висши и низши растения, растителни и животински клетъчни култури, значение, като промишлени продуценти на АБ имат само микроорганизмите.

β-Лактамните АБ спадат към класа на пептидните и механизмът на действието им се основава на инхибиране синтеза на пептидоклюкана муреин, като необратимо нарушават синтеза на клетъчната стена при бактериите и в този смисъл действието им е бактерицидно. Към β-лактамните АБ се отнасят: (1) пеницилини, цефалоспорини и цефеми – продуцират се от плесенни гъби от родовете *Penicillium* и *Cephalosporium*; (2) карбапенеми и цефамицини – продуцират се от представители от род *Streptomyces* и (3) монобактами – продуцират се от представители от род *Nocardia*. β-Лактамните АБ се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове в комплексни хранителни среди, съдържащи по-трудно метаболизируеми въглеродни източници, като царевично нишесте, соев шрот, соево масло и др., защото лесноусвоими източници, като глюкозата, репресират продукцията на вторични метаболити. Всички АБ от този клас са външноклетъчни и се изолират от културалната течност след филтрационно отделяне на мицела. Пеницилините се изолират от културалната течност чрез течнотечна екстракция с бутилацетат, а цефалоспорините – чрез йонообменна сорбция. Биосинтетичните пеницилини и цефалоспорини се използват за получаване на полусинтетични производни с по-широк антимикробен спектър на действие.

Към класа на хиноновите АБ се отнасят: (1) тетрациклини, (2) нафтохинони и (3) антрациклини и бензохинони. Механизмът на антимикробното им действие се основава на инхибиране на белтъчната биосинтеза при бактериите. Тетрациклините представляват голяма група субституирани полиокси поликарбонилни съединения с октахидронафтаценова структура. Биосинтетичните тетрациклинови антибиотици – хлортетрациклин, тетрациклин и окситетрацикли, се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на високопродуктивни щамове от видовете *S. aureofaciens* и *S. rimosus*, в комплексни хранителни среди. Тетрациклините са външноклетъчни и се изолират от културалната течност чрез екстракция, йонообменна сорбция или утаяване под формата на комплексни соли с дву- и поливалентни метали при алкални стойности на рН. Към групата на антрациклините се отнасят около 70 различни АБ, продуцирани главно от актиномицети – *S. peuceticus* и *S. coelerubiddia*. Повечето от тях действат антибактериално, но някои като дауномицина и неговите производни адриамицин и карминомицин, проявяват противотуморна активност. Митомицините са АБ от групата на бензохиноните, които имат близки структури (митомицин А, В и С) и подобно на антрациклините проявяват противотуморно действие. Най-важният представител от тази група е митомицин С, който се продуцира от щамове *S. caespitosus*.

Всички аминокликозидни АБ съдържат в молекулата си цикличен многоатомен аминокликохол, който е гликозидно свързан с аминокликозахарен остатък. Проявяват широк антимикробен спектър на действие, а бактерицидният им ефект се дължи на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига. От аминокликозидните антибиотици по биосинтетичен път се получават стерптомицин от *S. griseus*, гентамицин от *Micromonospora purpurea*, тобрамицин от *S. tenebrarius*, канамицин от *S. canamyceticus* и някои техни полусинтетични производни като амикацин. Аминокликозидите се получават чрез тристепенно дълбочинно аеробно култивиране на продуцентите в комплексни хранителни среди. Изолират се от

културалната течност чрез йонообменна сорбция, като в производствени условия процесът се осъществява в батерия от последователно свързани йонообменни колони.

Макролидите представляват голям клас АБ, които съдържат в молекулата си алифатен макроцикличен лактонен пръстен, свързан глюкозидно със захарен или аминокзахарен остатък. В зависимост от антимикробния си спектър на действие те се разделят на две групи – антибактериални и противогъбни, като последните се наричат полиени. Механизмът на действието на антибактериалните макролиди се основава на инхибиране на белтъчната биосинтеза на етап елонгация на полипептидната верига, като образуват комплекс с 50S субчастицата на рибозомата. Полиеновите макролиди нарушават нормалната пропускливост на клетъчната мембрана на еукариотните микроорганизми. От този клас АБ по биотехнологичен път се получават еритормицин от *S. erythreus*, тилозин от *S. fradiae*, нистатин от *S. noursei*, амфотерицин В от *S. nodosus* и др. Антибактериалните макролиди са външноклетъчни и се изолират от културалната течност чрез екстракция с бутилацетат, а полиените са вътреклетъчни и се изолират от мицела на продуцентите.

Растителната клетка е основна структурна и функционална единица, която е отделен организъм (при едноклетъчните водорасли) или част от многоклетъчен организъм. В нея са съсредоточени всички прояви на живота – растеж, дразнимост, дишане, обмяна на веществата, възпроизвеждане и т.н. **Растителната клетка е винаги еукариотна.** Съставните ѝ части могат да бъдат групирани в 2 категории – **протопласт (жива част на клетката)** и **парапласт (нежива част)**. Протопластът е диференциран на ядро и цитоплазма, в която са разположени останалите органели. Цитоплазмата е отграничена с биомембрани: с плазмалема към клетъчната стена и с тонопласт – към вакуолата. Парапластът включва т.н. *ергастични включения*, които представляват резервни и секреторни вещества. Според редица автори *вакуолата* и *клетъчната стена* също се включват към парапласта. Специфичните структури на еукариотната растителна клетка са: **клетъчна стена, пластиди, вакуола и ергастични включения.**

Клетъчната стена служи като скелет на растението, придава форма, устойчивост и здравина на клетките. Разположена е над плазмалемата и достига средна дебелина до няколко μm . Изградена е от *скелетни вещества* и *аморфен матрикс*. Матриксът представлява гел, изграден от пектинови вещества и хемицелулози. Скелетните вещества са най-често целулозни микрофибрили, потопени в матрикса. По структура клетъчната стена е съставена от средна пластинка, първична и вторична стена със слоеве. Стената може да променя химичната си природа като: *вдървява* (чрез отлагане на лигнин), *вкорковява* (чрез отлагане на суберин), *минерализира се* (отлагане на CaCO_3), *ослизнява се* (благодарение на хидрофилността на пектиновите вещества в стената). Химическите промени водят до **надебеляване** на стената и формиране на вторична и третична стена.

Пластидите са двумембранни органели, осъществяващи храненето на растенията. При кормусните растения се срещат във всички органи – лист, стъбло, корен, цвят, плод. В зависимост от баграта си пластидите се разделят на: **хлоропласти (зелени), хромопласти (жълто-червени) и левкопласти (безцветни)**. Основната маса, която изпълва вътрешността им се нарича *строма (матрикс)*, с белтъчно-липоидна природа. При водораслите пластидите носят различни наименования в зависимост от пигментния състав: **хлоропласти** (при зелените водорасли), **феопласти** (при кафявите и кремъчните водорасли), **родопласти** (при червените водорасли).

Вакуолата е отделена с **гранична мембрана- тонопласт** и е изпълнена с **течност- вакуолен** (клетъчен сок). Заема до 90% от завършилата растежа си клетка и е място за съхранение на временно изключени и отпадни продукти от метаболизма. Вакуолният сок съдържа различни вещества, повечето от които са разтворими във вода, по-рядко аморфни или кристални отложения. Сред органичните съединения се срещат въглехидрати, гликозиди, дъбилни вещества, органични киселини, белтъци, алкалоиди. Неорганичните съединения са различни фосфати, хлориди и др. Химичният състав на клетъчните вакуоли определя до голяма степен стопанското приложение на растенията.

Ергастичните включения представляват запасни или отпадъчни вещества, получени като продукти от жизнената дейност на клетката. Част от тях са временно изведени от обмяната на веществата (скорбелни зърна, липидни капки, алейронови зърна), а други са крайни отложения (оксалатни кристали, етерични масла и балсами).

Тъканите представляват групи от свързани клетки с *общ произход*, еднаква външна и вътрешна структура, *специализирани* в изпълнение на *определена функция*. При тъканите има тясна връзка между клетките, която се осъществява чрез плазмодезми при живите клетки или е механична при мъртвите. В зависимост от функцията, която изпълняват и степента на диференциация тъканите при растенията се разделят на две основни групи: **недиференцирани** (клетките им се делят непрекъснато и осигуряват нарастването на растенията) и **диференцирани** (трайни тъкани изпълняващи определена функция като: защитна, опорна, хранене, провеждане на асимилати и др.). Към групата на недиференцираните се отнасят образувателните (меристемни) тъкани. Трайните тъкани биват: основни (паренхимни), покривни, механични, проводящи и отделителни тъкани.

Образувателните (меристемни) тъкани са разположени в определени части на растителното тяло и отговарят за растежа на дължина и дебелина. Клетките им запазват способност да се

делят неопределено време и се наричат инициали. В зависимост от местоположението се различават **връхни, странични и вмъкнати меристеми**. Връхните меристеми осигуряват нарастването на корена и стъблото на дължина и са позиционирани на върха на двата органа и разклоненията им. Страничните меристеми се наричат камбий и фелоген. Разполагат се под формата на периферен цилиндър по осевите органи на растенията. Камбият води до образуването на вторичната дървесина и вторичното лико при многогодишните дървесни видове. Има форма на цилиндър, разположен между ликото и дървесината в стъблото и корена. Фелогенът образува вторичната покривна тъкан – корк. Вмъкнатите меристеми заемат отделни участъци от растителното тяло, вмъкнати между диференцираните тъкани, например в основата на междувъзлията при житните растения и хвощовете. Обикновено действат кратко време и служат за удължаване на междувъзлията. При стареене на растенията се превръщат в трайни тъкани. На тях се дължи и изправянето на стъблата след полягане по време на силен дъжд.

Основните (паренхимни) тъкани заемат най-голям обем от растителното тяло, като изпълват пространството между останалите тъкани. Клетките са *живи*, обикновено изодиаметрични, с тънка целулозна клетъчна стена (рядко надебелена или вдървесинена). В зависимост от функцията, която изпълняват паренхимните тъкани биват:

- **Асимилиращ паренхим (хлоренхим)** – широко застъпен в мезофила на листата, стъблата на тревистите растения, в зелените плодове и т.н. Клетките са богати на хлоропласти, с тънки стени. Между тях има добре изразени междуклетъчни пространства.
- **Резервен паренхим** – среща се във всички органи на растенията и най-вече в органите за размножаване (семена, плодове, коренища и др.). В клетките на тази тъкан се натрупват резервни вещества (белтъци, мазнини, въглехидрати).
- **Въздухоносен паренхим (аеренхим)** – в корените и стъблата на водните и блатните растения. Клетките са разположени рехаво с големи междуклетъчни пространства, по които става движението на въздуха и газовете.
- **Водоносен паренхим** – формира се при сукулентните растения (кактуси, алое и др.). В големите вакуоли на клетките през влажния период става запасяване с вода. В нея са разтворени захари, соли, слизести вещества.

Покривните тъкани предпазват растенията от неблагоприятни външни условия и едновременно с това осигуряват транспирацията (изпарението) и газообмена. Възможно е да имат и секреторна функция. В зависимост от произхода си биват първични (епидермис и екзодермис) и вторични (корк). **Епидермисът** представлява най-външния слой от клетки, покриващ листата, младите стъбла, цветните части и плодовете. Съставен е от 3 вида специализирани клетки: основни, устични и власинкови (трихоми). *Основните клетки* са живи, плътно разположени и предпазват растението от обезводняване. *Устицата* регулират транспирацията и газообмена между растението и външната среда. Съставени са от две затварящи клетки с бобовидна форма, отворче и околоустични клетки. *Власинките (трихоми)* изпълняват защитна и отделителна (жлезиста) функция. Според функцията, която изпълняват биват: покривни, жлезисти, парливи, четинести, кукести, чувствителни. **Екзодермисът** изпълнява защитна функция, като покрива корените. **Коркът** замества първичните покривни тъкани и се среща при растенията с вторично надебеляване. Развива се по стъблото и корените на дървесните растения или по най-старите части на корена и стъблото, при тревистите видове.

Механичните тъкани придават устойчивост и еластичност на растителните органи. Клетките им са удължени, плътно разположени, с различна степен на надебеляване на клетъчната стена. Според степента на надебеляване на клетъчните стени се различават два вида механични тъкани – **коленхим** и **склеренхим**. *Коленхимът* е жива механична тъкан. Осигурява здравина и еластичност на листата, тревистите стъбла и младите растящи стъбла на дървесните видове. В зависимост от степента на надебеляване на клетъчните стени бива: ъглест, плочест (пластинков) и рехав. **Склеренхимът** е мъртва механична тъкан. Среща се в растителните органи, завършили развитието си като осигурява здравина, но не и еластичност. Различават се два вида склеренхим – склереиди (каменисти клетки) и склеренхимни влакна (фибри).

Проводящите тъкани служат за провеждане на хранителните вещества в растенията. В зависимост от характера на провежданите вещества се разделят на **дървесинна (ксилема) и ликова проводяща тъкан (флоема)**. И двата вида са комплексни тъкани, тъй като са съставени от проводящи елементи, паренхимни клетки и склеренхимни влакна. **Дървесинната проводяща тъкан** осъществява възходящия ток на водата и разтворените в нея минерални соли от корена

през стъблото към листата. Проводящите елементи са трахеиди и трахеи (дървесинни цеви). **Ликовата проводяща тъкан** осъществява низходящия ток на органичните вещества от листата към останалите растителни органи. Състои се от проводящи елементи и придружаващи клетки. Двете проводящи тъкани могат да се разполагат под формата на непрекъснати цилиндри една до друга или да формират проводящи снопчета.

Отделителните тъкани отделят или натрупват продукти, получени при обмяната на веществата в растението. Отделяните вещества могат да бъдат физиологично полезни (хормони, ферменти) или безполезни (крайни продукти от обмяната). Класифицират се в две групи: **външни** – секретираното вещество се отделя навън от растението и **вътрешни** – веществото остава вътре в растението. Към **външните отделителни тъкани** спадат: *жлезисти власинки* (сем. Устноцветни, мушкато, индрише), *осмофори* (в цветовете на маслодайна роза, нарцис, момина сълза), *хидатоди* (осъществяват процеса гутация при ягода, латинка, сем. Житни), *нектарници* (епидермални образувания, разположени най-често в цветовете, и отделящи вода с разтворени в нея вещества-нектар). Към **вътрешните отделителни тъкани** се отнасят: *секреторни клетки* (поединично разпръснати между клетките на останалите тъкани в листа на дафиново дърво, корени на диланка, плодове на бамя, корени на медицинска ружа и слез), *секреторни вместилища и канали* (в листа на жълт кантарион, бор, смърч, сем. Сенникоцветни, цитрусови плодове), *млечни цеви* (коприва, смокиня, черница, млечки, змийско мляко, глухарче).

Растенията живеят във водата и на сушата. Тези, които живеят във водата, притежават едноклетъчно или многоклетъчно тяло, което няма диференцирани тъкани и органи. Тези растения се наричат талусни растения (низши) или еукариотни водорасли. Някои автори отделят едноклетъчните еукариотни водорасли от царството на растенията и ги отнасят към царство Протиста. Многоклетъчните талусни растения имат нишковидно, пластинковидно или храстовидно тяло, което често е със значителни размери. Клетките в талуса са еднообразни, притежаващи цитоплазмени връзки, чрез които си обменят вещества. При водораслите, необходимите вещества за осъществяване на фотосинтезата се приемат с цялата повърхност от водната среда. В пластидите на всички водорасли се съдържа хлорофил. Комбинацията от пигменти определя различния цвят на талуса (зелен, червен, жълто-кафяв). Характерно е безполово и полово размножаване. Безполовият процес се осъществява чрез спори или вегетативно чрез делене на клетката при едноклетъчните или нахъсване на талуса на части при многоклетъчните, като всяка част дава началото на ново растение. Половият процес е свързан с образуването на мъжки и женски полови клетки, сливащи се във водната среда и формиращи зигота, с изключение при харовите водорасли, където оплождането е вътрешно в женския полов орган. Класифицирането на водораслите в отдели е базирано на устройството и баграта на талуса, натрупваните резервни вещества, особеностите в размножаването и др.

Отдел Червени водорасли (Rhodophyta) – Повечето червени водорасли са морски, бентосни организми. Баграта им варира от розово до тъмночервено. Разпространени са в тропичната и субтропична зона на моретата и океаните. Развиват се на дълбочина до 80 метра, а при чисти води и до 180 метра. Талусът на Червените водорасли е прикрепен към субстрата. Притежават нишковидно, пластинковидно и храстовидно, рядко едноклетъчно (*Porphyridium*) тяло. Най-едри представители достигат 1 метър. Стените на клетките при някои видове се импрегнират с CaCO_3 и те наподобяват корали. От тази група в Черно море се среща видът *Corallina officinalis*. **Значение:** Използват се за храна, както и за добиване на агар, карагенан и агароид. Калциевите съединения съдържащи се в някои червени водорасли са полезни за профилактика и лечение на остеопороза. **Представители:** *Porphyra sp.*, *Phylophora sp.*, *Ceramium sp.* и др.

Отдел Кремъчни водорасли (Bacillariophyta) – Най-богатият на видове отдел сред еукариотните водорасли. Те са важна съставна част на фитопланктона и фитобентоса в моретата и сладководните басейни. Повечето видове са студено- и сенколюбиви. Срещат се също в почвата и върху влажни скали. Кремъчните водорасли са изключително едноклетъчни микроскопични организми. Клетките са обхванати от прозрачна черупка, съставена основно от силициева киселина – кремъчно вещество. Черупката (тека) прилича на кутия, съставена от две части: по-голяма (епитека) и по-малка (хипотека). Това специфично устройство на черупката на кремъчните водорасли стои в основата за различията в изгледа на клетките откъм дъното (в анфас) и откъм пояса (в профил). **Значение:** Редица видове са приспособени към точно определени условия на средата и се използват като биоиндикатори. Поради високото съдържание на мазнини, те се отглеждат в индустриални култури за добив на липиди или се използват като висококалорична храна за малките рибки в рибовъдни басейни. След отмирането на клетките, черупките на кремъчните водорасли формират диатомит (кизелгур), представляващ лека и фино порьозна скала. Диатомитът влиза в състава на хранителни добавки, богати на лесно усвоим силиций. Кизелгурът намира приложение и в стратиграфията за определяне възрастта на земните пластовете. **Представители:** *Pinnularia sp.*, *Pleurosigma sp.*, *Gyrosigma sp.*, *Melosira sp.*, *Tabellaria sp.* и др.

Отдел Кафяви водорасли (Phaeophyta) – оцветени са в жълто-кафяво до тъмнокафяво и заемат водеща позиция по размери сред всички групи водорасли. По-голяма част са морски, прикрепени организми. Талусът на някои видове образува въздушни мехури, чрез които се задържат на повърхността на водата. Някои кафяви водорасли достигат сложна морфологична диференциация. Най-висшите наподобяват кормусни растения, с оформени корено-, стъбло- и листоподобна части, и изключителни размери. Рекордър по размери, признат за най-едрото водорасло в света, е *Macrocystis pyrifera*, достигащо дължина до 60 метра. В Черно море, най-едрото кафяво водорасло е *Cystoseira barbata*, с размери до 1,5 метра. Кафявите водорасли имат важно

икономическо значение, базирано както на директната им употреба, така и на добива на алгинати и манит от тях. В официалната медицина се използват както алгинатите, така и биологично-активните вещества, извличани от кафяви водорасли. Традиционно е и използването на кафявите водорасли за храна в свежо състояние или стрити на прах, като подправки в редица азиатски страни. **Представители:** *Ectocarpus sp.*, *Padina sp.*, *Laminaria sp.*, *Fucus sp.* и др.

Отдел Зелени водорасли (Chlorophyta) – обитават сладки и солени води. Зелените водорасли са изключително разнообразни по морфология. При тях са представени почти всички морфологични типове, известни при талусните растения. Едноклетъчните зелени водорасли са представени от отделни клетки (*Chlorella*) или клетките са групирани в ценобии (*Scenedesmus*). Формата на клетката при различните родове е изключително разнообразна. Клетъчната стена е здрава, целулозна, гладка или с различни скулптурни образувания – зъбчета, шипове и т.н. Някои едноклетъчни имат флагелуми, с които се придвижват (*Dunaliella salina*). Многоклетъчните имат разнообразно тяло: нишковидно, пластинковидно, храстовидно. Едрите зелени водорасли се използват като храна за човека в свежо състояние или след кулинарна обработка, а едноклетъчните под формата на хранителни добавки. Някои зелени микроводорасли могат да акумулират ценни и редки метали (кобалт, никел, молибден, злато и др.) и се използват за добив на тези метали. **Представители:** *Chlamydomonas sp.*, *Hydrodictyon sp.*, *Ulva sp.*, *Enteromorpha sp.* и др.

Кормусните растения са преобладаващо сухоземни. Тялото (кормус) е съставено от подземни и надземни растителни органи. Кормусните растения са треви, храсти и дървета. Размерите им варират от няколко милиметра (*волфия*) до 100 метра (*секвоя*). При тези растения се наблюдава голямо вариране в продължителността на живот – от няколко седмици (*Erophila verna*) до 4600 години (*Pinus aristata*). Размножават се безполово и полово. Безполовото размножаване е със спори или вегетативно, а половото – чрез сливане на полови клетки. Цикълът на развитие при кормусните растения преминава през две поколения – безполово и полово. Обособени са в две групи кормусни растения: висши спорови растения (Мъхообразни, Плаунообразни, Хвощообразни и Папратообразни), разпространяващи се чрез спори и семенни растения (Голосеменни и Покритосеменни), разпространяващи се чрез семена.

Отдел Мъхообразни (Bryophyta) – примитивни кормусни растения без коренова система. Прикрепването към почвата се осъществява с помощта на тънки нишки, наречени ризоиди. Обитават сенчести и влажни места. В цикъла на развитие преобладаващо е половото поколение (гаметофит), върху който е прикрепен спорофитът (безполово поколение). Размножават се безполово (чрез спори), като при някои видове се образуват пъпки за вегетативно размножаване. Органите за полово размножаване се образуват на върха на стъблата (*Funaria hygrometrica*) или на специални държатели (*Marchantia polymorpha*). Разпространени са на всички континенти без Антарктида. Класифицират се на *чернодробни* и *листостъблени*. При чернодробните мъхове тялото е пластинковидно и наподобява на зелено водорасло. При листостъблените мъхове тялото е диференцирано на изправено стъбло с листа. **Представители:** Торфен мъх (*Sphagnum sp.*), Влакнестокачулест мъх (*Polytrichum commune*) и др.

Отдел Плаунообразни (Lycopodiophyta) – древни, тревисти спорови растения. В цикъла на развитие преобладава безполовото поколение (спорофит). В българската флора се срещат: Иглолистна хуперция (*Huperzia selago*), Бухалковиден плаун (*Lycopodium clavatum*), Швейцарски бронец (*Selaginella helvetica*) и др.

Отдел Хвощообразни (Equisetophyta) – тревисти растения с изправени, кухи и начленени на възли и междувъзлия стъбла. Листата са редуцирани, заловени за възлите и срастват във влагище, завършващо със заострени зъбци. Външната част на епидермиса на стъблото е импрегнирана със силициев диоксид. Фотосинтезиращата функция на растението е поета от стъблото. Някои видове образуват два вида стъбла – пролетно (със спороносна функция) и лятно (с фотосинтезираща функция). В България се срещат: Полски хвощ (*Equisetum arvense*), Блатен хвощ (*Equisetum palustre*), Голям хвощ (*Equisetum telmateia*), Горски хвощ (*Equisetum sylvaticum*), Речен хвощ (*Equisetum fluviatile*), Зимувач хвощ (*Equisetum hyemale*) и Разклонен хвощ (*Equisetum ramosissimum*).

Отдел Папратообразни (Polypodiophyta) – тревисти растения с брадата коренова система. Стъблото е видоизменено в подземно разположено коренище. Листата нарастват чрез охлювидно завита върхна част. Спорангиите се разполагат по долната листна повърхност, на групи (сори). Размножават се основно вегетативно (чрез фрагментация) и спорово (с неподвижни спори). **Представители:** Мъжка противоглистна папрат (*Dryopteris filix-mas*), Обикновено изт-

равниче (*Asplenium trichomanes*), Лечебна златиста папрат (*Ceterach officinarum*), Обикновен волски език (*Asplenium scolopendrium*), Орлова папрат (*Pteridium aquilinum*), Обикновена сладка папрат (*Polypodium vulgare*) и др.

Семенните растения са най-приспособени за живот на сушата и притежават най-сложно устроени вегетативни и размножителни органи. Размножаването и разпространението им се осъществяват чрез семена. Разделят се на голосеменни и покритосеменни (цветни) растения.

Голосеменните растения са дървета и храсти с различни по форма листа – ветриловидни, игловидни, люсповидни. Характеризират се с формирането на шишарки. Шишарките биват мъжки и женски. Еднодомните растения формират мъжки и женски шишарки, докато при двудомните видове на отделните растения има само мъжки или само женски шишарки. Всяка шишарка има семенни люспи. При мъжките, върху семенните люспи има прашници, а при женските – семепъпки. Семепъпката след оплождането се превръща в семе, лежащо открито върху семенната люспа. Широко разпространените представители днес са групирани в 4 класа:

Клас Гинкови (*Ginkgopsida*) – включва 1 представител с ветриловидни листа – Двуделно гинко (*Ginkgo biloba*);

Клас Иглолистни (*Pinopsida*) – с най-голямо значение е семейство Борови (*Pinaceae*). Листата са разположени единично или на групи от 2 и повече. У нас се срещат Бял бор (*Pinus sylvestris*), Черен бор (*Pinus nigra*), Черна мура (*Pinus heldreichii*), Бяла ела (*Abies alba*), Обикновен смърч (*Picea abies*) и др. От семейство Кипарисови (*Cupressaceae*) у нас най-често е разпространена Обикновената хвойна (*Juniperus communis*). Семейство Тисови (*Taxaceae*) включва видът *Taxus baccata* (Обикновен тис).

Клас Сагови (*Cycadopsida*) – тропични видове, стъблата им са еднакво дебели от основата до върха. На върха на стъблото се разполага кичур от листа, по което приличат на палмите и често неправилно ги наричат сагови палми. Правилното име е сагови голосеменни растения. Саговите растения образуват мъжки и женски шишарки. Листата им са едри, кожести и живеят до 10 години. У нас декоративно се отглежда *Cycas revoluta*.

Клас Гнетови (*Gnetopsida*) – включва родовете Ефедра (*Ephedra*), Велвичия (*Welwitschia*) и Гнетум (*Gnetum*). В България по сухи, скалисти и песъчливи места се среща Обикновена ефедра (*Ephedra dystachya*).

Покритосеменните (цветни) растения са най-младите в еволюцията на растителния свят. Те са най-съвършените в своето външно и вътрешно устройство и са най-широко разпространени на Земята. Спорофитът е представен с всички биологични типове: треви, храсти, дървета, за разлика от голосеменните, при които няма треви. Вегетативните им органи претърпяват някои метаморфози (коренища, грудки, луковичи, бодли, тръни и др.). Най-характерните особености на тази група растения са цветът и плодът. Семепъпката е обхваната от обвивка – плодник, състоящ се от близалце, стълбче и завръз. Според броя на семените в зародиша на семето цветните растения се разделят на два класа: Едносеменни и Двусеменни.

Клас Едносеменни растения (*Liliopsida*)

Семейство Кремови (*Liliaceae*) – Многогодишни луковични тревисти растения. Листата са линейни, ланцетни или елипсовидни, последователни, рядко в прешлени. **Представители:** Бял крем (*Lilium candidum*), Градинско лале (*Tulipa gesneriana*), Конски зъб (*Erithronium dens-canis*), Жълт гарвански лук (*Gagea lutea*) и др.

Семейство Салепови (*Orchidaceae*) – Най-богатото на видове семейство след Сложноцветните растения. Към него спадат много видове орхидеи, срещащи се предимно в тропичните гори. В България са разпространени: Салеп (*Orchis sp.*), Двурога пчелица (*Ophrys scolopax*), Венерина пантофка (*Raphiopedilum insigne*), Обикновена пърчовка (*Himantoglossum carpinum*) и др.

Семейство Житни (*Poaceae*) – Едногодишни или многогодишни тревисти растения. Листата са линейни, обхващащи с основата си стъблото. Цветовете формират класовидни съцветия. Представителите на семейството са хранителни, фуражни, лечебни, декоративни, плевели: Мека пшеница (*Triticum aestivum*), Царевица (*Zea mays*), Обикновен ечемик (*Hordeum vulgare*), Ръж (*Secale cereale*), Захарна тръстика (*Saccharum officinarum*), Троскот (*Cynodon dactylon*) и др.

Клас Двусеменни растения (*Magnoliopsida*)

Семейство Сложноцветни (*Asteraceae*) – Най-голямото семейство в клас Двусеменни, разпространено космополитно. Представено е главно от треви, по-малко храсти и полухрасти. Цветовете са групирани в съцветие кошничка. У нас се срещат: Глухарче (*Taraxacum officinale*), Лайка (*Matricaria chamomilla*), Слънчоглед (*Helianthus annuus*), Магарешки бодил (*Carduus sp.*) и др.

Семейство Бобови (Fabaceae) – Дървета, храсти и треви. Листата са сложни, рядко прости, с прилистници. Погледнат от страни цветът наподобява кацнала пеперуда, откъдето идва и едно от старите имена на семейството – пеперудоцветни. Плодът е боб. Към семейството спадат: Фасул (*Phaseolus vulgaris*), Грах (*Pisum sativum*), Леща (*Lens culinaris*), Фъстък (*Arachis hypogaea*), Детелина (*Trifolium sp.*) и др.

Семейство Розоцветни (Rosaceae) – Включва дървета, храсти, полухрасти, лиани и треви. Цветовете са единични, като цветните части са разположени в кръг. Листата са прости или сложни. Представители: Шипка (*Rosa canina*), Малина (*Rubus idaeus*), Къпина (*Rubus caesius*), Ябълка (*Malus domestica*), Праскова (*Prunus persica*) и др.

Семейство Кръстоцветни (Brassicaceae) – Чашелистчетата и венчелистчетата са по 4, свободни, разположени на кръст. Във видоизменените вегетативни органи при някои видове се натрупват хранителни вещества: Градинско зеле (*Brassica oleracea*), Черна горчица, Черен синап (*Brassica nigra*), Бял синап (*Sinapis alba*), Овчарска торбичка (*Capsella bursa-pastoris*), Дива ряпа (*Raphanus raphanistrum*) и др.

Семейство Картофови (Solanaceae) – Предимно тревисти растения, по-рядко храсти, лиани и малко дървета. В България единствения храст от това семейство е Мерджан (*Lycium barbarum*), среща се по рудерални места, а плодчетата му са известни с наименованието Годжи Бери. Като хранителен източник от семейство картофови се използват: Картоф (*Solanum tuberosum*), Патладжан (*Solanum melongena*), Домат (*Lycopersicon esculentum*), Пипер (*Capsicum annuum*). Отровни видове са: Лудо биле (*Atropa belladonna*), Татул (*Datura stramonium*), Тютюн (*Nicotiana tabacum*).

Семейство Устноцветни (Lamiaceae) – Космополитно семейство. Включва треви, храсти и полухрасти. Стъблата са четириръбести, листата са срещуположни, цветът е двуустен. Представителите на семейството са етеричномаслени, лечебни, подправки, декоративни, медоносни: Маточина (*Melissa officinalis*), Чубрица (*Satureja hortensis*), Градински чай (*Salvia officinalis*), Лавандула (*Lavandula angustifolia*), Мента (*Mentha sp.*), Мащерка (*Thymus sp.*) и др.

Фотосинтезата при растенията преобразува светлинната енергия в химична, като използва вода и CO_2 за синтез на въглеhidрати и отделяне на кислород. За да осигури енергията и редуциращата сила, необходими за фиксацията на CO_2 , в тилакоидните мембрани на хлоропластите протичат светлинните (тилакоидни) реакции, включващи 1) окисление на водата с отделяне на O_2 , 2) редукция на НАДФ⁺ до НАДФН и 3) синтез на АТФ. Образуваният АТФ и НАДФН след това се използват в стромалните (въглеродни) реакции, където CO_2 се фиксира и редуцира до въглеhidрати.

Организация на фотосистемите

В хлоропластите фотосинтетичните пигменти – хлорофили, каротеноиди и други – са свързани с белтъци и образуват пигмент-белтъчни комплекси. Тези комплекси се организират в 1) светосъбиращи (антенни) комплекси, (ССК), които улавят светлинната енергия, и 2) реакционни центрове, в които протичат първичните фотохимични реакции. Броят пигментни молекули в антенните комплекси, асоциирани с един реакционен център, значително варира при различните фотосинтезиращи организми: от ~20 – 30 бактериохлорофили при някои бактерии и ~200–300 хлорофили при висши растения до няколко хиляди при някои водорасли. Тази адаптация отразява различните светлинни условия в средите на обитаване. ССК поглъщат фотони и насочват енергията на електронното възбуждане към реакционните центрове. Асемблирането на пигментите с белтъците контролира този пренос чрез екситонен механизъм (между близки пигменти, < 1 nm) и резонансен FRET механизъм (между по-отдалечени пигменти), осигурявайки > 95% ефективност. Абсорбционните максимуми на пигментите постепенно се изместват към по-дълговълновата част на спектъра ($\text{Chl } b \rightarrow \text{Chl } a \rightarrow \text{P680/P700}$), създавайки енергиен градиент, който гарантира еднопосочен поток на енергията. Този процес е чисто физичен (без прехвърляне на електрони), докато в реакционния център се инициират фотохимичните окислително-редукционни реакции с пренос на електрони. В рамките на тази организация при висшите растения функционират две взаимосвързани фотосистеми – фотосистема II (ФСII) и фотосистема I (ФСI), които се различават по състава на антенните си комплекси и реакционните центрове. Всяка фотосистема включва сърцевинен комплекс (ядро) с вътрешна антена, донори и акцептори около реакционния център, както и външни ССК в различен брой. Хлорофил a/b белтъците с каротеноиди, свързани с ФСII, образуват ССКII, докато тези към ФСI формират ССКI. Всеки реакционен център съдържа специална двойка хлорофилни молекули, които играят ключова роля във фотохимичния процес. Във ФСI реакционният център представлява димер на хлорофил a с максимум на абсорбция при 700 nm, наричан P700. Във ФСII реакционният център представлява димер на хлорофил a с максимум на абсорбция при 680 nm, обозначаван като P680.

Някои аноксигенни фотосинтезиращи бактерии имат само една фотосистема. Такава организация е характерна за пурпурните бактерии (с реакционен център, наподобяващ ФСII) и за зелените серни бактерии (с реакционен център, близък до ФСI). При тях протича цикличен електронен транспорт, при който електроните се връщат към изходния реакционен център. В резултат се образува протонен градиент и се синтезира АТФ, но не се отделя O_2 и не се редуцира НАДФ⁺.

Пространствено разположение на ФСII и ФСI

В тилакоидната мембрана на висшите растения двете фотосистеми са пространствено разделени. ФСII, заедно със своите антенни пигменти е локализирана основно в граналните тилакоидни мембрани, докато ФСI и нейните антенни комплекси са разположени предимно в стромалните тилакоидни мембрани, включително в крайните участъци на граналните тилакоиди, обърнати към стромата. Комплексът цитохром b₆f, който осъществява функционалната връзка между двете фотосистеми, е разположен и в двата типа тилакоиди. Това специфично пространствено подреждане на фотосистемите налага съществуването на електрон-транспортна верига, в която участват мембранно свързани комплекси и подвижни електронни преносители, осигуряващи преноса на електрони от ФСII към ФСI. Като основни подвижни преносители функционират пластохинонът (PQ/PQH₂) и пластоцианинът. PQ/PQH₂ е разположен в липидната фаза на тила-

коидната мембрана, а пластоцианинът е малък медсъдържащ белтък, разтворим в лумена на тилакоида.

Първично фотохимично събитие

Първичното фотохимично събитие представлява пренос на електрон от възбуден хлорофил в реакционния център към първия електронен акцептор. По този начин хлорофилът се окислява (губи електрон и става положително зареден), а акцепторната молекула се редуцира (получава електрон и става отрицателно заредена). Редуцираният акцептор след това предава електрона по електрон-транспортната верига, като реакционният център възстановява изгубения електрон от донорна молекула. При висшите растения водата (H_2O) служи като първичен донор на електрони, а НАДФ⁺ е краен акцептор, който се редуцира до НАДФН.

ФСII: кислород-отделящата система и електронен поток до пластохинон

ФСII е организирана като мултисубединечен белтъчен суперкомплекс. В ядрото на реакционния център се намират мембранно-свързаните белтъци Д1 и Д2, към които са свързани пигментите на реакционния център – хлорофили (първичен донор P680), допълнителни хлорофили, каротеноиди, феофитини и пластохинони. Към ФСII е прикрепена кислород-отделящата система, която съдържа манганов (Mn) клъстер, при който Cl^- йоните имат стабилизираща функция, а Ca^{2+} е необходим за свързването и ориентацията на водните молекули, участващи във фотолизата на водата. Мангановите йони преминават през серия от S-състояния (S_0 – S_4), което позволява поэтапното окисление на две молекули вода с образуване на една молекула O_2 , 4 електрона и 4 протона. Поне 8 електрона (два за възбуждане на P700, два за P680 и 4 за фотоокислението на водата) са необходими за отделянето на една молекула O_2 , при което се формира 1 молекула НАДФН. Протоните, освободени при фотолизата на водата, се натрупват в тилакоидния лумен и създават протонен градиент, използван от АТФ синтазата за синтез на АТФ. Между Mn-комплекс и P680 действа тирозиновият радикал Y_Z , който предава електрони от Mn-клъстер към окисения P680⁺ и възстановява електронния баланс. При възбуждане от светлина хлорофилният димер P680 отдава електрон, който се прехвърля първо на феофитина (модифициран хлорофил без Mg^{2+}), а след това към два свързани пластохинона – PQA и PQB. PQA приема електрона временно и го предава към PQB. PQB получава последователно два електрона и два протона от стромата, превръщайки се в редуцирания пластохинон (PQH_2). Полученият PQH_2 напуска реакционния център и дифундира в липидната част на мембраната до комплекса цитохром b_6f .

Комплекс цитохром b_6f и Q-цикълът

Комплексът цитохром b_6f свързва двете фотосистеми и е ключов елемент от линейния поток на електрони. Той съдържа два b-тип хем, един c-тип хем (цитохром f) и Rieske Fe–S белтък. В него PQH_2 се окислява чрез механизма на Q-цикъла, при който единият електрон преминава по линейния път – през Rieske белтъка и цитохром f към пластоцианина, който редуцира P700 във ФСI; вторият електрон следва цикличен път през b-тип хемове, а отделените протони се освобождават в лумена. След два пълни оборота на Q-цикъла: до P700 достигат 2 електрона; 2 молекули PQH_2 се окисляват до PQ; 1 молекула PQ се редуцира обратно до PQH_2 ; общо 4 протона се транспортират от стромата в лумена, което засилва протонния градиент.

ФС I и редукция на НАДФ⁺

Компонентите на реакционния център на фотосистема I, заедно с вътрешния антенен комплекс от приблизително 100 хлорофилни молекули, са организирани около два големи мембранни белтъка – PsaA и PsaB. След възбуждане на реакционния център P700 електронът се предава първо на молекула хлорофил *a* (A_0), а след това на филохинона (A_1), откъдето постъпва към желязо-серните центрове на ФС I. Електроните от тези центрове се предават на ферредоксина (Фд) – малък, разтворим желязо-серен белтък, който се намира в стромата на хлоропласта. Последната стъпка от нецикличния поток се катализира от ферредоксин–НАДФ⁺ редуктазата, която използва електроните от Фд, за да редуцира НАДФ⁺ до НАДФН. По този начин се затваря нецикличната електрон-транспортна верига, чийто начален източник на електрони е фотоокислението на водата във ФСII. Електроните се движат еднопосочно – от водата към НАДФ⁺, като едновременно с това се осъществява пренос на протони и се генерира протонен градиент. Този линейно насочен поток от електрони се описва с т.нар. Z схема.

Цикличен електронен транспорт във ФСІ

При определени физиологични условия част от електроните, напуснали ФСІ, не се предават на НАДФ⁺, а се връщат обратно в тилакоидната електрон-транспортна верига – към пластохинона (PQ/PQH₂), цитохром b₆f и обратно към P700. Това движение се нарича цикличен електронен поток. Той не е свързан с окисление на вода и не води до редукция на НАДФ⁺, но предизвиква допълнително натрупване на протони в лумена, което увеличава количеството образуван АТФ. Цикличният електронен поток е особено важен при C₄ растенията, където в хлоропластите на клетките около проводящите снопчета е необходима повече енергия (АТФ) за протичане на реакциите от цикъла на Калвин.

Фотофосфорилиране и АТФ синтеза

И нецикличният, и цикличният поток на електрони водят до пренасяне на протони в лумена на тилакоидите, като стромата става по-алкална, а лумена – по-кисел, създавайки протон-движеща сила (ΔpH и електрически потенциал). Тази енергия се използва от АТФ синтазния комплекс, който се състои от две части: хидрофобна, свързана с мембраната (CF_o), и част, издаваща се в стромата (CF₁). CF_o формира канал за преминаване на протоните, а CF₁ съдържа каталитичните центрове, които използват протон-движещата сила за синтез на АТФ от АДФ и неорганичен фосфат. При всяко завъртане на комплекса се синтезират три молекули АТФ. По този начин АТФ синтазата функционира като молекулен мотор, преобразуващ енергията на протонния градиент в химична енергия.

Фиксация на СО₂ – цикъл на Калвин–Бенсън

Фиксацията на СО₂ при фотосинтезата се осъществява чрез серия от ензимно управлявани реакции, известни като цикъл на Калвин–Бенсън. Растенията, които фиксират СО₂ по този път, се наричат C3 растения, тъй като първият стабилен продукт на карбоксилирането е тривъглеродното съединение- 3-фосфоглицерат. Този път на СО₂-фиксация е универсален сред фотосинтезиращите организми. Цикълът протича в стромата на хлоропластите и използва енергията и редуциращата сила, произведени в светлинната фаза – съответно АТФ и НАДФН– за редукция на атмосферния СО₂ до въглехидрати.

Цикълът на Калвин се разделя на три тясно координирани фази: карбоксилиране (фиксиране на СО₂), редукция на фиксираните въглеродни съединения и регенерация на петвъглеродния акцептор на СО₂.

I. Фаза на карбоксилиране

Първата и ключовата стъпка на цикъла е карбоксилирането на СО₂, катализирано от ензима рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза/оксигеназа (RuBisCO). RuBisCO има висока афинитет както към СО₂ (карбоксилазна активност), така и към О₂ (оксигеназна активност). При оксигеназа активност рибулозо-1,5-бисфосфат реагира с О₂, образувайки една молекула 3-фосфоглицерат и една 2-фосфогликолат, която се метаболизира в процеса на фотодишане, съпроводен със загуба на въглерод и енергия. RuBisCO катализира взаимодействието между молекулата СО₂ и петвъглеродния захарен фосфат – рибулозо-1,5-бисфосфат (RuBP) – при което се образува нестабилен шествъглероден интермедиат, който се разпада на две молекули 3-фосфоглицерат.

II. Фаза на редукция

Във втората фаза 3-фосфоглицератът се превръща в захарен фосфат– глицералдехид-3-фосфат (ГАФ)– чрез серия от редукционни реакции, изискващи както АТФ, така и НАДФН, генерирани в светлинната фаза.

III. Фаза на регенерация на акцептора

Регенерацията на рибулозо-1,5-бисфосфат – е най-сложната фаза от цикъла и включва десет последователни ензимни реакции, които преобразуват тривъглеродни съединения обратно в петвъглеродния акцептор рибулозо-1,5-бисфосфат. Асимилацията на 1 молекула СО₂ изисква 2 молекули НАДФН (изразходвани във фазата на редукция) и 3 молекули АТФ (2 в редукцията и 1 в регенерацията), доставени от светлинните реакции. От шестте молекули ГАФ, образувани при един оборот на цикъла на Калвин–Бенсън, пет се използват за възстановяване на рибулозо-1,5-бисфосфат, а шестата служи за биосинтеза на захари и други органични вещества. Вътре в

хлоропласта ГАФ се използва за синтез на глюкоза, запасни съединения като скорбяла, както и за начални етапи на синтез на белтъци и липиди. В цитозола ГАФ се използва за синтез на захароза, основната транспортна форма на въглехидрати в растенията.

Регулация на цикъла на Калвин–Бенсън от светлината

Цикълът на Калвин е напълно зависим от светлинната фаза, тъй като АТФ и НАДФН, синтезирани в тилакоидите по време на светлинните реакции, осигуряват енергията и редуциращата сила, необходими за превръщането на 3-фосфоглицерат в глицералдехид-3-фосфат и за регенерирането на рибулозо-1,5-бисфосфат. При осветяване скоростта на фиксация на CO_2 се повишава в рамките на минути, тъй като ключови ензими от цикъла, включително RuBisCO, стават активни чрез два типа регулация: 1) бавна, чрез промяна в количеството ензими вследствие на експресиите на ядрени и пластидни гени и бърза чрез посттранслационни модификации като промени в рН, Mg^{2+} , протонен градиент и редукция на дисулфидни връзки.

• Активация на RuBisCO

Каталитична активност на RuBisCO изисква участието на специфичен ензим – RuBisCO-активаза, който използва хидролиза на АТФ, за да освободи активния център на RuBisCO от инхибиращи захарофосфати. След това ензимът се карбоксилира – активираща молекула CO_2 се свързва с лизинов остатък в активния център, образувайки карбамат. Този карбамат се стабилизира чрез свързване на Mg^{2+} , което предизвиква конформационна промяна и преминаване на RuBisCO в активна конформация, способна ефективно да карбоксилира рибулозо-1,5-бисфосфат.

• Фередоксин–тиоредоксинова система и ензимите от цикъла на Калвин–Бенсън

Редуцираният фередоксин от ФС I редуцира тиоредоксина чрез фередоксин-тиоредоксин редуктаза, превръщайки дисулфидните връзки в свободни тиолове ($-\text{SH}$). Редуцираният тиоредоксин активира ключови ензими (RuBisCO-активаза, фруктоза-1,6-бисфосфатаза, седохептулоза-1,7-бисфосфатаза, фосфорибулокиназа) чрез редукция на техните дисулфидни мостове, което предизвиква конформационни промени и повишава каталитичната им активност. Така светлината осигурява ефективна работа на цикъла при наличието на АТФ и НАДФН от светлинните реакции.

Адаптации за оптимална карбоксилазна активност на RuBisCO

При осветяване растенията усилено приемат CO_2 през устицата, който преминава през клетъчна стена, плазмемембрана, цитоплазма и хлоропластна обвивка. При висока фотосинтетична активност аквапорините (трансмембранни протеини, образуващи хидрофилни пори за пасивен транспорт на вода и малки молекули) улесняват бързия транспорт на CO_2 към стромата, когато дифузията е ограничена от биомембраните.

RuBisCO има висока афинитет както към CO_2 , така и към O_2 , затова при въздушен газов състав (висок O_2 , нисък CO_2) се засилва фотодишането (оксигеназната активност на RuBisCO). За да увеличат концентрацията на CO_2 около RuBisCO и да намалят фотодишането, растенията са развили различни механизми за неговото концентриране.

При част от растенията процесът на химично свързване на CO_2 протича по механизъм, известен като С4-фиксация (цикъл на Хетч и Слек), а съответните видове се означават като С4-растения. Листата им се характеризират със специфична анатомична организация, различна от тази на С3-растенията, известна като кранц анатомия. Фотосинтезиращите тъкани са диференцирани в два морфологично и функционално различни типа клетки – мезофилни клетки, разположени радиално и по-рехаво, и клетки около проводящите сночета (КОПС), организирани в плътен двоен слой от относително малки, дебелостенни клетки. Двата клетъчни типа са свързани чрез голям брой плазмодезми, което осигурява интензивен метаболитен обмен между тях. Хлоропластите проявяват структурен диморфизъм – те са гранални в мезофилните клетки и агранални или слабо гранални в КОПС. Клетките около проводящите сночета съдържат по-голям брой и по-едри хлоропласти, повече митохондрии и по-малки централни вакуоли. Фиксацията на CO_2 започва в мезофилните клетки, където въглеродният диоксид се свързва с фосфоенолпируват под действието на ензима фосфоенолпируват карбоксилаза, при което се образува оксалоцетна киселина – съединение с четири въглеродни атома, дало името на С4-фиксацията. В класическия вариант оксалоцетната киселина се редуцира до ябълчна киселина, която се транспортира до клетките около проводящите сночета. Там малатът се декарбоксилира до пируват, а отделеният CO_2 се фиксира от RuBisCO и навлиза в цикъла на Калвин, аналогично на С3-фото-

синтезата. Физическото пространствено отделяне на RuBisCO от атмосферата и от светлинните реакции потиска оксигеназната активност на ензима, намалява фотодишането и значително повишава ефективността на фиксацията на CO_2 . Поради това C_4 -растенията проявяват по-висока фотосинтетична продуктивност при високи температури и силна светлинна интензивност. Макар да представляват едва около 3% от всички растителни видове, към тях принадлежат икономически важни култури като царевица, сорго, захарна тръстика и просо.

Ксерофитните растения, сред които се включват кактусите и повечето сукуленти, използват различен механизъм за фиксация на въглероден диоксид, известен като САМ-фиксация (Crassulacean Acid Metabolism). Биохимично този механизъм е сходен с C_4 -фиксацията, но липсва физическо пространствено разделение между първичната фиксация на CO_2 и цикъла на Калвин. Вместо това се наблюдава времево разделение на процесите: фиксацията на CO_2 протича през нощта, когато устицата са отворени, като въглеродният диоксид се фиксира до ябълчна киселина, а през деня малатът се декарбоксилира, отделеният CO_2 се поема от RuBisCO и навлиза в цикъла на Калвин. По този начин при САМ-растенията фиксацията и асимилацията на CO_2 са разделени във времето, което представлява ефективна адаптация към условия на суша и високи температури.

Растителните *in vitro* култури е метод, при който се култивират изолирани клетки, тъкани, органи или интактни растения в хранителни среди, при стерилни условия. В зависимост от степента на дезинтеграция и нарушаване на корелационните взаимоотношения, се създават различни видове култури *in vitro*:

- Култури от интактни растения
- Зародишни (ембрио)култури
- Органи култури
- Тъканни култури
- Клетъчни култури
- Протопластни култури

1. Култури от интактни растения

Когато семе се посее *in vitro*, от него се развива прорастък и накрая цяло растение. Иницирането на култура от семена е методологично най-лесният подход и с най-висока ефективност, ако се сравни с повърхностната стерилизация, развитие и размножаване на изолирани растителни части. В допълнение, наличието на хранителни ресурси и растежни регулатори в семената осигуряват специфични условия за растеж и развитие според изискванията на конкретният генотип и правят възможно при някои растения реализирането на *in vitro* култури върху бедни на соли хранителни среди или върху стерилен агар без добавени хранителни ресурси и растежни фактори.

Значение и практическото приложение на културиот интактни растения:

- Повишаване ефикасността на покълване на семена, които трудно покълват *in vivo*;
- Преждевременно покълване чрез прилагане на растежни регулатори;
- Създаване на стерилни и в отлично физиологично състояние прорастъци, които да служат като ресурс за експланти за инициране на други видове *in vitro* култури.

2. Зародишни(ембрио) култури

Ембрио културите представляват стерилна изолация и растеж на зрял или незрял зародиш *in vitro*, с цел да се получи жизнено растение. При тези култури се стерилизират зрелите семена или плодове(в случаите на незрели семена), след което при стерилни условия се изолира ембриото.

Значение и практическо приложение на зародишните култури:

- Преодоляване на покой при семена;
- Скъсяване на цикъла на размножаване;
- Оцеляването на ембрио при култури, при които се наблюдава фертилизация, но не и развитие на ембрио;
- Преодоляват се бариери на несъвместимост, които водят до преждевременно загиване на ембриото.
- Моделна система за:
- възпроизвеждане на ембриогенеза в контролирани условия, което дава възможност за изучаване процесите на формиране на зародиша;
- за изучаване временната реализация на генетичната информация и функцията на гените в ранния период от индивидуалното развитие на организма;
- за изясняване причините и условията на клетъчното делене, диференциация, морфогенеза и органогенеза.

Соматичният ембриогенез е процес на диференциране на соматични клетки до формиране на ембрио. Соматичното ембрио морфологично наподобява зиготното ембрио – то е биполарно и има типичните ембрионални структури, но соматичното ембрио се развива по различен начин от зиготното.

Значение и практическо приложение на култури от соматично ембрио:

- Намират широко практическо приложение във връзка с мащабно вегетативно размножаване на култури от интерес;
- Подходящи култури за генетична трансформация;
- Подходящи култури за криопрезервация, което ги прави подходящ обект за генни банки;
- Моделна система за ембриологични изследвания.

3. Органни култури

Органната култура може да бъде вегетативна или репродуктивна органна култура, според вида на култивираните експланти.

Коренова култура. Изрязаните корени в много отношения имат аналогична морфология и метаболизъм на корените на интактните растения.

Значение и практическото приложение на коренови култури:

- Изолираните корени имат много висока метаболитна активност и в относително прости синтетични среди те могат да осъществяват синтеза на различни органични киселини, аминокиселини, белтъци, много ензими, витамини, цитокинини, гиберелини, АБК, вторични метаболити, съединения от фенолен тип, от ароматният ред, гликозиди, кумарини, алкалоиди.
- Създадени посредством трансформация с *Agrobacterium rhizogenes* „hairy root“ култури имат генетична и биосинтетична стабилност. Те могат да синтезират голямо количество вторични метаболити; могат да се култивират на среда без фитохормони и имат бърз растеж, което скъсява периода за култивиране. В допълнение те се използват като биологични моделни за:
- Функционален анализ на гени.
- Експресиране на чужди гени.
- Биореактори за вторични метаболити. Особено значение имат култури на т.н. медицински растения.
- Тези култури могат да продуцират компоненти(вещества), които не са характерни за растението, включително и метаболити с променен състав.

Листни култури. Листът е самодиференциращ се орган, поради което в изолирани условия се развива така, както и на интактно растение. Експлантите от листа на повечето растителни видове са способни към образуване на калус, а също така към диференциация на добавни пъпки, зародиши или корени. Пътя по който ще тръгне развитието на листата зависи главно от баланса на растителните хормони приложени в култивационните хранителни среди.

Значение и практическото приложение на листните култури:

- Биологична моделна система за изучаване продължителността на живот при листата; физиологията на растеж и развитие на листа при контролируеми условия, както и механизма на преход на клетките към дедиференциация.
- Експланти за агробактериална трансформация;
- Изолирани листа и части от тях се използват за получаване на протопласти;
- Стартов материал при хибридизация на соматични клетки.

Репродуктивни органни култури. Обекти на култивиране при репродуктивните органни култури са изолирани плодове, цветове или отделни техни части: чашелистчета, венчелистчета, семепъпки, завръзи, тичинки, прашници, Polen или микроспори.

Значение и практическо приложение:

- Биологични модели за изучаване на закономерности при морфогенез свързан с образуване и развитие на репродуктивните растителни органи;
- *In vitro* фертилизация за създаване на хибриди.
- Използват се като експланти за инициране на соматичен ембриогенез.
- Създаване на хаплоидни растения.
- Създаване на хомозиготни диплоидни линии.

4. Тъканни култури

Към този вид се отнасят култури от тъкани, съставени от активно делящи се клетки – меристемна (връхна стъблена меристема) и калусна тъкан.

Връхните стъблени меристеми са разположени във връхните и страничните пъпки на стъблото и клонките. Освен че образуват нови клетки и осигуряват нарастване на дължина на стъблото и клонките, те също така формират листни зачатъци (листни примордии), които се развиват в листа, както и зачатъци на странични пъпки, които се развиват в странични клонки. Апикалната стъблена меристема е с височина 0,1 мм и ширина 0,25 мм и остава свободна от вирусни частици при инфектирани растения. Поради това се използва за създаване на здрави растения – т.нар. чисти стокове. Стъблени връхчета с толкова малък размер трудно могат да се изолират без да се нарани меристемната тъкан, поради което заедно с меристемата се изолират 1 – 2 примордия. По-големи стъблени сегменти, обхващащи връхна стъблена меристема, се използват успешно за ускоряване на размножаването на растенията и масово производство на посадъчен материал от селскостопански и декоративни растения.

Култури от изолирани меристеми се използват успешно за:

- Микроразмножаване на избрани(ценни) растителни видове;
- Освобождаване на растения от вируси;
- Скъсяване на периода за реализиране на селекционно създадени нови сортове и хибриди;
- Изследване процесите на морфогенез.

Калусната тъкан е аморфна маса от слабо организирани клетки, която се образува в резултат на неорганизирана пролиферация. Индукцията на калус се свързва с промяна състоянието на клетките, в резултат на нараняване, инфекция или от присъствието на вещества стимулиращи възстановяването на митотичната активност. Когато неделящи клетки от диференцирани тъкани се култивират върху хранителна среда, която инициира и поддържа тяхната пролиферация, те първоначално претърпяват определени промени, необходими за достигане на меристемно състояние. Явлението, при което зряла клетка се връща към меристемно състояние и образува недиференцирана калусна тъкан, се означава като „диференциация“. За разлика от животните, при които диференциацията обикновено е необратима, при растенията диференцираните клетки запазват способността си за диференциация до меристемно състояние, стига да притежават интактна мембранна система и жизнеспособно ядро. Когато експланта е съставен от диференцирани клетки е необходимо да протекат процеси на диференциация, а меристемните клетки, започват да се делят веднага. Растителен материал, който най-често се използва за калусни култури са млади здрави тъкани, богати на хранителни ресурси и растежни регулатори. След индукция и култивиране калусната култура може да послужи като изходен материал за регенериране на цяло растение, което се осъществява посредством органогенеза или ембриогенеза(соматична ембриогенеза). Органогенезата при калусните култури се свързва с промени водещи до вторична диференциация. В зависимост от условията на култивиране и вида на растението се образуват корени(ризогенеза) или шут (стъблен прорастък).

Значение и практическо приложение:

- Биологични модели за изучаване на клетъчното делене, диференциация, органогенез и соматичен ембриогенез;
- Соматоналното възраване, което се появява при калусни култури намира приложение за индукция на генетични промени;
- Инициране на суспензионни клетъчни култури най-често стартира от калусна тъкан.
- Използва се като етап предхождащ инициране на соматичен ембриогенез.
- Калусна тъкан се използва за продукция на протопласти и последваща соматична хибридизация.

5. Култури от единични клетки

Суспензионните култури представляват суспензии от единични растителни клетки и малки клетъчни клъстери (микрокапи), отглеждани в течна среда. Създаването на суспензионни култури се осъществява чрез пренасяне на малки фрагменти калусна тъкан в течна среда и култивиране при постоянно разклащане. След няколко дни в средата се забелязват единични клетки и микрокапи, които се култивират при непрекъснато разклащане. Суспензионна култура може да бъде получена(макар и значително по-бавно) и чрез инокулиране в течна среда на експланти от

различни растителни материали (например фрагмент от хипокотил или котилидон). При постоянното разклащане на течната среда от експланта ще се отделят дялящите се клетки.

Значение и практическо приложение:

- Биологични модели за изследване:
- Продължителността на отделните фази на клетъчният цикъл.
- Регулаторното влияние на химични и физични фактори върху клетъчният цикъл.
- Кинетика на синтезата на определени макромолекули.
- Характеристика на мутагенни фактори въздействащи върху синтеза на ДНК, РНК, хистони и определени ензими.
- Биореактори за продукция на биомаса и ценни метаболити.

Протопластни култури – създаване и култивиране на суспензия от изолирани протопласти. Протопласта представлява растителна, бактериална или фунгицидна клетка с отстранена клетъчна стена. Комбинирането на възможността на изолираните протопласти, да се сливат и образуват хибриди с възможността на протопластите, да регенерират до цяло растение, дава възможност за създаване на хибридни растения, чрез сливане на соматични, а не полови клетки. Броят на хромозомите при соматичните хибриди е равен на сумата от броя на хромозомите на двата донорни вида. Освен ядрената наследствена информация, соматичните хибриди притежават цитоплазмени гени и от двата донора. Преодоляване на таксономични или други бариери правещи невъзможно кръстосването при *in vivo* условия.

Значение и практическо приложение:

- Моделна система за детайлно изучаване на клетъчната стена, процеса на синтезиране на клетъчната стена и взаимодействието на плазмалемата с клетъчната стена, преминаването на частици, пропускливост, устойчивост към патогени, сливане на мембрани.
- Моделна система за изучаване хормоналната регулация на транскрипционните процеси.
- Създаване на генетично модифицирани растения.
- Извършване на соматична хибридизация.
- Цитоплазмена хибридизация.
- Интегриране на ядра(или части от ядра) и други клетъчни органели.

6. Тотипотентност

Вродената способност на растителната клетка да даде начало на цяло растение – капацитет, който често се запазва дори след като клетката е претърпяла крайна диференциация в растителния организъм – се описва с термина „клетъчна тотипотентност“. За да прояви своята тотипотентност, диференцираната клетка първо преминава през дедиференциация, последвана от редиференциация. В повечето случаи дедиференциацията води до образуване на калус. Многоклетъчният експлант обикновено включва клетки от различни типове. В резултат на това полученият от него калус е хетерогенен по отношение на способността на съставните му клетки да формират цяло растение или отделни растителни органи („редиференциация“).

Ембрионалните експлант често показват диференциация на корени, леторасти или ембриони без междинна калусна фаза. Методите на тъканните култури предоставят не само отлична възможност за изучаване на факторите, които индуцират тотипотентността на клетките, но и позволяват изследване на механизмите, контролиращи цитологичната и хистологичната диференциация.

Членестоногите са най-богатия тип живи организми на Земята. До момента са известни близо 1,2 милиона вида, но се предполага, че са около 10 пъти повече. Тялото им е начленено, подобно на прешленестите червеи, и е покрито с хитинова кутикула. Крайниците им са производни на параподите на многочетинестите червеи (*Polychaeta*) и са начленени, откъдето идва името на цялата група. Членестоногите имат три ясно обособени отдела на тялото – глава, гърди и коремче. Понякога, в резултат на сливане на част от сегментите, може да е разделено на главогърд и коремче, а при пълното им сливане се оформя цялостен щит (карапакс). Типът се обособява като морска група организми преди около 538 милиона години и до днес се намира в биологичен прогрес.

Броят на сегментите, изграждащи тялото, е различен при различните групи и видове. Тялото е покрито с твърда хитинова кутикула, която изпълнява ролята на екзоскелет – с нея се свързват лежащите под нея мускули, но има и защитна функция – предпазва не само механически тялото, но при сухоземните форми и от загуба на вода. Твърдостта на хитина, обаче, пречатства видимото нарастване на тялото. Затова, през определени интервали от време, те събличат старата обвивка в процеса на т. нар. линееене. Докато новата хитинова обвивка е още мека, клетките и тъканите под нея поемат вода и се разгъват. След втвърдяването ѝ, видимите процеси на растеж и развитие спират, но под нея те продължават.

Почти всички телесни сегменти на по-низшите представители носят чифтни начленени крайници или техни производни, общо означавани като „придътци“. Броят им силно варира и функциите им са най-разнообразни. В зависимост от групата, към която се отнасят представителите, и това в кой участък на тялото се намират, се делят на: антени, антени, мандибули, максили, хелицери, педипалпи, ходилни крака, копулационни органи, церки и др.

По-голяма част от членестоногите са свободно живеещи. Между тях има много растителноядни, детритоядни, всеядни, хищници, паразити и паразитоиди. От паразитите преобладаващи са ектопаразитите.

Храносмилателната им система е тръбеста и е представена от предно, средно и задно черво, завършващо с анус. Предното и задното черво имат ектодермален произход и затова са покрити с кутикула. Предното черво се дели на уста, глътка, хранопровод и стомах. В зависимост от вида на храната и начина на хранене, около устата се наблюдават различни типове устен апарат, изграден от видоизменени крайници.

Дихателните органи при първично водните членестоноги са хриле, а при сухоземните – псевдотрахеи (мокрици), трахеи (многоножки, насекоми, кърлежи), белодробни торбички (скорпиони), или дишат едновременно с трахеи и белодробни торбички (повечето паяци). Отворите към атмосферата се наричат стигми. Дребните видове не развиват дихателни органи и дишат с цялата повърхност на тялото.

Кръвоносната система на членестоногите е от отворен тип, поради оформянето на смесена телесна празнина по време на ембрионалното им развитие. Съставена е от сърце и главни кръвоносни съдове. Капиляри липсват – на тяхно място се развиват лакуни (миниатюрни цепнатини между тъканите и органите). От аортата безцветната им кръв нахлува направо в лакуните. Кръвта се връща обратно в сърцето по вени или венозни синуси. Рядко, при някои ларви на водни насекоми, в кръвта може да има разтворен хемоглобин.

Отделителната система при първично водните групи на членестоногите (ракообразни, месоопашати) е изградена от видоизменени метанефридии. При първично сухоземните групи отделянето се извършва с малпигиеви тръбици – слепи израстъци на червото, които активно поемат непотребните вещества от кръвта и ги отделят в началото на задното черво.

Нервната система е ганглийна и е изградена от надгълътъчен (мозъчен) ганглий и коремна нервна верига. Първият ганглий на коремната нервна верига се нарича подгълътъчен. Той е свързан с надгълътъчния чрез околгълътъчните конективи.

Сетивността на повечето членестоноги е добре развита. Имат разнообразни и сложно устроени осезателни, обонятелни, слухови и зрителни органи. Очите на ларвите са прости (оцели),

а при повечето възрастните – сложни (фасетни) очи. Цялостният образ, който формират, е решест. При някои хищни форми очите са изградени от хиляди фасетки (оматидии).

Повечето членестоноги са разделнополови животни, с ясно изразен полов диморфизъм. Рядко развитието е със смяна на поколенията – едното е разделнополово, а другото е партеногенетично (водни бълхи, листни въшки). Понякога се срещат и хермафродитни форми – най-често при вторично преминалите към уседнал начин на живот морски представители (морски жълъди). Повечето членестоноги са яйцеснасящи, но има и яйцеживородни представители (листни въшки). При малък брой развитието е пряко (аметаболно; прав речен рак). При крилатите насекоми е с превръщане (метаморфоза) и преминава през няколко ларвни стадия. При непълната метаморфоза ларвите се излюпват или „раждат“ оформени като възрастните, а при пълната метаморфоза – ларвите имат червеобразна форма. За да придобият облика и устройството на възрастните, те преминават през стадий какавида, в който се извършва цялостното вътрешно и външно преустройство на организма. Степента на развитие на зародиша зависи от количеството на резервните хранителни вещества в яйцето. Когато те са малко, ларвите се излюпват в по-ранен етап на онтогенетичното си развитие и се нуждаят от какавидния стадий, за да придобият завършения облик на възрастните форми. Необходимата енергия за това се черпи от натрупаните резерви в мастното тяло на порастналите ларви.

По време на зародишното развитие ектодермата формира нервната и трахейната система, сетивните органи, предното и задното черво. Средното черво има ендодермален произход. Мезодермални образувания са целомните торбички, от чиито стени се образуват мускулатурата и половите жлези. В хода на ембрионалното развитие целомните торбички се разпадат и целомът, формиращ вторичната телесна празнина, се слива с първичната телесна празнина, в резултат на което се образува смесена телесна празнина (миксоцел).

Голям е броят на паразитните членестоноги и значението им се изразява в механичното и токсично въздействие, което оказват върху гостоприемниците – чрез инокулираните токсини в процеса на кръвосмученето, но и като естествен резервоар и вектори (преносители) на трансмисивни инфекциозни заболявания.

Тип **Arthropoda** се разделя на четири подтипа: **Branchiata** (хрилнодишащи), **Tracheata** (трахейнодишащи), **Chelicerata** (хелицерови) и **Trilobitomorpha** (трилобитообразни). Трилобитообразните са фосилна група от видове, еволюирали от древните многочетинести червеи, и заедно с хелицеровите формират единия от двата еволюционни клона на членестоногите – **Amandibulata**. Вторият еволюционен клон се нарича **Mandibulata** и към него се отнасят представителите на хрилнодишащите и трахейнодишащите. Еволюционният им произход също е свързан с древните полихети.

ПОДТИП CHELICERATA (ХЕЛИЦЕРОВИ) – МОРФОЛОГИЯ НА ТЯЛОТО ПРИ РАЗЛИЧНИТЕ РАЗРЕДИ И ПРЕДСТАВИТЕЛИ

Подтип **Chelicerata** включва предимно сухоземни членестоноги, при които тялото е разделено на главогърд и коремче. Главогърдът е съставен от сливането на 6 сегмента. На него са разположени 6 двойки крайници: първата е разположена пред устата и се наричат хелицери; втората двойка се нарича педипалпи; останалите 4 двойки са ходилни крака. Коремчето не носи типични крайници – те са силно видоизменени в хриле, лировидни органи, белодробни торбички или паяжинни брадавици. При сухоземните представители отделителните органи са малпигиеви тръбички, а дихетилната система е изградена от белодробни торбички или трехеи; повечето паяци дишат с по чифт белодробни торбички и трахеи.

Мнозинството от сухоземните хелицерови имат водонепроницаем трети слой на кутикулата (епикутикула) и това е една от предпоставките за широкото им разпространение на сушата. Повечето представители са свободноживеещи хищни форми или са паразити. Сред кърлежите са известни и растителноядни форми, някои от които са сериозни неприятели по селскостопански култури (паяжинообразуващи акари). Паразитните кърлежи са преносители на опасни инфекциозни заболявания.

Към подтип **Chelicerata** се отнасят представителите на три класа: **Xiphosura** (мечоопашати), **Arachnida** (паякообразни) и **Pantopoda** (морски паяци). До момента са описани над 77 000 вида, но се предполага, че действителният им брой е около 500 000 вида. За фауната на България са установени около 2 700 вида (предимно кърлежи и паяци).

КЛАС XIPHOSURA – МЕЧООПАШАТИ

Към клас **Xiphosura** се отнасят 4 реликтни вида, обитаващи тропичните и субтропични крайбрежия на световния океан, включително бракични (полусолени) местообитания. Притежават дисковидно тяло с ясно обособени три отдела: главогърд, коремче и подвижен опашен шип. В образуването на опашния шип, освен телсона, вземат участие и последните три коремни сегмента. С негова помощ мечоопашатите се заравят в морското дъно. Дишат с хриле. Отделителните органи са видоизменени метанефридии. Хранят се с мекотели, червеи и други безгръбначни животни. С опашния шип достигат 90 cm дължина. Меченосецът (*Limulus polyphemus*) обитава тропичното атлантическо крайбрежие на Северна Америка. Видът е бил активно експлоатиран десетилетия наред от човека за добиването на амебоцитен лизат (от кръвта) във фармацевтичната промишленост.

КЛАС ARACHNIDA – ПАЯКООБРАЗНИ

Паякообразните са първично сухоземни форми, дишащи с белодробни торбички или трахеи. Ларвните форми и дребните видове дишат с цялата повърхност на тялото. Рядко се срещат и вторично преминали към сладководен начин на живот паяци или кърлежи. Тялото на паякообразните е съставено от два отдела: главогърд и коремче. Последното може да е сегментирано или несегментирано. Отделителните органи са малпигиеви тръбички. Повечето паякообразни имат извънтелесно смилане и приемат полутечна храна. Хелицерите най-често служат за пробождане и впръскване на отрова в жертвата или гостоприемника. Педипалпите при скорпионите и лъжескорпионите приличат на щипки, а при паяците наподобяват къси крачета и мъжките ги използват като копулационни органи. При много видове паякообразни средното черво образува странично издути дивертикули, увеличаващи вместимостта и всмукващата му повърхност. Нервната система на паякообразните показва ясно изразена тенденция към концентрация, корелираща със степента на сливане на телесните сегменти. Имат високо развита сетивност. Притежават осезателни четинки (трихоботрии) по педипалпите, краката и повърхността на тялото. С тях регистрират механични дразнения и трептения на въздуха. Коремно са разположени и лировидните им органи, с които възприемат химични дразнения и изпълняват ролята на обонятелни органи. Притежават различен брой прости очи, разположени дорзално на главогърда. При паяците, например, те са 4 двойки, а при кърлежите – 1 двойка.

Паякообразните са разделнополови животни. Половите им жлези се намират в коремчето. Половият отвор е нечифтен и е разположен на първия коремчен сегмент. При женските нормално се развива и семеприемник. Оплождането е външно-вътрешно, чрез предварително отделен от мъжките сперматофор, в който гаметите са запазени от изсъхване. При скорпионите и лъжескорпионите се наблюдава ритуална „брачна разходка“, в края на която мъжките поставят сперматофор върху почвата и придърпват женските върху него, за да го прехвърлят в половите ѝ проводници. При кърлежите оплождането се предшества от типична копулация. При солифугите и паяците тя се осъществява чрез хелицерите или педипалпите. Мъжките паяци предварително прехвърлят сперматофора в канала на последното членче на педипалпите си и в края на „брачния танц“ бързо го пренасят във влагалището на женските. При някои видове влагалището е оформено като външна тръбичка, означаваща като епигина (тигров паяк).

Паякообразните снасят яйца, богати на жълтък, но има и яйцеживораждащи видове (скорпиони и лъжескорпиони). Развитието им обикновено е пряко (аметаболно), като само при кърлежите е с анаморфоза – ларвите се излюпват с по-малък брой телесни сегменти и имат 3 двойки ходилни крака, но след първото линеее достигат нормалния брой от 4 двойки.

Разред **Scorpiones** – Скорпиони. Коремчето на скорпионите е сегментирано и разделено на две: по-широка предна част (преабдомен) и по-дълга тясна част (постабдомен). Постабдоменът завършва с телсон, извит във формата на шип. В издутата му част е поместена чифтна отровна жлеза. Главогърдът носи хелицери, педипалпи и 4 двойки ходилни крака. Педипалпите са силно уголемени, клещовидни. С тях те хващат жертвата, повдигат я нагоре и я убождаат с отровния шип на телсона, извивайки постабдомена напред и нагоре. Скорпионите са живораждащи и женските носят малките върху себе си, докато укрепнат. Повечето видове обитават територии с топъл климат, като най-едрият достигат до 23 cm. Вентрално, на втория коремчен сегмент, имат чифт богато инервирани гребенести органи. Те представляват видоизменени крайници и имат обонятелна функция. Скорпионите притежават чифт медиални очи, разположени централно на главогърда и 2 – 5 двойки латерални очи – в предните ъгли на главогърда. Зрението им е слабо,

но могат да възприемат поляризираната светлина. За да се ориентират, разчитат основно на осезанието и обонянието. Дишат с белодробни торбички. Нощно активни животни са и излизат на лов главно за насекоми и други членестоноги. Денем се крият под камъни, в малки дупки и цепнатини, понякога и в жилищата на човека. Скорпионите не пренасят инфекциозни заболявания. Отровата им съдържа протеолитични ензими, невротоксини, съсирващи или противосъсирващи вещества. Ужилванията са болезнени, но на дребните евроазиатски видове не са опасни за човека. При някои тропични видове, обаче, могат да бъдат животнозастрашаващи, най-вече за децата и възрастните. До момента са писани над 2500 вида скорпиони. У нас са установени 5 вида от род *Euscorpis* с дължина до 4 см. Отровата им не е опасна, но са възможни локални възпалителни реакции и вторично контаминиране на раната с микроорганизми.

Разред **Pseudoscorpiones** – Лъжескорпиони. Дребни паякообразни, приличащи на скорпиони, но коремчето е без постабдомен и отровен шип. Педипалпите са с формата на щипки. Дишат с трахеи. Размерите им варират от 1 до 6 mm. Размножаването е подобно на скорпионите. Ларвите остават закрепени с хоботчетата си към майчиния яйцепровод до първото линееене. Лъжескорпионите се срещат в почвата, под камъни, кори на дървета и по-рядко в жилищата на човека. Изхранват се с дребни членестоноги, техните яйца и ларви. Познати са над 3300 вида. У нас са установени 59 вида. Книжният лъжескорпион (*Chelifer cancroides*) се среща в стари библиотеки, хербариуми и сбирки, където се храни с дребни членестоноги и техните яйца. Тялото е жълто-кафяво с размери до 4 mm.

Разред **Solifugae** – Солифуги. Разредът обединява едри паякообразни с дължина до 15 cm, включително краката. Известни са над 1000 вида, разпространени в сухи и топли географски райони. У нас е установен само един вид. Тялото им има древно разчленяване. Към главогръда, наречен сложна глава или пропелтидий, не са присъединени сегментите на третата и четвъртата двойка крака. Хелицерите са силно задебелени и извити, вертикални. С тях улавят и раздробяват храната. Педипалпите приличат на ходилни крака и вземат участие в ходенето и скачането. Коремчето е сегментирано, вретеновидно. Тялото и краката са гъсто покрито с трихоботрии. Дишат с трахеи. Не притежават отровни жлези. Оплождането е със сперматофор, който мъжките прехвърлят с хелицерите във влагалището на женските. Последните снасят до 200 яйца и се грижат за тях до излюпването им. Гръцкият галеодес (*Galeodes graecus*) се среща се в най-югозападните части на България и топлиите райони на Балканския полуостров. Тялото е кафеникаво, гъсто окосмено, с дължина до 5 cm.

Разред **Opiliones** – Сенокосци. Сенокосците са относително богат на видове разред, включващ представители с размери на тялото до 2,2 cm. Главогръдът им е широко свързан с коремчето. Последното е сегментирано и без стъбълце, за разлика от повечето паяци. Хелицерите им са клещовидни, а педипалпите обикновено наподобяват къси крачета. Краката са тънки и дълги, с многочленести стъпала, достигащи до 16 cm дължина при едрите видове. При опасност лесно късат крачетата (автономия), запазвайки способност да се свиват самотоятелно за известен период от време. Дишат с трахеи. Няма отровни жлези. Размножават се с яйца; при някои видове е установена партеногенеза. Повечето от тях са хищници, но има и растителноядни форми. Познати са над 6650 вида, но се предполага, че действителният им брой е близо 10 000. За фауната на България са установени 61 вида сенокосци. Обикновеният сенокосец (*Phalangium opilio*) е сиво-жълтеникав, с дължина до 1 cm. Често се среща в тревисти местообитания. Хищник, поемащ понякога и растителни сокове.

Разред **Aranei** – Паяци. Тялото на паяците има стеснение между главогръда и коремчето, защото седмият им сегмент е превърнат в стъбълце. То придава по-голяма подвижност на коремчето, необходима за изплитането на паяжината. Последното членче на хелицерите притежава подвижно нокътче, върху което се отварят протоците на отровни жлези. Педипалпите на мъжките индивиди са разширени на върха, понеже играят ролята на копулационен орган. В последното му членче има сложно извит канал. В него те прехвърлят спермата преди копулация. Примитивните видове дишат с два чифта белодробни торбички и имат сегментирано коремче. Висшите представители дишат с по двойка белодробни торбички и трахеи, разположени вентрално на несегментитаното коремче. Паяците притежават 8 прости очи, разположени обикновено в две дълги, в предната част на главогръда. Медиалните очи обикновено са по-големи от останалите. Скачащите паяци виждат добре на разстояние до 20 – 30 cm. Останалите имат по-слабо зрение. Нервната им система е сложно устроена и поведението им не отстъпват на това на насекомите. Най-сложни са инстинктите им за размножаване, изплитането на паяжинни мрежи и ловните умения. Протоците на паяжинните им жлези се отварят на върховете на паяжинните брадавици, разположени вентрално, в задната част на коремчето. Паяжинните брадавици са хомоложни на

коремните крайници. Течният им секрет се изтегля с помощта на задните крайници в паяжинна нишка, която бързо изсъхва на въздуха. С нея паяците плетат различни видове паяжина, предназначена за улавяне на жертвите, за изграждане на местообитание, за обвиване на яйца в яйчен пашкул и др. Паяците имат ясно изразен полов диморфизъм, като женските са по-едри и педипалпите на върха им не са разширени. Рядко, при някои видове, женските изяждат мъжките след копулация. В семеприемника си женските запазват сперматозоидите на мъжките живи през целия си живот. Снасят до няколкостотин яйца, обвити в яйчни пашкули. Развитието им е пряко. Хранят се с насекоми, други членестоноги или с дребни гръбначни животни. Паяците включват над 53 000 вида; за фауната на България са установени над 1 000 вида. Къщният паяк (*Tegenaria domestica*) е светлосив до кафеникав, с дълги крайници. Домофилен вид, обитаващ тавани, мазета и пристройки. Паякът кръстоносец (*Araneus diadematus*) плете многобъглните си паяжини по високи треви, храсти и др. Достига до 2 cm дължина. Върху гръбната страна на коремчето има петна, наподобяващи кръстовидна диадема, откъдето идва и названието му. Тарантулите от род *Licosa* се срещат по тревисти места и изграждат вертикални убежища – до 30 cm дълбоки дупки, „тапицирани“ с паяжина. Активно търсят и нападат жертвите с мощните си хелицери, след което ги пренасят в убежището си. Женските носят яйчните пашкули прикрепени към паяжинените си брадавици. Ухапванията са болезнени, но не са фатални за човека. Женските на черният отровен паяк (*Latrodectus tredecimguttatus*) достига до 1,5 cm дължина и имат червеникави петна върху коремчето. Плетат гнездата си по земната повърхност или в ниските треви. Отровата им е по-силна от тази на пепелянката и освен за човека е опасна още за конете, говедата и др., но е безвредна за свинете и овцете. Мъжките не са отровни. Видът предпочита тревистите местообитания в Южна България. Тежките случаи на отравяне могат да бъдат животозастрашаващи. Препоръчва се термична обработка на раните непосредствено след ухапванията, за да се денатурират токсичните белтъчни съставки на отровата. Необходима е хоспитализация и лечение.

Разред **Acarī** – Кърлежи. Тялото на повечето кърлежи е несегментирано поради пълното сливане на телесните им сегменти. Размерите им варират от 0,2 mm до 3 cm. Главичката им (просома) е образувана от първите два телесни сегмента и техните придатъци (хелицери и педипалпи), превърнати в хоботовидни органи за пробиване, прикрепване и осезание; при мъжките играят роля и на копулационен апарат. Често върху нея има и две прости очи. При паразитните видове главичката е с широка основа, от която напред излиза уплътнен хипостом, покрит с насочени назад шипчета. Зад главичката сегментите на тялото са слети в торбовидна опистосома. При част от кърлежите гръбната кутикула е силно уплътнена в твърдо щитче. Тялото на женските кучешки кърлежи, зад щитчето, може да увеличи обема си до 200 пъти, което им позволява да гладуват години наред след обилно хранене. Дишат с трахеи, но дребните представители и ларвните форми дишат с цялата повърхност на тялото. Кърлежите са най-богатият разред на паякообразните, включващ над 54 000 вида, но се предполага, че броят им многократно надвишава това число. По начина на храненето се делят на сапрофаги, растителноядни, хищници и паразити. Последните са способни трансмисивно да пренасят вирусни и бактериални инфекции, но също и паразитни едноклетъчни (бабезии). Кучешките кърлежи (сем. **Ixodidae**) имат широко разпространение – гори, поля, пасища и помещениата за добитък. Повечето видове нападат усилено през пролетта и ранното лято. Придвижват се неусетно и хапят безболезнено, понеже слюнката им съдържа анестезиращи вещества. След нахранването женските снасят до 2000 яйца. Кучешкият кърлеж (*Ixodes ricinus*) паразитира по гризачи, таралежи, зайци, сърни, елени, диви кози и селскостопански животни. Нападайки човека, могат да го заразят с лаймска болест, пролетно-летен енцефалит, туларемия, петнист тиф, кримска хеморагична треска и babesii. Развитието на кърлежите продължава от 3 до 7 години. Крастата (скабиес), причинена от кърлежа *Sarcoptes scabiei*, е кожно заболяване, известно от древността. Тялото му е почти кръгло, дълго до 0,5 mm, покрито с тънка кутикула. Липсват очи и трахеи. Крастата са къси, конусовидни. Не пренася инфекции, но силно понижава имунитета на заразените и може да провокира развитието на други заболявания. Разновидности на този вид опаразитяват кучетата, котките, копитните животни, вомбатите, коалите и човекоподобните маймуни.

КЛАС PANTOPODA – МОРСКИ ПАЯЦИ

Класът обединява над 1 350 бентосни вида с дължина на тялото от 2 mm до 7 cm. С разпери крака някои от тях достигат до 70 cm. В предната част на тялото имат формиран цефалон, подобен на хобот, който е насочен напред или е подвит, с две двойки очи, разположени върху

къси туберкули. Над основата на хобота са прикрепени двойка клещовидни хелифори. Палпите са две двойки, многочленести, богато окосмени и имат сетивна функция. Ходилните крака са силно развити и в тях са поместени повечето органи и системи от останалата част на скъсеното тяло (опистосома). Разделнополови са и за оплодените яйца се грижат мъжките, като ги носят оплетени върху яйценосните си крака. Хранят се с полипи на мешести, многочетинести червеи, водни гъби, бриозои и др. Обитават морета с нормална соленост и полусолени (бракични) води. Повечето са плитководни, но има и абисални видове (до 7 000 m). Способни са да извършват автотомия на крайниците. В Черно море са установени 7 вида.

Надклас Tetrapoda е монофилетична група, включваща всички гръбначни животни с четири крайника или произлезли от такива. Към него се отнасят земноводни (клас Amphibia), влечуги (клас Reptilia), птици (клас Aves) и бозайници (клас Mammalia). Основната отличителна черта на четирикраките е наличието на две двойки крайници, пригодени за придвижване по суша, както и редица анатомични и физиологични адаптации за живот извън водната среда.

Екологични предпоставки за възникване на четирикраките. По време на девон започва рязко образуване на суша, в резултат на редуване на периоди с обилни валежи и периоди на засушаване, а средната температура на повърхността на водата е около 30°C. Заради оптималните условия, водните басейни са били пренаселени с разнообразни видове риби, които са се конкурирали за храна. На сушата са преобладавали васкуларни растения (папрати, плауни, хвощове, покритосеменни и голосеменни растения), формиращи обширни гори. За разлика от водната, сухоземната среда е предпоставяла обилна хранителна база с ниско ниво на конкуренция и много по-разнообразни места за живеене и укритие. Това предопределя и основните фактори, допринесли за прехода от водна към сухоземна среда, които могат да се обобщят като периодично пресъхване на водоеми през късен девон (преди ~370 млн. г.), недостиг на кислород във водата, търсене на нови източници на храна и избягване на конкуренцията в „пренаселените“ водни басейни. Това обуславя и прехода към сушата, където има изобилие от храна (членестоноги) и липсват сухоземни хищници в ранните етапи. Първите четирикраки е трябвало да се справят с предизвикателствата на сушата като среда, която е твърде различна от водата по физични и химични свойства. За разлика от водната среда, сухоземната съдържа много повече кислород, има по-малка плътност и по-големи температурни амплитуди (до 30 – 40°C). В тази връзка, първите четирикраки развиват ключови анатомични белези, които са от решаващо значение за поддържане на телесната им маса на сушата – солиден скелет и две двойки крайници за придвижване, както и бели дробове за по-ефективна газова обмяна, но запазват тясна връзка с водната среда, до етапа на поява на първите обвити с твърда обвивка амниотични яйца. Произходът на четирикраките е тясно свързан с еволюцията на костните риби (клас Osteichthyes), по-специално с групата на **ръкоперките (Sarcopterygii)** – риби с месести, мускулести перки с вътрешен скелет, които представляват еволюционна основа за развитието на крайниците.

Преходни форми между риби и четирикраки. Произходът на четирикраките от древни ръкоперки е добре документиран чрез богатата фосилна колекция. Палеонтологичните находки разкриват редица междинни форми, които проследяват постепенния еволюционен преход от риби към сухоземни гръбначни животни. Един от ранните примери е *Eusthenopteron* – ръкоперка от късния девон (преди ~380 млн. г.), чиито перки показват анатомични сходства с крайниците на четирикраките. Други важни находки са рибите от род *Panderichthys*, с паралелно развити хриле, бели дробове и ноздри, с череп и тяло, наподобяващи тези на ранните четирикраки, но все още със запазени истински плавници. Особено значимо е откриването на *Tiktaalik roseae* – най-убедителното палеонтологично доказателство за произхода на четирикраките от ръкоперките и за прехода от воден към сухоземен начин на живот. Подобно на *Panderichthys*, *Tiktaalik* притежава комбинация от признаци, характерни за рибите и за четирикраките, но развива и нови белези като подвижни шийни прешлени, специфично устройство на лакътната кост, наличие на кости на китката, силно развити гръдни мускули и примитивни бели дробове. Тези особености показват, че *Tiktaalik* е бил способен да се придвижва и извън водната среда. В същото време той запазва и редица характеристики на рибите – има люспи, лъчи в плавниците (но не и пръсти), специфично за рибите небце и горна челюст. Този вид е първото стъпало в еволюцията на подвижна шия и на възможността за въртеливи движения в лакътната става.

Първи четирикраки. Най-старите открити досега четирикраки са *Acanthostega* и *Ichthyostega*. Те имат стабилно рамо и бедрени кости, както и здрави крайници и силен гръбначен стълб. И при двата вида муцуната е продълговата, очите са се преместили по-назад в черепни кухини и имат пръсти за разлика от *Tiktaalik*. Те запазват и признаци на рибите като опашни плавници, странична линия и хриле. *Acanthostega* е с 8 пръста и остава силно зависим от водата, защото крайниците му не са били добре адаптирани за движение по сушата, а за плуване и ходене по дъното. Имал е хриле и ухо, пригодено за слух във водата. *Ichthyostega* е с по-развити и по-

дълги крайници, със 7 пръста и с по-малък опашен плавник, с които се е придвижвал основно по дъното в плитките води, но е излизал и на сушата. Това свидетелства, че крайниците на ранните четирикраки първо не са се развили за ходене по сушата, а за ходене под вода. *Acanthostega* и *Ichthyostega* са дали началото на родоначалниците, от които впоследствие произлизат двете големи линии – на съвременните земноводни и на съвременните представители на Amniota.

Разнообразие и еволюция на основните групи на надклас Tetrapoda

Клас Земноводни (Amphibia). Земноводните са първите четирикраки гръбначни животни, осъществили прехода от воден към сухоземен начин на живот. Обединяват всички четирикраки, които не се развиват от амниотични яйца. Произлизайки от ръкоперките през девон, запазват силна зависимост от водната среда. Амфибия означава „два живота“ и е препратка към факта, че земноводните минават през метаморфоза – развитие на индивидите от ларва, дишаща с хриле, до възрастен индивид, дишащ с бели дробове. Ларвите на земноводните се развиват във водна среда, а възрастните индивиди обитават влажни местообитания около водните басейни. Съвременните земноводни принадлежат към подклас Гладкокожи земноводни (Lissamphibia) и се разделят на: **разред Опашати** (Caudata), **разред Безопашати** (Anura) и **разред Безкраки** (Apoda s. Gymnophiona). Над 85% от земноводните са безопаши (жаби).

Като преходна група между водните и напълно сухоземните гръбначни, земноводните притежават чифтни крайници с пръсти, но скелетът им е сравнително слаб и не напълно приспособен да поеме тежестта на тялото продължително време на сушата. За пръв път в гръбначния стълб се обособяват шийна и кръстна област. Шийната е само от 1 прешлен (*atlas*), осигуряващ движение на главата във вертикална посока. Кръстната област, също от 1 масивен прешлен, служи за залавяне на хълбочните кости. Уникален признак за Anura е удължението зад кръстния прешлен (*urostyl*). Земноводните имат непостоянна температура на тялото. Развитието на белите дробове е значителна адаптация в прехода от водата към сушата. Еволюционното утвърждаване на белите дробове като основен дихателен орган в сухоземна среда е довело до обособяването за първи път на **два кръга на кръвообращение** – малък (белодробен) и голям (телесен). През сърцето започва да преминава и артериална кръв, за разлика от рибите, което обуславя тенденцията за разделяне на сърцето чрез преграда възпрепятстваща смесването на окислената от откислената кръв. Земноводните имат **триделно сърце** (2 предсърдия и 1 камера). Разделени са само предсърдията, а чрез система от клапи, камерата се използва последователно за изпомпване на артериална или венозна кръв, при което става частично смесване на двата типа кръв. Това функционално несъвършенство на сърдечната им структура се компенсира от развитието на допълнителни повърхности за газообмен – кожа и хриле. При някои видове кожата осигурява значителна част от кислорода (близо 50-60%). Тя е богато кръвоснабдена, водопропусклива, без люспи, с пигментни клетки (**хроматофори**) и се поддържа постоянно влажна от слюзни жлези, които могат да се видоизменят в отровни жлези със защитна функция. Външните хриле, с които дишат ларвите на опашатите земноводни остават и при възрастните на много видове, за да подпомогнат дишането. Това е проява на **педоморфизъм** – запазване на ларвални признаци при възрастните (външни хриле, странична линия, ларвални зъби, липса на клепащи). При земноводните се обособява **средно ухо с тъпанчева мембрана** и слухова костичка (*columella*), които позволяват възприемане на звуковите вълни в сухоземна среда. Появяват се клепащи, слюзни жлези и мигателна ципа, които предпазват и овлажняват окото. Обособяват се вътрешни носни отвори (хоани), като за първи път се осъществява **връзка между носната и устната кухина**, за разлика от рибите, при които такава липсва.

Преходът от водна към сухоземна среда оказва влияние и върху репродуктивните стратегии. Докато много земноводни са с **външно оплождане** във водна среда и запазват двуфазния жизнен цикъл с водни ларви (метаморфоза), някои правят важна еволюционна стъпка чрез вторична адаптация за снасяне на яйца на сушата във водна микросреда (листни розетки, гнезда от пяна, влажна почва). При много опашати земноводни се наблюдава **вътрешно оплождане без същинска копулация**, посредством **сперматофори** – опаковани сперматозоиди в пакетче от желатинозна маса, които мъжкия прикрепва към външен субстрат, а женската приема с клоаката си и по-късно отделя във водна среда. При земноводните се запазва отделителна система от тип мезонефрос, както при рибите, поради тяхната еволюционна приемственост и тясната връзка с водната среда. Мезонефросът е функционално достатъчен ефективен за осморегулация и отделяне на азотните метаболити в условия на водна или влажна среда, поради което не се развива по-сложния метанефрос, характерен за напълно сухоземните гръбначни.

Клас Влечуги (Reptilia). Влечугите са четирикраки гръбначни животни, напълно сухоземни, независещи от водната среда (ако не са водни обитатели). Те са представители на групата **Amniota** (животни, снасящи яйца на сушата, в които ембрионът е защитен от три обвивки – **амнион**, **алантоис** и **хорион** – и твърда рогова или кожата обвивка). Други представители на тази група са класовете Птици и Бозайници, произлезли от влечугите. Влечугите са се появили през карбон. Първоначално те са били с полуводен начин на живот и са снасяли яйцата си извън водата, за да ги спасят от хищници. Постепенно яйцата са се видоизменили и станали по-малко уязвими към изсъхване. Много групи влечуги, като динозаври, птерозаври и ихтиозаври, изчезват в хода на еволюцията поради резки промени в климата, недостиг на храна и др. Преди ~252 млн. г. (перм), в резултат от опустошителни земетресения и изригвания на вулкани, в Сибир измират почти 95% от животните на земята. Причината е смъртоносна доза метан и значително ниво на CO_2 в атмосферата поради нагряването на карбонатни и въглищни пластове. Това е довело до повишаване на температурата в океаните и оттам до намаляване на съдържанието на O_2 . След стабилизиране на газовия състав на атмосферата, освободените жизнени пространства и по-високата температура дават шанс на влечугите като по-приспособена група за живот на сушата да оцелеят и да се развият. През следващия период (триас) средните и едри влечуги започват да ходят с прибрани под тялото крака, подобно на съвременните бозайници. Изправеният стоеж дава редица предимства – намалява натоварването върху коленните и лакътните стави, тъй като тежестта на тялото се поема директно от всички стави на краката, което позволява по-големи размери на тялото и съответно по-висока конкурентоспособност за хранителни ресурси. По-дългата крачка увеличава скоростта на движение и улеснява избягването на хищници. Тези особености създават предпоставки за появата на двукраки и едри динозаври и допринасят за господството им през мезозойската ера (преди ~150 млн. г.), известна още като ера на влечугите. Масовото изчезване на динозаврите (с изключение на птиците), птерозаврите и ихтиозаврите става преди ~66 млн. г. в края на кредата (последния период от мезозой). Смята се, че причината за това е падането на голям астероид, което довежда до рязко застудяване, прахова завеса в атмосферата, срыв във фотосинтезата и колапс на хранителните вериги.

Една от основните характеристики, използвани за класификация на амниотите, е липсата или наличието на темпорални отвори в черепа. Тази морфологична особеност има важно филогенетично значение и лежи в основата на съвременната класификация на влечугите и техните родствени групи: **Подклас Anapsida** – имат солиден череп без темпорални отвори, включва костенурките и техните прародители; **Подклас Synapsida** – имат една двойка темпорални отвори, за които се залавят мускулите на челюстта – измрели влечуги, от които произлизат съвременните бозайници; **Подклас Diapsida** – имат две двойки темпорални отвори в черепа, осигуряващи по-голяма площ за залавяне на челюстната мускулатура и по-голяма сила на захватката – гущери, змии, крокодили, както и родоначалниците на съвременните птици.

В процеса на еволюция при влечугите се появяват значителни еволюционни промени, които им помагат да заселят всички сухоземни екосистеми (без Антарктида). Едно от най-фундаменталните еволюционни събития в историята на гръбначните животни, довело до независимост на размножаването от водната среда, е появата на **амниотичното яйце**. Липсата му при земноводните е причината те да не се разпространят повсеместно на сушата. Произходът на амниотичното яйце не е известен поради липса на фосили. Най-старото известно яйце датира от ранен перм и вероятно е на пеликозавър (ранен примитивен синапсид *Dimetrodon*). Тази линия е дала начало на бозайниците. За разлика от земноводните, представителите на Amniota нямат ларвен стадий и след излюпването директно се развиват във възрастна форма. Ембрионът се развива в торбичка – **амнион**, която е изпълнена с амниотична течност, създаваща самостоятелна водна среда за развитие извън водния басейн. Ембрионът диша чрез **хорион** (ципата под черупката) и отделя непотребните вещества от метаболизма чрез **алантоис**. Амниотичното яйце притежава голямо количество жълтък, който осигурява пълното развитие на индивида без ларвен стадий. Черупката осигурява механична защита и позволява газообмен. Успешното размножаване на влечугите на сушата се гарантира от **вътрешно оплождане** чрез копулационен орган, което осигурява максимална защита на гаметите.

Голяма част от адаптациите на влечугите са свързани с предотвратяване на загубите на вода и запазване на водния баланс на организма в сухоземна среда: **Кожата става суха, кератиизирана, с люспи, костни плочки и без жлези**, за разлика от влажната жлезиста кожа на земноводните; **Бъбреците са от тип „заднен бъбрек“ – метанефрос** (с Малпигиеви телца), за разлика от мезонефроса при земноводните; **Появява се уретра**, с цел запазване на вода в организма; **Излишните соли се отделят чрез солни жлези**, разположени в носа или окото; **Влечу-**

гите отделят не урина, а пикочна киселина, която се екскретира с минимална загуба на течности, за разлика от амоняка (силно токсичен и изисква голямо количество вода за разреждане) и уреята (по-малко токсична, но все пак разтворима и изисква вода). Това е особено важно при развитие в амниотично яйце, тъй като отпадният продукт се натрупва в алантоиса, без да отравя ембриона и без да изисква разреждане с вода.

При влечугите в процеса на еволюция осевият скелет се укрепва. В гръбначния стълб се диференцират пет области – шийна, гръдна, поясна, кръстна и опашна. Появява се втори шиен прешлен – **епистрофей** (*epistropheus*), осигуряващ ротация на главата. Обособяват се и два кръстни прешлена за по-стабилна връзка с тазовия пояс. Крайниците се адаптират към напълно сухоземен начин на живот (без вторично навлезлите във водна среда), завъртат се към тялото и надлъжната им ос лежи успоредно на основната. Челюстната мускулатура, захванатата за отворите на черепа, обуславя здрава захапка и силни челюсти с хомодонтни или по-рядко хетеродонтни зъби (с изключение на костенурките). В хода на еволюцията се наблюдава значителна специализация на жизненоважните системи, отразяваща окончателното приспособяване на влечугите към сухоземен начин на живот. Дишането става много по-ефективно спрямо това на земноводните. Белите дробове са с **фавеоли**, които увеличават повърхността за газообмен. Продължава тенденцията за пълно разделяне на артериалната от венозната кръв, но преградата в камерата остава непълна и **сърцето е триделно** (с изключение на четириделно сърце при крокодилите). Значим етап в еволюцията на нервната система е усложняването на крайния мозък и формирането на **първична мозъчна кора** (*палеокортекс*) от сиво мозъчно вещество – важна стъпка към развитието на неокортекса при бозайниците. Сетивните системи също се усложняват, като се появява: **външно ухо със слухов канал** (при гущери); **вомероназален орган на Якобсон** за хеморецепция (особено при змиите) за възприемане на химични сигнали (феромони и др. молекули), постъпващи чрез раздвоения език; **термочувствителни ямки** между ноздрите и горната челюст за възприемане на топлинното излъчване на околните обекти и прецизно откриване на топлокръвна плячка (при някои змии).

Клас Птици (Aves). Появили са се преди ~150 млн. г. през юра от тероподните динозаври. Птиците са единствените живи членове на клад Archosauria, имащ общ прародител с най-ранните динозаври. Палеонтологичните данни за птиците са доста оскъдни. Откриването на археоптерикса (*Archaeopteryx lithographica*), притежаващ характеристики както на влечуго, така и на птица, предоставя липсващото звено между влечугите и птиците. В процеса на еволюция при птиците се появяват значителни морфологични и физиологични промени, свързани с активния полет, които днес се приемат за основни характеристики на класа. Тези промени отразяват еволюционни адаптации, свързани с формирането на олекотен и същевременно здрав скелет чрез елиминиране на едни и модифициране на други костни структури: **Предните крайници се видоизменят в крила** – основен двигател на полета; **Тялото придобива аеродинамична форма и се покрива с пера** – дермални образувания, които осигуряват подемна сила, аеродинамичност, термоизолация, сетивна информация; **Формират се пневматични кости, изпълнени с въздух** – напълно кухи или с въздушни празнини в тях, което ги прави изключително леки; **Обособяват се костни сливания в гръбначния стълб – кръстец** (*os synsacrum*) за залавяне на тазовите кости и **пигостил** (*pygostyle*) за захващане на кормилните пера на опашката; **Настъпват промени в крайниците, поясетата и гръдния кош**: в предните крайници се запазват само 3 пръста и 2 самостоятелни кости на китката, останалите срастват с дланта в обща кост (*carpometacarpus*); ключиците се сливат и смъкват надолу в характерна за птиците кост – *furcula*; ребрата имат израстъци (*processi uncinati*), които се залавят за следващото ребро; големият пищял сраства с кости от петата в *tibiotarsus*, а малкият пищял е силно редуциран; вторият ред кости на петата сраства с костите на стъпалото в обща кост – *tarsometatarsus*. За пръв път се появява капаче на колянната става – *patella*.

За да се обезпечи интензивния метаболизъм във връзка с летенето, настъпват и сериозни физиологични промени в редица системи. Птиците се отличават с: **Високо ефективна дихателна система с два цикъла на дишане** – една от най-съвършените дихателни системи при гръбначните, осигуряваща постоянен приток на O₂ по време на полет. Фините бронхиоли не завършват с алвеоли, а сякаш, свързани са с подобни на тръбички *парабронхии*, през които навлиза въздух само в една посока. Белите дробове са свързани с **въздухоносни мехури**, които осигуряват постоянен въздушен поток и олекотяват тялото; **Приспособяване на кръвоносната система към високите енергийни нужди при полет**. Птиците са първите гръбначни животни с постоянна телесна температура – **ендотермия**, благодарение на наличието на четириделно сърце, обуславящо пълното отделяне на окислената от откислена кръв; **Силно специализирана хранос-**

милателната система – без зъби и тежка челюст, с лек рогов **клюн**, за олекотяване на главата. Липсата на механична обработка на храната чрез зъби е довела до формиране на **гуша** (единично или чифтно разширение на хранопровода, резервоар за храна) и **двуделен стомах** (преден жлезист и заден мускулест); **Редуциране на пикочо-половата система** за олекотяване и икономия на вода. Липсва пикочен мехур, а отпадните вещества се изхвърлят директно чрез клоака. Като способ за пестене на вода се отделя **пикочна киселина**, а не урея. Женската полова система се състои само от ляв яйчник и ляв яйцепровод; **Специализирана нервна система** за точна ориентация, координиран полет и проява на сложно поведение – по-развита в сравнение с влечугите. Малкият мозък, отговорен за координацията на движенията при летене, увеличава значително обема си. Птиците развиват силно зрение и слух и по-слабо обоняние.

Клас Бозайници (Mammalia) е най-висшият клас гръбначни животни, чието име произлиза от начина на хранене на малките – чрез бозаене. Възникват през триас от звероподобни влечуги с примитивни тривърхи зъби – цинодонти (Therapsida). Сред ранните им групи са растителноядните Multituberculata с големина на плъх. През мезозоя се появяват еднопроходните бозайници (Monotremata), при които яйцепроводите, семепроводите и пикочопроводите завършват в общ отвор – клоака. През неозойската ера Multituberculata изчезват и се появяват съвременните групи бозайници (яйценосни, торбести и плацентни), които днес населяват почти всички части на Земята, без вътрешността на Антарктида. Бозайниците се отличават с комплекс от еволюционно нови морфологични и физиологични характеристики, които повишават тяхната адаптивност и осигуряват по-висока преживяемост на потомството. Ключови са еволюционните адаптации в биологията на подклас Живородни (Theria), които ги правят изключително успешна група. **Живораждането** предоставя по-добра защита на ембриона от неблагоприятните условия на околната среда и от хищници и пълен физиологичен контрол от страна на майката при осигуряване на хранителни вещества, кислород и терморегулация. Задържането и развитието на ембриона в тялото на майката повишава преживяемостта на потомството и увеличава репродуктивния успех на вида. Формирането на **плацента** от хориона и алантоиса осигурява по-ефективен обмен на вещества и имунна защита на ембриона, позволява по-продължително вътреутробно развитие и раждане на по-добре развити малки, което води до успешното заемане на различни екологични ниши от бозайниците. **Изхранването с мляко** предоставя: сигурен хранителен източник, произвеждан от тялото на майката и независещ от външни условия (наличие на плячка, сезон, конкуренция); непрекъснат достъп до храна още от раждането, дори в сурова среда; оцеляване в по-екстремни климатични условия, където новороденото не би могло да се храни самостоятелно (арктически животни, пещерни видове и др.); имунна защита за новороденото чрез антитела (имуноглобулини), ензими, лактоферин и др.; тясна връзка между майката и малките, често съпроводена със социално поведение и обучение, особено при приматите и социалните видове. Кожата на бозайниците е покрита с **косми/козина**, които имат защитна и терморегулаторна функция. Дишането се извършва чрез силно развити **бели дробове с алвеоларна структура** и с помощта на мускулна диафрагма, а **метанефросът с Хенлиева бримка** осигурява прецизна регулация на водно-солевия баланс.

Бозайниците се отличават с високо специализиран опорно-двигателен апарат, ясно диференциран гръбначен стълб и добре развита шийна област от **7 шийни прешлена**, осигуряваща голяма подвижност на главата. Кръстните прешлени (най-често 4) са слети в свещена кост (*os sacrum*). При висшите бозайници коракоидът се редуцира до коракоиден израстък и сраства с лопатката, а ключицата изчезва при копитните, някои хищници и др., които не могат да извършват пълна ротация на предния крайник в раменната става. Типична особеност е наличието на **единична долна челюст (dentale)**, за разлика от останалите гръбначни, които имат още няколко кости, които при бозайниците мигрират в средното ухо и формират структури, подобряващи значително слуха – **чукче, наковялния и стреме**. **Хетеродонтните зъби** и по-специално **кътниците**, съчетаващи дъвкателна и режеща функция, осигуряват механична обработка и по-ефикасно усвояване на храната и представляват адаптация към всеядност или специализирана диета, което улеснява приспособяването към различни хранителни стратегии.

Съвкупността от адаптации – в опорно-двигателната, дихателната, отделителната, кожната и сетивната система – осигурява на сухоземните хордови животни структурна стабилност, физиологична ефективност и висока екологична пластичност, което обуславя успешното завладяване на сушата и изключителното разнообразие на съвременните сухоземни гръбначни.

Нервната система осъществява връзката на организма със средата и го адаптира към непрекъснато изменящите се условия в нея. Тя пуска в ход и регулира дейността на органите и системите, и осигурява функционалното единство на организма. Подялбата на нервната система (НС) се извършва по два принципа: топографски и функционален. Според топографския принцип НС е **централна**, чиито структури са разположени в черепната кухина и гръбначния канал (главен и гръбначен мозък) и **периферна**, чиито структури са извън тези кухини (периферни нерви, възли и рецептори). Според функционалния принцип НС е **соматична**, която осъществява връзката на организма с околната среда и осигурява инервацията на скелетните мускули и **вегетативна**, която регулира и координира дейността на вътрешните органи, кръвоносните съдове и жлезите.

Основната тъкан, която изгражда структурите на нервната система е нервната тъкан. Тя се състои от два основни клетъчни

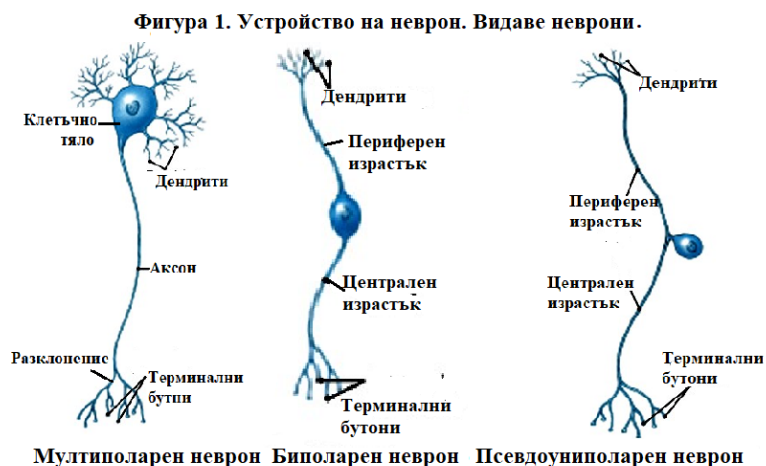
типа: високоспециализирани функционални клетки (неврони) и клетки с поддържаща функция (глиални клетки). Невроните са способни да възприемат дразненията от външната или вътрешната среда на тялото, да се възбудят и да провеждат нервни импулси, а глиалните клетки (невроглия) имат опорна, трофична, защитна и секреторни функции. **Невронът** е основна морфологична и функционална структура на нервната тъкан (Фигура 1). Притежава клетъчно *тяло* (сoma, перикарион);

къси, разклонени в близост до тялото израстъци – *дендрити* и дълъг израстък, наречен *аксон* или неврит. Тялото съдържа основната част от цитоплазмата, ядрото и клетъчните органели. Нервният импулс се пренася от дендритите към перикариона и от него към аксона.

По-голямата част от аксоните са покрити с миелинова обвивка, която се образува от клетъчната мембрана на един вид невроглиялни клетки – Шванови клетки (в ПНС) и олигодендрцити (в ЦНС). На места миелиновата покривка се прекъсва – т.нар. *прищъпвания на Ранвие*. Миелинът е мастно-белтъчно вещество, което придава белезникав цвят на аксона. Действа като електрически изолатор, предотвратявайки разсейването на импулсите и позволявайки им да „скачат“ между прекъсванията на Ранвие. Миелиновата обвивка е свързана с провеждане на възбуждането. Колкото е по-дебела, толкова по-голяма е скоростта на провеждане. Аксоните в края се разклоняват и завършват с окончания, наречени *терминални бутони*. Невронът има свойства на секреторна клетка. В перикариона се синтезират химични вещества (медиатори или невротрансмитери), които се пренасят до терминалните бутони и имат голямо значение при предаване на нервния импулс от един неврон на друг.

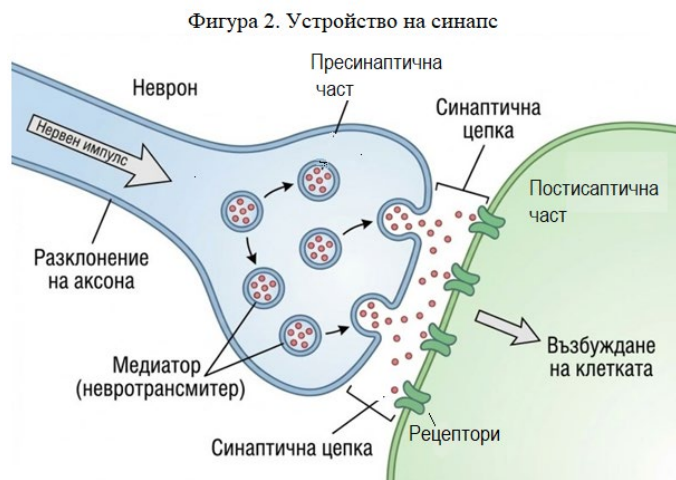
Видове неврони. Класификацията на невроните може да се направи по различни критерии:

1. Според скоростта на провеждане: **А** неврони – богато миелинизирани, провеждат с най-голяма скорост. **В** неврони – слабо миелинизирани, провеждат с по-малка скорост. **С** неврони – немиелинизирани, провеждат с най-малка скорост.
2. Според големината на перикариона: клетъчното тяло варира в широки граници – от 3 – 4 μm до 120 μm и в зависимост от това невроните се делят на – гигантски, големи, средни, малки и много малки.
3. Според формата на клетъчното тяло: звездовидни, пирамидни, крушовидни, вретеновидни, овални и пр.



4. Според броя на израстъците: *многополюсни* (мултиполарни) – имат много дендрити и един аксон и са най-много в нервната система; *двуполюсни* (биполарни) – имат два израстъка, изхождащи от двата полюса на тялото. Единият (по-къс) израстък, е централен и е насочен към структурите на ЦНС, а другият (по-дълъг), е периферен, достигащ до рецептори, разположени в различни части на тялото; *псевдоеднополюсни* (псевдоуниполарни) – имат един къс израстък, който Т-образно се разделя на два противоположни клона (периферен и централен).
5. Според функциите невроните биват: сетивни, двигателни и междинни (интерневрони).
6. Според посоката на провеждане на нервните импулси – аферентни (пренасят импулси от периферията към мозъка), еферентни (пренасят импулси от мозъка към периферията) и асоциативни (свързват аферентните с еферентните неврони).

Невроните се свързват помежду си чрез **синапси** (Фигура 2). Те представляват специализирани контакти между две нервни клетки или между нервна и ефекторна клетка (мускулна или жлезиста), чрез които става предаване на нервния импулс. Синапсът има три части: 1. *пресинаптична част* – това най-често е крайното окончание на аксона (мембраната на терминалния бутон). Тази част е разширена и съдържа множество митохондрии и малки мехурчета (везикули) с определено химическо вещество (медиатор). 2. *постсинаптична част* – това е мембраната на следващия неврон. На нея се разполагат рецептори (протеини), които могат специфично да се свържат с медиатора. 3. *синаптична цепка* – пространството между двете части, което е широко около 20 nm. Когато нервният импулс достигне пресинаптичната част, медиаторът се отделя от везикулите, дифундира в синаптичната цепка и се свързва с рецепторите на постсинаптичната част. В резултат на това настъпва деполяризация (възбуждане) или хиперполяризация (задържане) на постсинаптичната мембрана в зависимост от характера на медиатора. Според контактуващите части на невроните синапсите биват: *аксо-соматични*, *аксо-дендритни*, *аксо-аксонални* и *дендро-дендритни*.



В ЦНС нервната тъкан е организирана в сиво и бяло мозъчно вещество. **Сивото вещество** (substantia grisea) е изградено от телата на невроните, дендритите, невроглия и кръвоносни съдове. **Бялото вещество** (substantia alba) е изградено от аксоните на невроните, невроглия и кръвоносни съдове. Аксоните в бялото вещество се групират и образуват добре оформени снопчета.

Произход. НС произлиза от ектодермата. По гръбната страна на зародиша се появява нервна пластинка (плочка), която към края на първия месец се превръща в нервна тръба. Предният край на тръбата задебелява и от него се обособяват три мозъчни мехурчета (предно, средно и задно), от които по-късно се развиват частите на главния мозък. От задния край на тръбата се оформя гръбначния мозък.

Краен мозък – външно описание на хемисферите и вътрешен строеж.

Крайният мозък (telencephalon) се развива от предното мозъчно мехурче във връзка с обонянието, инстинктивното и съзнателно поведение на човека. Той е най-голямата част на главния мозък и представлява 80% от масата му. Нарича се още голям мозък (cerebrum). Изграден е от две **полукулба** (хемисфери), разделени едно от друго с надлъжна цепка, в дъното на която се намира бяло образувание, наречено **мазлесто тяло** (corpus callosum). То е съставено от миелинови нервни влакна, преминаващи от едната в другата хемисфера. Полукулбите имат овална издължена форма с *три повърхности*: горновъншна (изпъкнала), медиална (плоска) и долна. По повърхността на полукулбите преминават множество бразди (sulci cerebri), които ограничават мозъчни гънки или извивки (gyri cerebri). От три основни бразди (*централна*, *латерална* и *теменно-тилна*), полукулбите се разделят на **четири дяла**: *челен* (lobus frontalis), *теменен* (lobus parietalis), *тилен* (lobus occipitalis) и *слепочен* (lobus temporalis). Във всеки дял се намират

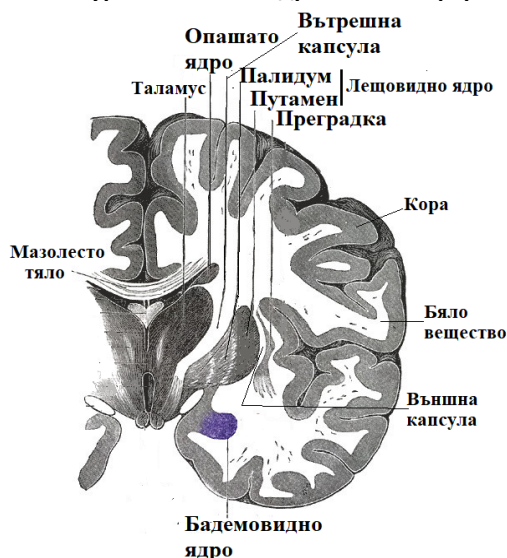
бразди от втори порядък, които ограничават съответни мозъчни извивки (фигура 3). По-важни извивки на полукулблото са: По горно – външната повърхност в **челния дял** – предцентрална гънка (*гирус прецентралис*) и три челни гънки (*гирус фронталис супериор*, *гирус фронталис медиус*, *гирус фронталис инфериор*); в **теменния дял** – задцентрална гънка (*гирус постцентралис*) и две теменни делчета – горно и долно (*лобулус париеталис супериор* и *лобулус париеталис инфериор*); в **слепоочния дял** – три хоризонтални слепоочни гънки (*гирус темпоралис супериор*, *гирус темпоралис медиус*, *гирус темпоралис инфериор*); в **тилният дял** – няколко тилни гънки (*гирус оксипиталис*). По медиалната повърхност – поясна гънка (*гирус цингули*), клин (*кунеус*), предклиние (*прекунеус*), парацентрално делче (*лобулус парацентралис*). По долната повърхност – права гънка (*гирус ректус*), орбитални гънки (*гирус орбиталис*), парахипокампова гънка (*гирус парахипокамपालис*).

Всяко полукулбо се състои от части, с различна филогенетична възраст: *мозъчна кора*, *бяло мозъчно вещество*, *базални ядра*, *странично мозъчно стоматхче*, *обонятелен мозък*, *лимбична система*. **Мозъчната кора** (*cortex cerebri*) е най-силно развита и покрива останалите части като плащ. Във филогенетично отношение тя е най-младото образуване на нервната система (неенцефална част). **Бялото вещество** (*substantia alba*) също е неенцефална част. Изградено е от нервни влакна, невроглия и кръвоносни съдове. Според посоката си нервните влакна са три вида: 1) *асоциативни* – свързват части на едно и също полукулбо. Те биват *къси*, свързващи съседни извивки и *дълги*, свързващи различните дялове на полукулблото; 2) *комисурални влакна* – свързват симетрични части от двете полукулба, влизайки в състава предимно на мазолестото тяло; 3) *проекционни влакна* – свързват кората на хемисферите с други части на главния мозък и с гръбначния мозък. Съобразно посоката, в която провеждат влакната биват *низходящи* – двигателни, достигащи до по-ниско стоящи части на ЦНС и *възходящи* – сетивни, идващи от други части на мозъка до кората. **Базалните ядра** на хемисферите представляват сгрупвания от сиво вещество (видими при срез) в основата на полукулбата, сред бялото вещество (фигура 3). Към базалните ядра спадат: *опашатото ядро* (*nucleus caudatus*) – има форма на запетая и дължина около 7 см. Притежава широка предна част – глава и дълга опашка, която се извива върху таламуса от междинния мозък; *лещовидно ядро* (*nucleus lentiformis*) – разполага се латерално от опашатото

Фигура 3. Бразди и гънки на хемисферите



Фигура 4. Базални ядра на хемисферите



ядро, като се отделя от него чрез слой бяло вещество (*вътрешна капсула*). Има форма на двойно-изпъкнала леща. Състои се от външна, по-тъмна част – *черупка* (путамен) и вътрешна, по-светла част – *бледо тяло* (палидум). Опашатото и лещовидното ядро, заедно с разположеното по между им бяло вещество формират т.нар. *ивическо тяло* (*corpus striatum*). Двете ядра функционират в тясно взаимодействие с коровите двигателни зони и до голяма степен са отговорни за двигателния контрол на тялото. Имат ключово участие в екстрапирамидната система, осигурявайки плавност, прецизност и координация на произволните движения, както и в регулиране на мускулния тонус. Увреждането на различни части от ядрата предизвиква сложни нарушения в регулацията на движенията – т.нар. паркинсонов синдром (тремор, масковидно лице, скованост на мускулите и др.);

преградката (claustrum) представлява вертикална нагъната сива пластинка, с дебелина 1-2 мм, разположена в страни от лещовидното ядро. От него се отделя чрез тънък слой бяло вещество (външна капсула); *бадемовидното ядро* (corpus amigdaloides) е сива маса, намираща се в дълбочина на бялото вещество в слепоочния дял. То е основна част на лимбичната система. **Страничното мозъчно стомахче** (ventriculus lateralis) е чифтна кухня, разположена във вътрешността на съответната хемисфера (лява и дясна) и е остатък от ембрионалното предно мозъчно мехурче. Състои се от четири части, разположени в различните дялове на хемисферата: *централна част* – в теменния дял; *преден рог* – в челния дял; *заднен рог* – в тилния дял; *долен рог* – в слепоочния дял. Във вътрешността на стомахчето има съдов сплит, отделящ цереброспинална течност (ликвор). Чрез отвора на Монро предният рог се свързва с кухината на третото мозъчно стомахче в междинния мозък. **Обонятелният мозък** е свързан с приемане и анализиране на обонятелната информация. Това е филогенетично най-старата част на полукълбото, която у човека е сравнително слабо развита.

Има два дяла – периферен и централен. **Периферният дял** включва няколко, свързани едно с друго, образувания: *обонятелна луковича*, *обонятелен път*, *обонятелен триъгълник*, *обонятелно поле*. Структурите залягат по долната повърхност на челния дял. Те приемат и обработва първичната информация за миризмите, разграничавайки различните аромати. След това предават данните към централния дял на мозъка за по-нататъшна интерпретация. Към **Централният дял** се отнасят главно: *извивка на морския кон* (gyrus hippocampus) – особена гънка на кората, вдадена (втлачена) в долния рог на страничното стомахче и изолирана с бяло вещество; *бадемовидно ядро* (амигдала). Хипокампус участва в запаметяването на миризмите, а амигдалата добавя емоционален заряд, правейки спомените за различните аромати емоционално наситени. Обонятелният мозък има много връзки с лимбичната система, като някои от неговите структури са част от тази система. **Лимбичната система** включва мозъчни структури, разположени около мазолестото тяло. Тя отговаря за емоционалното състояние, настроенията, паметта, инстинктите и обонянето. Морфологично към нея се отнасят едни от най-старите образувания на кората: *извивка на морския кон* (хипокампус) – има основна роля при обучение и памет – формиране на краткосрочна памет и нейното преминаване в дългосрочна; *поясна гънка*, *парахипокампусова гънка*, *зърната гънка* – ключови корови структури, свързани с внимание, пространствено възприемане и формиране на спомени. Освен корови гънки към лимбичната система се отнасят и редица ядра: *бадемовидното ядро* – обработва емоции като страх и гняв, участва в емоционалната памет и формиране на реакции „борба или бягство“; някои *ядра на междинния мозък* (сисовидни телца, ядра на таламус и на епиталамус). Всички части на лимбичната система са свързани помежду си чрез нервни влакна. Невроните на тази система притежават и многобройни връзки с кората, с мрежестата формация и с хипоталамуса. По този начин в лимбичната система се осъществява интеграция на соматична, вегетативна и обонятелна информация.

Кора на крайния мозък. Цито- и миелоархитектоника на кората

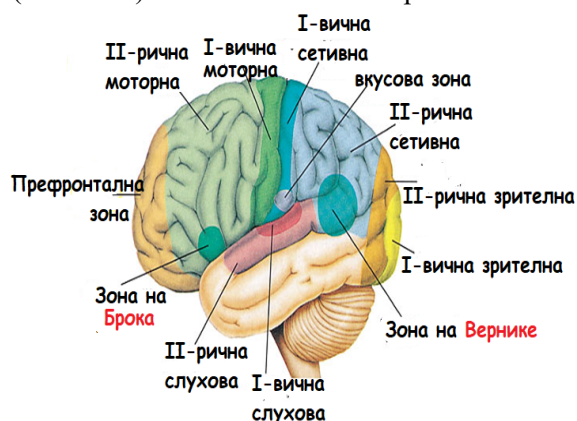
Кората (cortex cerebri) представлява слой сиво вещество, покриващо повърхността на хемисферите. Дебелината ѝ варира от 1.5 до 5 mm. Тя е силно набраздена и нагъната. Съдържа около 14 – 20 милиарда неврони, които влизат в множество контакти. В строежа ѝ участват разнообразни по форма, големина и функции нервни клетки, които се групират в два основни типа: пирамидни и зърнести (звездовидни). *Пирамидните* неврони са най-многобройните клетки (66%). Тяхната големина варира между 15 – 120 μm . *Зърните* неврони са с по-малък размер (8 – 14 μm), с редуцирана цитоплазма и силно разклонени дендрити. Те са около 33% и съществуват в няколко разновидности (вретеновидни клетки, хоризонтални клетки на Кахал, клетки на Мартиноти, кошничкови клетки и др.). В кората клетките се подреждат по определен начин, като образуват слоеве, които се различават по количество и вид на изграждащите ги неврони. Това подреждане на клетките в слоеве се нарича **цитоархитектоника**. В по-голямата част от кората (9/10) клетките образуват шест слоя. Такава кора се обозначава като *еднаква кора* (*изокорткс*). От повърхността към дълбочината слоевете са: I. молекулярен слой – предимно невроглиални клетки и преплетени нервни влакна; II. външен зърнест слой – малки зърнести и пирамидни клетки; III. външен пирамиден слой – малки до средно големи пирамидни клетки; IV. вътрешен зърнест слой – малки зърнести клетки; V. вътрешен пирамиден слой – големи пирамидни клетки (гигантски клетки на Беца); VI. полиморфен слой – разнообразни по форма клетки. Останалата 1/10 от мозъчната кора има по-малко слоеве (3 – 4 слоя) и се обозначава като *друга кора* (*ало-*

кортекс). Израстъците на невроните в кората също са подредени в определен ред и това се нарича **миелоархитектоника**. Нервните влакна се разполагат в кората в две посоки: вертикално или хоризонтално. *Вертикалните влакна* според посоката на провеждане са аферентни или еферентни. *Хоризонталните влакна* формират бели ивици, разграничаващи отделните слоеве на кората.

Локализация на функциите в кората

Кората е най-новата формация в строежа на нервната система и в нея са локализирани най-висшите нервни функции като мислене, памет, говор, въображение, планиране, сензорна обработка и пр. На функциите на кората са подчинени пряко или косвено всички останали части на нервната система. Във функционално отношение кората се разделя на различни зони – първични зони (сетивни и двигателни), вторични зони (асоциативни) и третични зони (психични). По-важни зони на кората са:

Първична моторна зона – разположена предимно в предцентралната гънка. От тук започват пирамидните пътища, свързани с волевите движения в противоположната половина на тялото. Увреждането на зоната води до *парализа* на противоположната мускулатура. **Вторична моторна зона** (асоциативна зона) – обхваща задните части на трите челни гънки. От тук се подреждат и съгласуват в последователен ред отделните движения. При увреждане настъпва *несръчност (апраксия)* – невъзможност за координация на отделните движения при изпълнение на сложно действие. **Префронтална зона**



(третична зона) – заема предната част на челния дял (челния полюс). Това е ключова област в мозъка, обработваща когнитивна информация. Регулира социалното поведение, емоциите и вземането на решения. Увреждането на зоната води до разстройство на личността – антисоциално поведение, нарушения в планирането, преценката и контрола на импулсите, постепенна деградация. **Първична соматосетивна зона** – обхваща предимно задцентралната гънка. До нея достига информация за повърхностна и дълбока (проприоцептивна) сетивност. При увреждане настъпва пълна безчувственост. **Вторична соматосетивна зона** (асоциативна зона). Обхваща областта на горното теменно делче. Тук се анализират и синтезират тактилни усещания. При увреждане настъпва **тактилна агнозия** – невъзможност за разпознаване на предметите чрез опипване. **Първична зрительна зона** – обхваща гънки в тилния дял, около браздата на птичата шпора. До тази част достигат първични зрителини усещания (светлинни сигнали). При увреждане настъпва слепота. **Вторична зрительна зона** (асоциативна зона) – в тилния дял, около първичната зона. Тук се анализират и асоциират първичните зрителини сигнали и се различават предметите, разположението им в пространството и т.н. При увреждане на тази част настъпва **зрительна агнозия** – предметите се виждат, но не се разпознават. **Първична слухова зона** – обхваща средата на горната слепоочна гънка. Възприема първични звукови сигнали – честота, интензитет, посоката от която идват и пр. При увреждане на тази част настъпва глухота. **Вторична слухова зона** (асоциативна зона) – в горна слепоочна гънка, в близост до първичната слухова зона. В нея се извършва по-сложен анализ на звуковете – разпознаване на мелодии, език, емоционални нюанси и пр. При увреждането ѝ болният чува звуците, но не ги разпознава. **Обонятелна зона** – заема малка площ по медиалната страна на слепоочния дял (парахипокампова гънка). Тази зона обработва мирисни стимули и ги свързва с емоции чрез лимбичната система (амигдала, хипокамп). **Вкусова зона** – намира се в долната част на задцентралната гънка. Обработва вкусовите дразнения и ги интегрира с обоняние, допир и температура от устната кухина за цялостно усещане за вкус. **Центрове на речта** – разположени са в доминиращата хемисфера и отговарят за различни аспекти на речта: **двигателен център на устната реч** – в задната част на долната челна гънка (зона на Брока). При увреждане – загуба на говор (**двигателна афазия**); **слухов център на устната реч** – в задната част на горната слепоочна гънка (зона на Вернике). При увреждане болният чува думите, но не разбира техния смисъл (**слухова афазия**); **двигателен център на писмената реч** – отговаря за писането. Намира се в задната част на средната челна гънка. При увреждане – загуба на способност за писане (**аграфия**); **зрителин център на писмената реч** – отговаря за четенето. Намира се около края на страничната бразда. При увреждане – невъзможност за разчитане на написаното (**алексия**).

1. Физиология на възбудимите системи

1.1. Дразнимост и възбудимост

Всяка жива тъкан (растителна и животинска) притежава свойството дразнимост – способността да се реагира на външни въздействия, наречени дразнители. Тази реакция има адаптивен характер, при която тъканите, подложени на дразнене, преминават от физиологично състояние на покой в състояние на биологична активност. При растителните и част от животинските тъкани реакцията към действието на дразнителя е локална, т.е. тя се проявява на мястото на действието на дразнителя.

Възбудимостта представлява способността на нервната, мускулната и жлезната тъкани да отговарят на действието на дразнителя така, че в организма се получава генерализиран ефект (движение, промяна в химическия състав и др.).

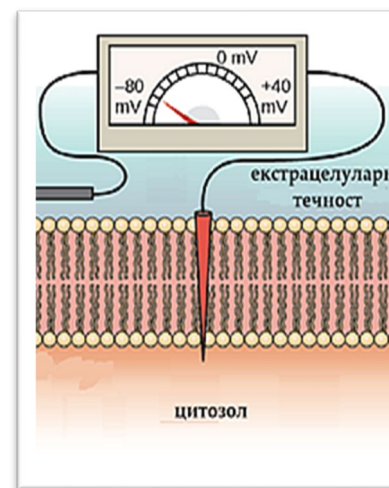
Механизмите на възбуждението са свързани с промени в проникваемостта на клетъчната мембрана (плазмолемата) за различни йони. Затова клетъчната мембрана на възбудимите клетки се нарича възбудима мембрана. Поради избиращата пропускливост на клетъчната мембрана за различните йони и функционирането на натриево-калиевите помпи в нея, се създават условия за получаване на разлика в електрическия потенциал от двете ѝ страни, която се нарича мембранен потенциал (биоелектрически потенциал). Той се обуславя от наличието на разлика в потенциала между два йонни разтвора (екстрацелуларна и интрацелуларната течности), разделени чрез полупропусклива биомембрана.

1.2. Биоелектрически потенциали

Генерирането и разпространението на нервния импулс както и възникването на мускулното съкращение са обусловени от протичането на биоелектрически процеси във възбудимите системи. В зависимост от физиологичното състояние на нервната и мускулната тъкани съществуват следните биоелектрически потенциали – мембранен потенциал на покой, електротоничен потенциал, локален отговор, акционен потенциал (потенциал на действие) и постсинаптичен (рецепторен) потенциал.

Мембранен потенциал на покой. При физиологично състояние на покой, между външната повърхност на клетките и тяхната протоплазма съществува разлика в потенциала, наречена мембранен потенциал на покой. С помощта на чувствителен галванометър е установено, че вътрешната повърхност на мембраната има отрицателен заряд, а външната – положителен – фиг. 1.

Мембранный потенциал се дължи на електроизолаторните свойства на липопротеиновата мембрана на живата клетка. В зависимост от проникваемостта си, тя оказва съпротивление на преминаващите през нея йони, а с това и на протичащите йонни токове. Мембранный потенциал при възбудимите тъкани се съхранява за дълги периоди от време постоянен, ако клетките им не бъдат активирани посредством действието на различни външни въздействия. При нервните и мускулните клетки той винаги е с отрицателна стойност, като неговата величина е константа за всеки тип клетки. При топлокръвните той е от порядъка на -50 до -100 mV, с изключение на гладкомускулните клетки, при които той е по-нисък (-30 mV).



Фиг. 1. Електрически заряд на клетъчна мембрана

1.3. Промени в мембранный потенциал

При определени условия мембранный потенциал може да се променя (фиг. 2). Израз на тази промяна са явленията деполяризация, реполяризация и хиперполяризация на клетъчната мембрана.

рана. Клетките на възбудимите тъкани, за разлика от всички останали клетки, могат да използват промяната на мембранный потенциал за предаване на междуклетъчна информация. Резултатът от предаването на такава информация може да бъде генериране и провеждане на нервен импулс, мускулно съкращение или секреция, извършвани от съответната възбудима тъкан (нервна, мускулна и секреторна).

Деполаризацията на мембраната представлява намаляването на мембранный потенциал по абсолютна стойност – например от -75 mV на -55 mV . Тя настъпва когато движението на катиони към цитозола превишава движението на катиони в обратната посока.

Реполаризация на мембраната се нарича връщането на стойностите на потенциала към първоначалната изходна стойност на мембранный потенциал на покой след деполаризация (например от -55 mV до -75 mV).

Хиперполяризация на мембраната е израз на нарастването на мембранный потенциал по абсолютна стойност – например от -75 mV на -90 mV (мембранный потенциал става по-негативен). Хиперполяризация настъпва при по-голям поток на катиони навън от клетката или навлизане на аниони в цитоплазмата.

Физиологичен израз на деполаризацията е възникването на възбуден процес, а на хиперполяризацията – на задържан. При реполаризация на плазмолемата клетката преминава от възбудено състояние във физиологичен покой.

Причина за промяната на мембранный потенциал е изменение в пропускливостта на клетъчната мембрана. Тези изменения в пропускливостта са свързани с наличието на йонни каналчета в мембраните, които при определени условия (въздействия) се отварят или затварят – фиг. 3.

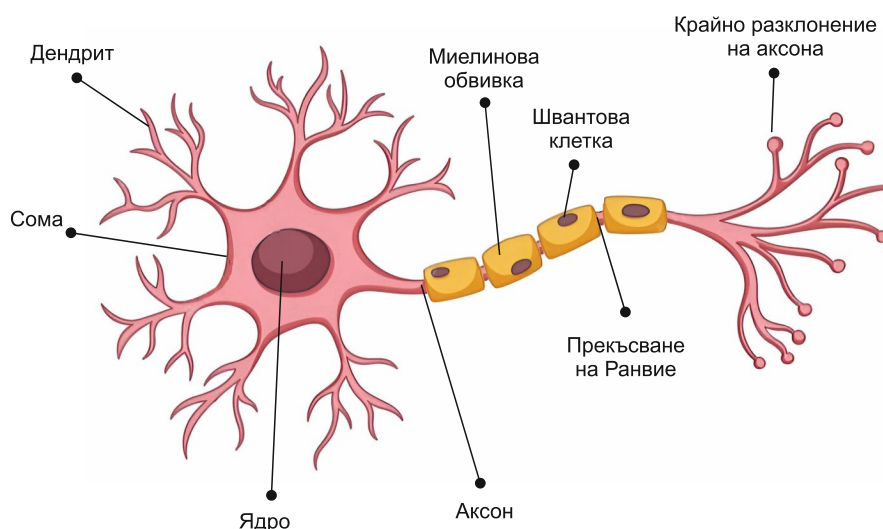


Фиг. 2. Изменение на мембранный потенциал

2. Невронът като възбудима структура

2.1. Морфoфункционална характеристика на нервната клетка

Основна структурна и функционална единица на нервната система е нервната клетка (неврон).



Фиг. 3. Устройство на нервна клетка с миелинова обвивка

В процеса на еволюцията броят на невроните в нервната система на организмите нараства. При безгръбначните броят им е от десет до няколкостотин, докато в мозъчната кора на човек

техният брой е около 18 милиарда. Невронът се състои от тяло (сома) с цитоплазма, множество къси протоплазмени израстъци (дендрити) и един дълъг цилиндричен израстък, наречен аксон (фиг. 3). В цитоплазмата на нервната клетка се съдържат голямо количество органели – митохондрии, апарат на Голджи, телца на Нисл и др. Телцата на Нисл са изградени от плътно разположен зърнест ендоплазматичен ретикулум заедно с множество от рибозоми и полирибозоми. В ендоплазмения ретикулум се извършва интензивен белтъчен синтез, обезпечаващ образуването на медиатори (невротрансмитери). За разлика от останалите соматични клетки ядрото на зрялата нервна клетка съдържа всички ядрени компоненти, в т.ч. и ядърце. Наличието им е свързано с непрекъснатия синтез на вещества, изграждащи клетъчните израстъци.

При някои нервни влакна мембраната на аксона е обвита от миелинова обвивка. Те се означават като миелинови. Миелинът представлява спирално навита мембрана, изградена от липиди (цереброзид, холестерол, лецитин и др.) и протеини (основен миелинов протеин, миелинов олигодендроцитен гликопротеин и протеолипиден протеин). По дължината на аксона в миелиновата обвивка се образуват канали с диаметър около 30 nm, наречени прекъсвания на Ранвие. Миелинът изпълнява ролята на диелектрик (електроизолатор), а прекъсванията на Ранвие имат „ретранслаторна“ функция – генерират, провеждат и усилват нервния импулс. В централната нервна система миелинът се синтезира от олигодендроцитите, а в периферната нервна система – от швановите клетки. При човека миелинизацията на нервните влакна е продължителен процес, който започва от около четиринадесетата седмица на бремеността и продължава до пубертета.

Аксоните на нервните клетки оформят нервните влакна, чрез което се осъществява предаването на възбудния процес на отдалечено разстояние от мястото на възникването му.

Мембраната на сомата и на дендритите е електроневъзбудима. В тях липсва критично равнище на деполяризация и затова в тях не настъпва разпространение на акционен потенциал. При дразнене в тях възниква локален потенциал, който се разпространява пасивно и е със затихващ характер в съседните участъци на мембраната.

Мембраната на аксона е електровъзбудима. Аксонното хълмче има висока възбудимост и това е причината под действието на локалния потенциал в него да се генерира акционен потенциал. Колкото по-голяма е амплитудата на локалната деполяризация, толкова по-голяма е честотата на генерираните акционни потенциали, които се разпространяват към крайните разклонения на аксона.

2.2. Физиологични свойства на нервната клетка

Основните физиологични свойства на нервните клетки са дразнимост, възбудимост и проводимост.

Дразнимостта е способността на неврона да възприема въздействия от външни за него фактори (дразнители) – химични, механични, термични, осмотични, електрически и др., и да ги преобразува в нервен импулс. Благодарение на това нервната система може да разпознава и да реагира на огромен брой дразнители от външната и от вътрешната среда. Действието на дразнителя се осъществява чрез въздействие върху клетъчната мембрана, която променя своята избирателна пропускливост за K^+ и Na^+ .

Възбудимостта свойство на нервното влакно при дразнене да отговаря с генериране на акционен потенциал. Невроните имат много висока лабилност, равняваща се на около 1000 импулса за секунда. Различната възбудимост на отделните нервни влакна се определя от морфологичните и функционалните им характеристики. Наличието на миелинова обвивка повишава възбудимостта на неврона. В хода на възбудния процес настъпват промени във възбудимостта, обусловени от йонната динамика от двете страни на цитоплазмената мембрана. Достигащите до дендритите импулси от съседните клетки предизвикват локални изменения на мембрания им потенциал, което от своя страна променя възбудимостта на мембраната на сомата. Затова дендритите се приемат от някои автори като модулатори на биоелектричните процеси в нервната клетка. Също така при възбуждането си дендритите повлияват и на биоелектричните процеси в съседните клетки чрез електрическото поле, което имат. По този начин те модулират възбудимостта не само на собствената си клетка, но и тази на околните.

Проводимостта на нервното влакно е обусловена от електрическите импулси, които се разпространяват по повърхността на мембраната. При провеждането на възбудния процес има известни различия при миелиновите и амиелиновите нервни влакна (фиг. 4).

В амиелиновото влакно всеки участък от мембраната е равностоеен по отношение на йонната пропускливост. Поради това провеждането на възбудата се реализира чрез генериране на акционен потенциал във всеки възбуден участък от мембраната. Тъй като константата на дължината е от порядъка на 2 – 3 mm, в амиелиновото влакно не е възможно придвижването на възбудата на големи разстояния.

В миелиновите влакна мембраната в различните участъци има различна йонна пропускливост. Тази пропускливост е възможна само в областта на прекъсванията на Ранвие. Йонната динамика се осъществява не в непосредствено съседство (както е при амиелиновите влакна), а между съседните прекъсвания, където отсъства миелин (т.нар. салтаторно провеждане). В прекъсванията на Ранвие клетъчната мембрана има най-много йонни канали и е най-електровъзбудима. Затова деполяризация настъпва само в тях. При това „прескачане“ на възбудния процес се постигат няколко биологично обусловени предимства: а. Значително се повишава скоростта на провеждане на възбудния процес (около 100 – 120 m/s при миелиновите спрямо 1 – 2 m/s при амиелиновите влакна); б. Салтаторното провеждане е много по-икономично по отношение на мембранный йонен транспорт. В миелиновите влакна натриево-калиевата помпа консумира по-малко енергия, тъй като йонната динамика в тях се осъществява в ограничени мембранны участъци (в прекъсванията на Ранвие), а скоростта на затихване на локалния потенциал е по-малка в сравнение с тази на амиелиновите нервни влакна. в. Наличието на миелинова обвивка увеличава надеждността на провеждането на нервния импулс. В случаи на спонтанна или индуцирана локална загуба на проводимост акционният потенциал може да преминава не само върху съседните прекъсвания на Ранвие, но и на по-големи разстояния (през 4–5 прекъсвания).

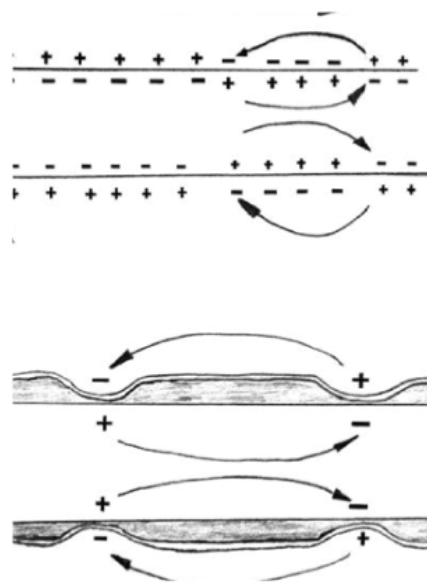
Възникналата в процеса на еволюцията миелинизация на нервните влакна при хомойотермните животни осигурява не само висока скорост на провеждане на възбудата (а следователно и бърза реакция под действието на дразнителите), но и наличие на огромен брой информационни канали за осъществяване на сензорна и моторна активност при малък просвет на проводящите пътища. По такъв начин с еволюционното развитие на организмите става усъвършенстване не само на централните нервни структури, но и на периферните нервни канали, чрез които се осъществява провеждане на информацията.

3. Синапси и видове медиатори

3.1. Характеристика на синапсите

Местата на свързване на нервните клетки помежду им или с ефекторен орган се означават като синапси. Те се намират по окончанията на дендритите и аксона. В зависимост от характера на предизвикания ефект (възбуждане или задържане) синапсите се означават като възбудни или задържни. Съществуват два механизма синаптично предаване – електрически и химичен, респ. съществуват химични и електрически синапси (фиг. 5).

Химичните синапси провеждат импулсите посредством химическо вещество, наречено медиатор (трансмисер). Този механизъм за синаптично предаване на възбудния процес е по-разпространен и е по-съвършено средство за приспособяване и усъвършенстване на нервната тъкан. Чрез химическите синапси се осигурява еднопосочност на предаването на възбудния процес – от пресинаптичната към постсинаптичната клетка, но не и в обратната посока (Фиг. 5 Б1). Освен това те позволяват при предаване на възбуждането от клетка на клетка да се извършва обработка на информацията. Предаването на възбудния процес чрез електрическите синапси се извършва посредством протичане на йонен ток. В някои синапси се наблюдават и двата принципа на предаване на информацията (химически и електрически), като те се наричат смесени.



Фиг. 4. Деполяризация на клетъчната мембрана на амиелиновите (А) и на миелиновите (Б) нервни влакна (по Куланд и Чеснокова, 1973)

3.2. Химически синапс (Фиг. 5 Б)

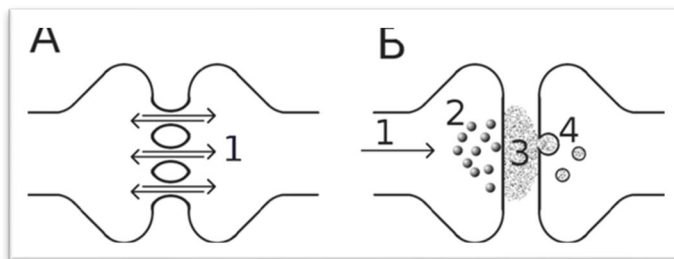
Крайните окончания на аксона завършват с разширение, наречено синаптична колба, с големина от 0,5 до 1 μm . В синаптичната колба се намират множество мехурчета (везикули) с диаметър от 30 до 100 nm, изпълнени с медиатор (Фиг. 22 Б2). Освен тях в синаптичната колба се намират също и митохондрии, обезпечаващи енергийно предаването на възбудния процес. Синаптичната колба е обвита от пресинаптична мембрана. Съседната клетка е обвита от постсинаптична мембрана, като разстоянието между двете мембрани оформя синаптично пространство с ширина около 20 nm (Фиг. 3 Б3). Разстоянието му е достатъчно, за да спре предаването на възбудния процес по електрически път. Частта от постсинаптичната мембрана, намираща се непосредствено срещу колбата, се нарича субсинаптична мембрана. В нея се намират медиаторни рецептори, които имат белтъчна природа. Тяхната пространствена структура спомага за свързването им с медиатора.

Отделянето на медиатора от везикулите се извършва чрез екзоцитоза. При достигането на деполяризацията в дисталния край на аксона в пресинаптичната мембрана се отварят потенциалзависими Ca^{2+} канали.

Тъй като градиентът на калциевите йони е по-голям в междуклетъчното пространство, отколкото в синаптичната колба, те навлизат в синапса и предизвикват освобождаване на складирания във везикулите медиатор. Той дифундира през синаптичната цепка, свързва се с рецептори върху постсинаптичната мембрана и предизвиква промени в нейния мембранен потенциал. Възникването на постсинаптичен потенциал се осъществява чрез различни механизми. В едни случаи рецепторът е част от йонен канал и при взаимодействието му с медиатора настъпват конформационни изменения в него, които предизвикват отваряне или затваряне на канала. В други случаи рецепторът има ензимна природа и при взаимодействие с медиатора се променя неговата активност. Това води до образуване на вторична субстанция (АМФ), която променя проницаемостта на клетъчната мембрана за дадени йони.

Промените в мембранный потенциал на постсинаптичната мембрана са възбуждащи (деполяризация) или задържащи (хиперполяризация) постсинаптични потенциали в зависимост от природата на медиатора. Когато под действието на медиатора се повишава проницаемостта на субсинаптичната мембрана за Na^+ , те навлизат във вътрешността на клетката и предизвикват бърза деполяризация (възбуждащ постсинаптичен потенциал). Тъй като субсинаптичната мембрана е електроневъзбудима, възбудният потенциал се разпространява на малко разстояние и е със затихващ характер. Когато до синапса достигнат дразнения с висока честота, изпреварваща скоростта на затихване, възникващите потенциали в постсинаптичната мембрана се сумират. Сумацията може да бъде времева (при бързо отделяне на порциите медиатор) или пространствена (ако върху сомата и дендритите се намират голям брой близко разположени синапси).

Ако под действието на медиатора се повиши пропускливостта на постсинаптичната мембрана за K^+ и Cl^- , калиевите йони излизат на повърхността, а хлорните навлизат в дълбочина на клетката. Настъпва хиперполяризация, респ. задържащ постсинаптичен потенциал. Той възниква бързо и бързо се преустановява. Подобно на възбуждащия, и за задържащия потенциал са характерни времева и пространствена сумация. При разпространението му в съседни участъци той може да взаимодейства с протичащи наблизо възбуждащи постсинаптични потенциали, като модулира тяхната активност. Ако върху дендритите или сомата попаднат едновременно два възбуждащи потенциала, те се комбинират и ще предизвикат по-голяма поляризация, отколкото всеки самостоятелно. Ако единият е възбуждащ, а другият – задържен, те ще се неутрализират. От пресинаптичните окончания на един неврон могат да се отделят един или повече медиатори. От друга страна, в субсинаптичната мембрана могат да се намират различни медиаторни рецептори. Това определя голямото разнообразие от биологични ефекти, предизвикани от химичното синаптично предаване, и огромните функционални възможности на нервната система и в частност на главния мозък.



Фиг. 5. Схема на електрически (А) и химичен (Б) синапс

3.3. Видове медиатори

Известни са повече от 50 химически вещества, които имат медиаторно действие. Една част от тях са нискомолекулни – ацетилхолин, аминокиселини и биогенни амини. Синтезират се в крайните окончания на аксона на пресинаптичните клетки и се складира във везикулите в синаптичната колба. При предаването на възбудния процес те се изливат в синаптичната цепка в голямо количество. Нискомолекулните медиатори имат бърз и краткотраен физиологичен ефект. Те действат само в границите на един синапс.

Другата основна група медиатори са неuropeптидите. Те са високомолекулни протеини – ендорфини, енкефалини, брадикинин, невротензин и др. Участват в синаптичното предаване между неврони в главния мозък (предимно в стволната част и в междинния мозък), но се образуват също и от някои ендокринни жлези (хипофиза и др.), както и в някои вътрешни органи (в стената на стомаха и тънките черва, в бъбреците, в сърцето). Синтезират се в сомата на неврона от телцата на Нисл. Освен в границите на един синапс, неuropeптидите могат да се транспортират чрез кръвта и да имат ефект на място, отдалечено от образуването си (ендокринно действие).

За осъществяване на последователните етапи на невротрансмисията е необходимо време. Това предизвиква закъснение от порядъка на няколко ms в провеждането на импулсите през химическите синапси, означавано като синаптична задръжка. При продължително функциониране на синапса настъпва умора. Тя се изразява в намаляване на количеството на отделяния медиатор и на амплитудата на постсинаптичния потенциал, както и в увеличаване на синаптичната задръжка.

След осъществяване на ефекта на медиатора върху постсинаптичната мембрана той се инактивира. Инактивацията се осъществява по няколко начина – чрез ензимното му разграждане в субсинаптичната мембрана, чрез ретрограден активен транспорт към синаптичната колба или инактивация от глиалните клетки.

3.4. Електрически синапси (Фиг. 3 А)

В нервната система електрическото синаптично предаване се среща рядко и се наблюдава в достатъчна степен на сигурност само в гигантския синапс на морския рак. През този синапс електрическите импулси се предават еднопосочно. Амиелиновите нервни влакна могат да си предават акционен потенциал посредством електрично поле.

На мястото на синаптичния контакт се намират тънки нишки, които съединяват двете структури на синапса. Най-вероятно това са йонни каналчета, през които протича електрически ток. За разлика от химическите синапси предаването на възбудния процес се извършва двупосочно (Фиг. 3 А1) и с по-голяма скорост. Електрическите синапси могат да предават както възбудни, така и задръжни процеси.

I. Структура на антителата (имуноглобулини).

Антителата (имуноглобулини, **Ig**) са глобуларни гликопротеини, съставени от четири ковалентно свързани полипептидни вериги – две тежки (**H**) и две леки (**L**). Молекулата има ос на симетрия в резултат на еднаквата последователност и пространствена организация на двете двойки вериги. Молекулната маса е приблизително 150 kDa: H вериги – ~50 kDa; L вериги – ~25 kDa. Участващи от приблизително 100–110 аминокиселини по протежение на L- и H-веригите формират компактни и изключително стабилни структурни единици, стабилизирани от вътреверижни дисулфидни връзки и характерно подреждане на β -нагънати листове (β -sheets). Тези структурни единици се означават като имуноглобулинови **домени**. Четирите вериги заедно образуват характерната Y-образна структура, стабилизирана чрез дисулфидни връзки и нековалентни взаимодействия между Ig-домените.

Сходна Ig-подобна доменна организация откриват и при други рецепторни молекули като T – клетъчен рецептор (TCR), CD4, CD8, молекулите на главния комплекс за тъканна съвместимост MHC I и MHC II, както и адхезионни и костимулаторни молекули като ICAM-1, ICAM-2, CD28, B7 и др. Всички белтъци, съдържащи един или повече имуноглобулинови или имуноглобулин-подобни домени, се обединяват в т.нар. имуноглобулиново суперсемејство.

Класове (изотипове) имуноглобулини. При човека имуноглобулините се разделят на пет основни изотипа (класа): IgG, IgM, IgA, IgE и IgD. Класът IgG включва четири подкласа (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4), номерирани според относителното им разпространение в плазмата, като IgG1 е най-изобилен. Изотипът IgA има два подкласа (IgA1 и IgA2).

Тежките вериги се различават между отделните класове имуноглобулини, докато леките вериги могат да бъдат от тип κ или λ , като при човека съотношението им е приблизително 2/3 κ :1/3 λ . Тежките вериги на подкласовете на IgG се обозначават като $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ и $\gamma 4$, а на подкласовете на IgA – като $\alpha 1$ и $\alpha 2$. Класовете IgM, IgE и IgD съдържат съответно μ , ϵ и δ тежки вериги.

Вариабилни и константни домени. Сравнителният анализ на аминокиселинните последователности на тежките и леките вериги показва обща доменна организация. Тежките вериги на различни антитела от един и същи изотип се различават значително по последователност в аминокрайния домен, който се означава като вариабилен домен на тежката верига (**V_H**). Аналогично, при леките вериги вариабилността е концентрирана в първия аминокраен домен – вариабилен домен на леката верига (**V_L**). В рамките на всеки вариабилен домен вариабилността е концентрирана в три хипервариабилни области, наречени райони, определящи комплементарността (complementarity-determining regions CDR1, CDR2 и CDR3). Тези участващи съответстват на бримкови структури, разположени в единия край на домена. В молекулата на антитялото CDR-ите на V_H и V_L заедно формират **антиген-свързващото място**, разположено в областта между двата вариабилни домена.

Вариацията в аминокиселинната последователност на двоените V_H и V_L домени е в основата на огромното разнообразие от антиген-свързващи специфичности. Y-образната молекула на IgG притежава два идентични антиген-свързващи участъка, разположени по един в края на всяко рамо. Видът на антигена, който се свързва, зависи от пространствената организация на CDR-ите: малки молекули (хаптени) се свързват в дълбоки джобове; линейни епитопи на белтъци или въглехидрати – в цепнатини или жлебове; конформационни епитопи на нагънати протеини – чрез взаимодействие с обширна контактна повърхност.

Останалата част от тежките и леките вериги съдържа сравнително консервативни аминокиселинни последователности в рамките на един изотип и формира константните домени – C_H домени на тежката и C_L домени на леката верига. Тежките вериги γ , α и δ съдържат по три C_H домена, докато тежките вериги μ и ϵ съдържат по четири C_H домена.

Fab, Fc и шарнирна област. При използваното като модел антитяло IgG, относително несструктуриран сегмент в средата на тежката верига може да бъде разцепен *in vitro* с протеазата

папаин, което води до образуването на два типа функционално допълващи се фрагменти. Двата идентични фрагмента, съответстващи на рамената на Y-образната молекула, се означават като **Fab** (fragment antigen binding) и съдържат **антиген-свързващите участъци**. Фрагментът, съответстващ на стъблото, се означава като **Fc** (fragment crystallizable) и осигурява ефекторните функции на антитялото чрез взаимодействие със серумни протеини и Fc-рецептори на клетъчната повърхност. Неструктурираните участъци на тежките вериги, които свързват Fab с Fc, образуват **шарнирната област** на молекулата IgG. Тя придава гъвкавост на молекулата и позволява на двата Fab фрагмента да заемат различни пространствени ориентации, което улеснява едновременно свързване на антигенни детерминанти, разположени на различно разстояние по повърхността на патогените.

Различия в константните (C) региони на тежката верига определят петте основни изотипа (класове) имуноглобулини, които изпълняват различни функции в имунния отговор. Това са имуноглобулин G (**IgG**), имуноглобулин M (**IgM**), имуноглобулин A (**IgA**), имуноглобулин E (**IgE**) и имуноглобулин D (**IgD**). Тежката верига на всеки изотип се обозначава със съответна малка гръцка буква: γ (гама), μ (мю), δ (делта), α (алфа) и ϵ (епсилон). Леките вериги имат само два изотипа – κ (капа) и λ (ламбда). Не е установена функционална разлика между антителата, съдържащи κ или λ леки вериги. Леките вериги от двата изотипа могат да се удвояват с всички изотипове на тежките вериги. Всяка молекула антитяло съдържа или κ , или λ леки вериги, но никога и двата типа едновременно.

Имуноглобулин G (IgG). IgG е главният серумен имуноглобулин (70–75%) и най-разпространеният имуноглобулинов изотип, като съставлява до 20% от всички плазмени белтъци при здрави индивиди. Той е основният имуноглобулин и в екстраваскуларното пространство. Отличителна характеристика на IgG е способността му да преминава през плацентата – свойство, изразено при подкласовете IgG1, IgG3 и IgG4, но IgG2 преминава значително по-слабо. Плацентарният транспорт IgG не изисква предварително свързване на антиген.

Четири подкласа – IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 – притежават над 90% идентичност в аминокиселинните си последователности, но се различават по биологични свойства, включително ефективност на антигенното свързване, активиране на комплемента, взаимодействие с Fc-рецептори, плацентарен транспорт и време на полуразпад. Тези различия се дължат основно на вариации в константните региони, особено в шарнирната област и C_H2 домена, който участва във взаимодействието с Fc γ рецепторите и с първия компонент на комплемента – C1q.

IgG3 се характеризира с удължена шарнирна област (62 аминокиселини), докато IgG2 има скъсена шарнирна област. Иmunният отговор към разтворими белтъчни антигени обикновено води до продукция на IgG1 – най-изобилния подклас. Отговорите към бактериални капсулни полизахариди често са ограничени до IgG2. Антителата IgG3 са силно провъзпалителни и най-ефективни в активирането на комплемента по класическия път, следвани от IgG1; IgG2 активира комплемента слабо, а IgG4 практически не проявява такава активност.

IgG участва в неутрализацията на микроорганизми и токсини, в опсонизацията при фагоцитоза и в антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност (ADCC), осъществявана главно от NK-клетки чрез Fc γ RIIIa (CD16) рецептор.

Имуноглобулин M (IgM). IgM са пентамерни имуноглобулини с молекулна маса около 900 kDa, изградени от пет мономерни субединици, свързани чрез допълнителна J-верига – ($\mu_2\kappa_2$)₅J или ($\mu_2\lambda_2$)₅J. Тежката μ -верига съдържа допълнителен константен домен (C_H4). J-веригата е малък полипептид (~15 kDa), който свързва C-края на μ -тежките вериги чрез дисулфидни връзки, за да формира стабилен пентамер. В серума IgM се откриват предимно като пентамери, докато върху повърхността на B-лимфоцитите се експресират като мономерни – $\mu_2\kappa_2$ или $\mu_2\lambda_2$, където участват в структурата на B-клетъчния рецептор (BCR) заедно със сигналните молекули Ig α и Ig β (CD79a/CD79b).

IgM е третият по количество имуноглобулинов изотип в серума (5 – 10%; 0,2 – 2,8 mg/ml). Това е първият клас антитела, който се синтезира по време на ембрионалното развитие, както и първият, който се продуцира от наивните B-клетки при имунен отговор. IgM са първите антитела, образувани в **първичния имунен отговор**, особено срещу **T-зависими антигени**, преди да настъпи изотипното превключване. Те играят ключова роля и в отговора към **T-независими антигени**, особено бактериални полизахариди.

Значителна част от серумните IgM функционират като естествени изохемаглутиници, насочени срещу въглехидратните антигени на системата ABO, и се образуват без предходна иму-

низация. Поради пентамерната си структура IgM проявяват силно изразени аглутиниращи свойства. Те са най-ефективните активатори на комплемента по класическия път, като една единствена пентамерна молекула е достатъчна за свързване на C1q, участват в неутрализацията на патогени и в опсонизацията чрез комплемент-медирирани механизми. IgM могат да се свързват с Fc μ R (Fc μ R), експресирани върху различни имунни клетки, и играят важна роля в ранните фази на хуморалния имунен отговор.

Имуноглобулин А (IgA). IgA се представя в серума предимно като мономер ($\alpha_2\kappa_2$ или $\alpha_2\lambda_2$), рядко като димер. В секретите (секреторен IgA, **sIgA**) той е основно в димерна форма – $[(\alpha_2\kappa_2)_2J+SC]$ или $[(\alpha_2\lambda_2)_2J+SC]$, като съдържа допълнителна J-верига и полипептид с пет Ig-подобни домена, наречен **секреторен компонент (SC)**. J – веригата на sIgA стабилизира димера и участва в секреторния транспорт чрез SC. SC представлява част от поли Ig рецептора, който медира транспорта на IgA през епителните клетки към луминалната повърхност и предпазва антитялото от протеазно разграждане, особено в гастроинтестиналния тракт. IgA е вторият по количество серумен имуноглобулин и основният секреторен Ig в слъзи, слюнка, гастроинтестинални, назални и белодробни секрети, коластра, кърма, пот, както и в секретите на уринарния и гениталния тракт. В майчината кърма секреторният IgA осигурява пасивна защита на новороденото, като предпазва лигавиците от инфекции в ранния постнатален период, без да предизвиква възпаление или увреждане на незрелия епител.

Хората, шимпанзетата, горилите и гибоните притежават два гена за константните домени на тежката α -верига, което позволява синтеза на два подкласа IgA – IgA1 и IgA2. IgA1 съставлява около 80% от общия серумен IgA. Той има удължена шарнирна област, резултат от вмъкване на дублирана пептидна последователност, която съдържа множество O-свързани гликани и две основни N-свързани места за гликозилиране. IgA1 съдържа значително повече сialова киселина в сравнение с IgA2. Поради удължената си шарнирна област, IgA1 е по-податлив на протеолитично разграждане от ензими, продуцирани от *Streptococcus*, *Neisseria* и *Haemophilus*. Този подклас е насочен предимно срещу белтъчни антигени, като повечето лимфоидни тъкани съдържат преобладаващо плазмени клетки, секретиращи IgA1.

В IgA2 липсва класическата дисулфидна връзка в C μ 1 домена, който обикновено свързва тежката и леката верига, но асоциацията остава стабилна. Този подклас има скъсена шарнирна област и повече N-свързани места за гликозилиране от IgA1, като леките вериги са нековалентно асоциирани с тежките вериги. IgA2 представлява около 20% от серумния IgA и значителен дял от секреторния IgA, особено в дисталните чревни отдели. IgA2 може да индуцира активиране на миелоидни клетки чрез Fc α RI (CD89). Полизахаридните антигени индуцират по-силен синтез на IgA2 в сравнение с белтъчните антигени. IgA2 по-често индуцира проинфламаторна активация на неутрофили и макрофаги, докато тази активност е по-слабо изявена при IgA1. Подобни функционални различия вероятно се дължат на различия в гликозилирането на двата подкласа.

IgA-секретиращите плазматични клетки са концентрирани по лигавичните повърхности. В тънките черва (в началните две пети) се намират над $2,5 \times 10^{10}$ плазматични клетки, секретиращи IgA, което надвишава общия брой плазматични клетки в костния мозък, лимфните възли и далака. Здрав човек отделя ежедневно **5 – 15 g** секреторен IgA в лигавичните секрети.

Имуноглобулин Е (IgE). IgE е мономерен имуноглобулин, съставен от две ϵ -тежки вериги и две κ или λ леки вериги. В серума е представен с най-ниска концентрация сред имуноглобулините – около 0,3 $\mu\text{g/ml}$ при здрави индивиди. IgE има много кратък полуживот в серума (~2 дни), но прикрепен към Fc ϵ RI остава стабилен седмици. Открива се предимно свързан с високоафинитетния Fc ϵ RI рецептор на мастоцити и базофили; активираните еозинофили също експресират Fc ϵ RI, но в по-малка степен. Кръстосаното свързване на клетъчно фиксиран IgE от мултивалентен антиген индуцира бърза дегранулация на мастоцити и базофили и освобождаване на медиатори (хистамин, протеази, левкотриени, простагландини), които предизвикват реакции на свръхчувствителност тип I. Афинитетът на Fc ϵ RI към Fc-фрагмента на IgE е изключително висок, поради което при липса на специфичен антиген IgE не дисоциира след свързването си с рецептора. Ниските серумни концентрации на IgE са достатъчни да поддържат Fc ϵ RI рецепторите на клетъчната повърхност напълно заети. Така мастоцитите в съединителната тъкан, активираните еозинофили по лигавичните повърхности и циркулиращите базофили се поддържат в състояние на готовност за бърза реакция към патогени и техни антигени.

IgE играе ключова роля в алергичните реакции и участва в защитата срещу големи паразити, особено хелминти, чрез активиране на еозинофили и мастоцити. IgE не активира комплемента.

Имуноглобулин D (IgD). IgD представлява малка част от серумните имуноглобулини (~0,2%; ~30 µg/ml) и се среща предимно като мономер – $\delta_2\lambda_2$ или $\delta_2\kappa_2$. Той се експресира главно върху повърхността на „наивни“ В-клетки като мембранен рецептор, където участва заедно с сигналните молекули Igα и Igβ (CD79a/CD79b) в структурата на В-клетъчния рецептор (BCR).

В серума IgD присъства в ниски концентрации, а точните му функционални роли все още не са напълно изяснени. Съществуват данни, че IgD може да участва в активиране на базофили и мастоцити и да модулира ранните фази на В-клетъчната активация, както и да играе роля в имунната хомеостаза на дихателните пътища.

II. Генериране на имуноглобулиновото разнообразие. Генетика на V(D)J пренареждането, генетични рекомбинации, сигнални последователности и ензими

Имунната система на човека притежава способността да разпознава практически неограничен брой антигени. Това изключително разнообразие на антигеновата специфичност се постига чрез прецизно координирани генетични механизми, които протичат по време на развитието и последващата активация на В-лимфоцитите. В основата на този процес стои генерирането на имуноглобулиново разнообразие чрез **V(D)J** пренареждане, допълнено от допълнителни механизми на генетична модификация, контролирани от специфични сигнални последователности и специализиран ензимен апарат.

Имуноглобулинови генни локуси. В човешкия геном гените за имуноглобулиновите вериги са организирани в три основни локуса:

IGH (immunoglobulin heavy chain) – локус за тежките вериги, разположен в хромозома 14;

IGK (κ light chain) – локус за κ-леките вериги, разположен в хромозома 2;

IGL (λ light chain) – локус за λ-леките вериги, разположен в хромозома 22.

Всеки от тези локуси съдържа множество вариабилни (**V** – variable), диверсификационни (**D** – diversity; само за тежките вериги) и съединителни (**J** – joining) генни сегменти, всеки със собствена уникална нуклеотидна последователност. В ранните етапи на В-клетъчното развитие сегментите са потенциално достъпни за рекомбинация от двата алела, докато не се установи алелно изключване.

Организация на имуноглобулиновите локуси. Гените, кодиращи вариабилните региони на имуноглобулиновите вериги, са организирани в дискретни модулни сегменти: **V** (variable) – включва множество генни касети, съдържащи лидерна (**L**) последователност и **V** сегмент; **D** (diversity) – диверсификационни сегменти (само при тежките вериги); **J** (joining) – съединителни сегменти.

При формирането на гени за тежките вериги на имуноглобулините се комбинират един **V**, един **D** и един **J** сегмент, докато при леките вериги (κ и λ) участват само **V** и **J** сегменти. Тази модулна организация позволява генерирането на огромно структурно и функционално разнообразие на вариабилните региони чрез комбиниране на ограничен набор налични генни сегменти във функционални гени.

Надолу по веригата от JH сегментите в локуса за тежката имуноглобулинова верига са разположени гените за константните региони (Cμ, Cδ, Cγ, Cε, Cα), като пред всеки от тях (с изключение на Cδ) се намира специфичен **S** (switch) регион. Sμ регионът, локализиран между JH сегментите и Cμ, служи като изходна точка за класовото превключване, което се осъществява чрез рекомбинация между Sμ и друг разположен downstream **S** регион.

V(D)J пренареждане. V(D)J пренареждането представлява специализиран тип соматична генетична рекомбинация, протичаща на ниво ДНК в развиващите се В-лимфоцити в костния мозък. Процесът включва случайно и необратимо комбиниране, в строго определена последователност, на един **V**, един **D** и един **J** сегмент за тежките вериги и на един **V** и един **J** сегмент за леките вериги. В резултат на тези рекомбинации за всяка имуноглобулинова верига се формира уникален функционален ген, което води до клонална експресия – всеки В-лимфоцит експресира един-единствен тип В-клетъчен рецептор (BCR), идентичен по антигенна специфичност с бъдещото секретирано анти тяло.

Наивните зрели В-лимфоцити едновременно експресират имуноглобулини от клас IgM и IgD с идентична антигенна специфичност. Това се дължи на факта, че и двата изотипа използват

един и същ пренареден V(D)J регион, който определя антиген-свързващата специфичност на В-клетъчния рецептор (BCR). Разликата между IgM и IgD се отнася единствено до константната област на тежката верига (C μ или C δ).

След успешно V(D)J пренареждане и транскрипция на тежковерижния locus се образува първичен транскрипт, съдържащ екзоните за C μ и C δ . Чрез алтернативен сплайсинг на иРНК В-клетката може да включи екзоните за C μ или C δ , без да променя вариабилния регион. По този начин се синтезират IgM и IgD с еднаква антигенна специфичност (идентични вариабилни домени), но с различни ефекторни константни домени. Имуноглобулините IgM и IgD се експресират като мембранно-свързани форми и функционират като В-клетъчни рецептори, участващи в разпознаването на антигена и в регулацията на В-клетъчната активация. Този механизъм позволява функционално разнообразие на BCR без необходимост от допълнителна ДНК рекомбинация.

Алелно изключване и клонална идентичност. След като дадена В-клетка успешно генерира функционален имуноглобулинов ген чрез V(D)J пренареждане, рекомбинацията на останалите алели на съответния locus се потиска – процес, известен като **алелно изключване**. Това гарантира, че всяка В-клетка експресира един-единствен функционален имуноглобулинов рецептор с уникална антигенна специфичност. Така строго регулираният процес на V(D)J пренареждане представлява молекулната основа на клоналната селекция и предотвратява едновременната експресия на рецептори с различна антигенна специфичност в една и съща В-клетка.

Рекомбинационни сигнални последователности и правило 12/23. Всеки V, D и J генен сегмент е фланкиран (ограден) от рекомбинационни сигнални последователности (RSS, recombination signal sequences), които насочват рекомбинационния апарат и определят допустимите рекомбинационни събития. RSS се състоят от три основни елемента: консервативен хептамер (7 нуклеотида), спейсър с дължина 12 или 23 нуклеотида и консервативен нонамер (9 нуклеотида).

Рекомбинацията протича съгласно правилото **12/23**, което изисква рекомбинация само между два сегмента, фланкирани от RSS със спейсъри с различна дължина (12 и 23 нуклеотида). Така се осигурява правилната последователност на V(D)J пренареждането и се предотвратяват некоректни рекомбинации, като например директно V–J свързване при тежковерижните гени, което би заобиколило задължителното включване на D сегмент.

Ензими, участващи във V(D)J пренареждането. V(D)J пренареждането се осъществява от строго регулиран молекулен апарат, който включва както лимфоидно-специфични ензими, определящи уникалността на процеса в развиващите се лимфоцити, така и универсални механизми за репарация на ДНК, функционално използвани за завършване на рекомбинацията (таблица 1).

Лимфоидно-специфичните компоненти инициират и модулират рекомбинационния процес. **RAG1** и **RAG2** образуват активен рекомбиназен комплекс, който разпознава рекомбинационните сигнални последователности (RSS) и индуцира сайт-специфични двойно-верижни разкъсвания на ДНК. **TdT** (терминална дезоксиинуклеотидил трансфераза) допринася за съединителното разнообразие чрез добавяне на несъответстващи (N) нуклеотиди в зоните на свързване на V, D и J сегментите. Активността ѝ е най-силно изразена при пренареждането на гените за тежките вериги и е минимална или липсва при леките вериги. **AID** (activation-induced cytidine deaminase) се експресира след антигенна стимулация в герминативните центрове и не участва във V(D)J пренареждането, а в по-късните процеси на антигенова диверсификация.

Завършването на рекомбинацията изисква ангажирането на компоненти на нехомоложното свързване на ДНК краищата (non-homologous end joining, **NHEJ**). Тези универсални репарационни фактори осигуряват разпознаването, стабилизацията, обработката и окончателното лигиране на разкъсаните ДНК краища. Нарушения в който и да е от ключовите елементи на NHEJ водят до дефектно V(D)J пренареждане и клинично се асоциират с тежък комбиниран имунодефицит (SCID).

Лимфоидната специфичност на процесите се определя от **RAG1/2** и **TdT**, докато **NHEJ** апаратът представлява универсален репарационен механизъм, използван контекстуално от лимфоцитите. V(D)J рекомбинацията протича в незрели лимфоцити, докато соматичните хипермутации (**SHM**) и изотипното превключване (**CSR**) са ограничени до активирани В-клетки в периферните лимфоидни органи.

Допълнителни механизми за генериране на разнообразие

- Комбинаторно разнообразие – резултат от различните комбинации на V, D и J генни сегменти и от случайното сдвояване на тежки и леки имуноглобулинови вериги;
- Съединително (junctional) разнообразие – възниква вследствие на изрязване или добавяне на нуклеотиди в зоните на съединяване на V(D)J сегментите, особено в областта на CDR3;
- Соматични хипермутации (SHM) – AID-медирирани точкови мутации във V-регионите на имуноглобулиновите гени след антигенна стимулация, водещи до афинитетно узряване на антителата;
- Изотипно превключване (class switch recombination, CSR) – AID-зависим процес, при който се променя константният регион на тежката верига (IgM → IgG, IgA или IgE) без промяна в антигенната специфичност.

Комбинацията от всички тези механизми позволява на адаптивната имунна система да генерира приблизително 10^{11} различни антители специфичности, осигурявайки ефективно разпознаване и неутрализиране на изключително широк спектър от патогени.

Таблица 1. Ензими и молекулярни компоненти, участващи в V(D)J рекомбинацията, съединителното разнообразие и изотипното превключване

ензим / компонент	функция	молекулен механизъм	етап / клетъчен контекст
лимфоидни	RAG1 (Recombination Activating Gene 1)	Инициира V(D)J рекомбинацията	Незрели В- и Т-лимфоцити (про- и пре-В; CD4-CD8 ⁺ Т-кл.), G1 фаза
	RAG2 (Recombination Activating Gene 2)	Регулира и стабилизира RAG1	Незрели В- и Т-лимфоцити, G1 фаза
	TdT (терминална дезоксиинуклеотидилтрансфераза)	Генерира съединително (junctional) разнообразие	Про-В и пре-В клетки; ранни Т-клетъчни прекурсори
	AID (activation-induced cytidine deaminase)	Индуктира соматична хипермутация и изотипно превключване	Активирани периферни В-клетки (герминативни центрове)
универсални репаративни	Ku70 / Ku80	Разпознава и свързва свободните ДНК краища	Хетеродимер, който първи се асоциира с двойно-верижните разкъсвания; защитава краищата и рекрутира DNA-PKcs
	DNA-PKcs	Координира обработката на ДНК краищата	С Ku70/Ku80 формира DNA-PK; фосфорилира Artemis и други фактори, контролирайки ендонуклеазната обработка
	Artemis	Обработва кодиращите ДНК краища	Ендонуклеаза, активирана от DNA-PKcs; отваря hairpin-структурите и допринася за формиране на Р-нуклеотиди
	XRCC4	Организира лигирането на ДНК краищата	Структурен адаптер; стабилизира ДНК лигаза IV и участва в подравняването на краищата
	XLF (Cernunnos)	Стабилизира синнаписа на ДНК краищата	Образува филаментни структури с XRCC4; усилва ефективността на лигирането, особено при нестабилни краища
	ДНК лигаза IV	Завършва рекомбинацията	Катализира образуването на фосфодиестерни връзки между обработените ДНК краища; функционира в комплекс с XRCC4 и XLF

* CSR – class switch recombination, изотипно превключване

По време на ембрионалното развитие при животните, клетките осъществяват интензивна и строго координирана комуникация помежду си. Тези междуклетъчни взаимодействия са решаващи за правилното позициониране на клетките, за определянето на тяхната съдба, ориентация и за прецизното формиране на тъканни и органични структури. Междуклетъчната сигнализация в ембриогенезата се осъществява чрез няколко основни семейства секретирани сигнални молекули, сред които фибробластни растежни фактори (FGF), трансформиращ растежен фактор β (TGF- β), Hedgehog-протеини и Wnt-протеини.

Wnt протеините са секретирани гликопротеини, богати на цистеинови остатъци (23 – 24 цистеинови остатъци), съдържат N-терминална сигнална секвенция и обикновено имат дължина между 350 и 500 аминокиселини. Известни са 13 Wnt генни семейства (Wnt1–11, 16 и WntA), като при хората са идентифицирани 19 Wnt гена.

Wnt протеините се синтезират в ендоплазмения ретикулум и се модифицират чрез добавяне на палмитинова и палмитолеинова киселина от ензима porcupine (PORCN) – мембранно-свързана O-ацилтрансфераза. Тези липидни модификации са от основно значение за транспорта на Wnt до плазмената мембрана. При липса на porcupine, Wnt се натрупва в ендоплазмения ретикулум. След достигане на мембраната, Wnt се секретира чрез дифузия, екзозоми или липопротеинови частици. В извънклетъчния матрикс, те се свързват с глипикани (хепаран сулфат протеоглики), което ограничава дифузията им. Обикновено Wnt протеините действат на къси разстояния, активирайки Frizzled/Lrp рецепторни комплекси в съседни клетки.

Рецепторите за Wnt (Frizzled протеините) се състоят от седем трансмембранни сегмента и N-краен богат на цистеин домен (CRD), който е извън клетката и свързва лиганда. Fzd рецепторите активират Wnt сигналния път при свързването на Wnt лиганда към CRD на Fzd рецептора. В извънклетъчната среда, Wnt протеините взаимодействат също с инхибиторни фактори (WIFs), Frizzled-свързани протеини (FRPs), Cerberus и сулфатирани протеоглики.

Wnt-сигналните пътища са важни за регулирането на ембрионалното развитие, диференциацията на тъканите, поддържането на стволовите клетки и тъканната регенерация.

Охарактеризирани са три Wnt сигнални пътища:

- **Каноничен Wnt/ β -катенинов път** – играе важна роля в поддържането на стволовите клетки, регулирането на клетъчния цикъл и развитието на тъкани. При активиране на този път, Wnt лигандите се свързват с рецепторите Frizzled и корецептора LRP, което предотвратява разграждането на β -катенина и позволява неговото натрупване в ядрото, където той регулира транскрипцията на целеви гени.

- **Неканоничен път на планарната клетъчна поляриност (PCP)** – не включва β -катенин, а вместо това активира малки GTPази като RhoA и Rac. Участва в регулирането на клетъчната поляризация и морфогенеза по време на ембрионално развитие.

- **Неканоничен Wnt/ Ca^{2+} път** – влияе на вътреклетъчните нива на калций и активира протеинкинази като PKC и CamKII, които регулират клетъчната адхезия и миграция.

Каноничен Wnt/ β -катенинов път

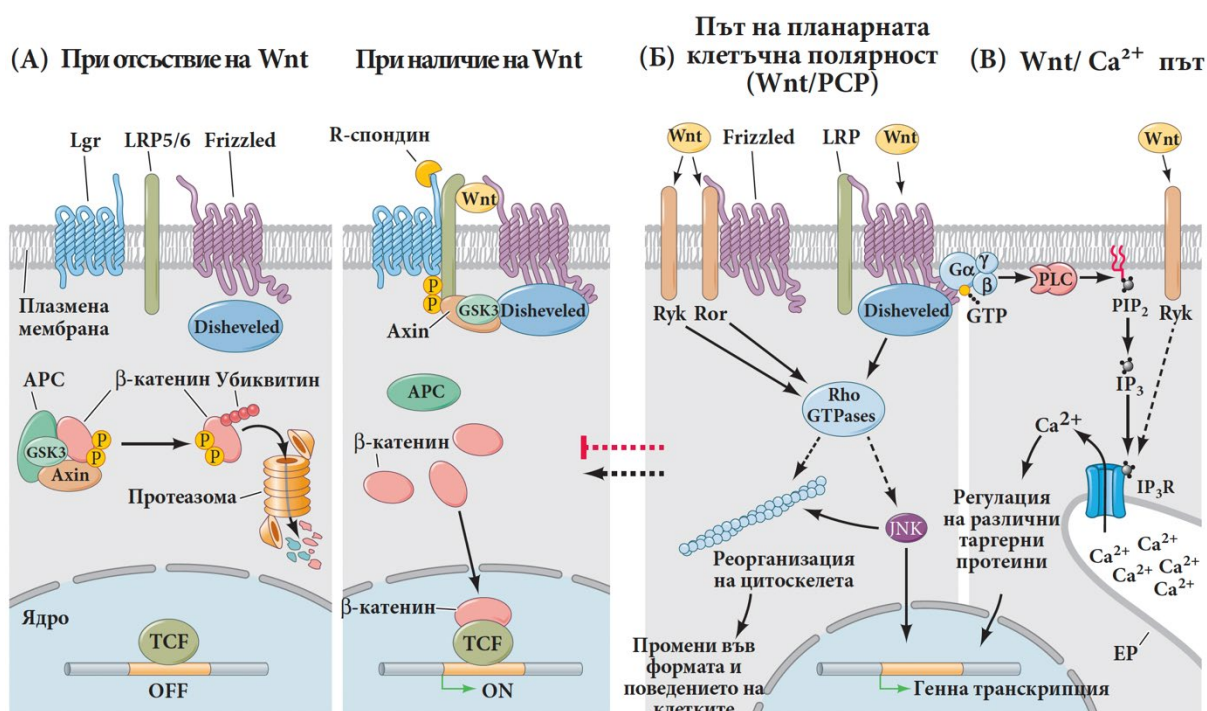
Това е най-добре проученият Wnt сигнален път. Основен компонент е β -катенинът, който при активиране на пътя се натрупва в цитоплазмата и мигрира в ядрото за да активира целеви гени. Пътят може да бъде разделен на две основни състояния: „изключено“ (при липса на Wnt сигнал) и „включено“ (при наличие на Wnt сигнал) (Фигура 1A).

В отсъствие на Wnt лиганд, в цитоплазмата се формира голям протеинов комплекс, наречен „разрушаващ комплекс“ (Destruction Complex). Неговите ключови компоненти са: Axin – служи като скеле (scaffold) за комплекса; APC – друг важен скелетен протеин, често мутиращ при колоректален рак; GSK3 β – киназа, която фосфорилира β -катенин; CK1 α – друга киназа, която „подготвя“ β -катенин за фосфорилиране от GSK3 β .

Свободният β -катенин в цитоплазмата се свързва с разрушаващия комплекс. Тук той бива последователно фосфорилиран първо от CK1 α , а след това от GSK3 β на специфични серинови и треонинови остатъци в N-края си. Фосфорилираният β -катенин се разпознава от E3 убиквитин

лигазата β -TrCP. Тя катализира добавянето на убиквитин към β -катенин (убиквитиниране). Убиквитинираният β -катенин се насочва към протеазомата и се разгражда. Поради постоянното разграждане, нивата на свободен β -катенин в цитоплазмата и ядрото са много ниски. В ядрото, транскрипционните фактори от семейството TCF/LEF (T-cell factor/lymphoid enhancer factor) са свързани с ДНК на промоторите на Wnt-таргетните гени, но са асоциирани с ко-репресори (като Groucho/TLE). Тази конфигурация активно потиска транскрипцията на таргетните гени.

В присъствие на Wnt лиганд, Wnt протеини (като Wnt1, Wnt3a, Wnt8) се секретират от сигнална клетка и се свързват едновременно с два типа рецептори на повърхността на прицелната клетка: Frizzled (Fzd) и LRP5/6 (Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 или 6). Свързването на Wnt с Fzd и LRP5/6 води до тяхното групиране и формиране на активен рецепторен комплекс. Този комплекс привлича протеина Dishevelled (Dvl/Dsh) към вътрешната страна на плазмената мембрана. LRP5/6 също се фосфорилира (от GSK3 β и CK1 γ). Активният рецепторен комплекс, чрез Dvl и фосфорилирания LRP5/6, привлича и/или инактивира компоненти на разрушаващия комплекс (основно Аксин и GSK3 β). Точният механизъм е сложен и включва преместване на Аксин към LRP5/6 и вероятно инхибиране на киназната активност на GSK3 β в рамките на комплекса. Тъй като разрушаващият комплекс е деактивиран, β -катенин вече не се фосфорилира ефективно и не се разгражда от протеазомата. Това води до неговото стабилизиране и натрупване в цитоплазмата. Натрупаният β -катенин се транслоцира в клетъчното ядро. В ядрото, β -катенинът взаимодейства с транскрипционните фактори TCF/LEF, които са свързани с ДНК. Обикновено β -катенинът измества ко-репресорите (като Groucho/TLE) от TCF/LEF. След това β -катенин привлича ко-активатори на транскрипцията (като CBP/p300, Ψ gorus, BCL9). Сформираният комплекс (β -катенин/TCF/LEF/ко-активатори) активира транскрипцията на Wnt-таргетните гени. Тези гени кодират протеини, участващи в множество процеси, включително клетъчна пролиферация (напр. *Myс*, *Cyclin D1*), клетъчна съдба, диференциация, миграция и поддържане на стволови клетки.



(А) Каноничен Wnt/ β -катенинов път. (Б) Неканоничен път на планарната клетъчна полярност (Wnt/PCP). (В) Неканоничен Wnt/ Ca²⁺ път. (адаптирана по Scott F. Gilbert, 2016)

Неканоничен път на планарната клетъчна полярност (Wnt/PCP)

Пътят на **планарната клетъчна полярност** е от решаващо значение за процеси като конвергентно-екстензионните движения по време на гаструлацията, правилната ориентация на епителните клетки в равнината на тъканта и координираната миграция на клетки по време на разви-

тие. Той не използва β -катенин, а се фокусира върху реорганизация на цитоскелета и междуклетъчни взаимодействия (Фигура 1Б).

Wnt протеините могат да причинят промени в цитоплазмата, които влияят на клетъчната функция, форма и поведение. Пътят на планарната клетъчна полярност (PCP) контролира клетъчната форма, необходима за миграция, чрез регулиране на актиновия и микротубулен цитоскелет. Някои Wnts лиганди (като Wnt5a и Wnt11) активират Dishevelled чрез свързване с рецепторен комплекс Frizzled/Ror. Dishevelled не насочва сигнала към β -катенин, а активира малки GTPази от семейството на **Rho**. GTP-азите са ензими, които улесняват превръщането на гуанозин трифосфат (GTP) в гуанозин дифосфат (GDP). Rho GTP-азите са семейство малки (~21 kDa) сигнални G-протеини, част от суперсемейството Ras. Те регулират вътреклетъчната динамика на актина, активирайки протеини (**JNK (c-Jun N-terminal kinase)**), които ремоделират цитоскелета и контролират клетъчната форма и движение. Чрез контрол на цитоскелета, Wnt/PCP сигнализирането кара клетките да се делят и движат в една и съща равнина, без да образуват отделни тъканни слоеве.

Неканоничен Wnt/ Ca^{2+} път

Wnt/калциевият път представлява един от основните неканонични механизми на Wnt сигнализацията. Неговата отличителна характеристика е, че активирането му води до повишаване на вътреклетъчната концентрация на калциеви йони (Ca^{2+}) и активиране на калций-чувствителни ензими и сигнални молекули (Фигура 1В).

Процесът започва със свързването на определени Wnt лиганди (напр. Wnt5a, Wnt11) към мембранный рецептор Frizzled на повърхността на клетката. Към рецепторния комплекс могат да се включат корецептори като Ryk или Ror, които модулират изхода на сигнала. Frizzled рецепторът взаимодейства с хетеротримерен G-протеин, чийто α -субединица в GTP-свързано състояние стимулира ензима фосфолипаза C (PLC). Фосфолипаза C катализира хидролизата на мембранный фосфолипид фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PIP_2) до инозитол-1,4,5-трифосфат (IP_3) и диацилглицерол (DAG). Инозитол-1,4,5-трифосфат е водоразтворима молекула, която бързо дифундира в цитозола и се свързва със специфични IP_3 рецептори (IP_3R), локализирани в мембраната на ендоплазмения ретикулум. Свързването на IP_3 води до освобождаване на Ca^{2+} в цитозола. Освободеният калций може да активира ензими, транскрипционни фактори и транслационни фактори. Калций активира също така протеинкиназа C чрез синергично действие с диацилглицерола, което води до промени в мембранната динамика, организацията на цитоскелета и клетъчната адхезия.

Друг важен калций-зависим ефектор в Wnt/калциевия път е калциневрина – серин/треонин фосфатаза, която при активиране дефосфорилира транскрипционни фактори от семейството NFAT. Дефосфорилираните NFAT протеини преминават в ядрото и регулират експресията на гени, участващи в клетъчната диференциация, миграция и адаптивни отговори.

Hedgehog (Hh) протеиновото семейство е група от морфогенни сигнални молекули, важни за ембрионалното развитие, поддържането на стволовите клетки и тъканната регенерация при гръбначните животни. Те играят ключова роля във формирането на централната нервна система, крайниците, скелета и други органи. При гръбначните животни съществуват три основни хомолога на Hh лиганда: Sonic hedgehog (Shh), който е най-добре проучен и участва в развитието на нервната система и крайниците; Indian hedgehog (Ihh), регулиращ развитието на скелета; и Desert hedgehog (Dhh), свързан със сперматогенезата и развитието на периферните нерви.

Hh протеините преминават през сложен процес на посттранслационна модификация преди да станат активни и да бъдат секретирани. Първоначално Hh се синтезира като прекурсор, който претърпява автопротеолитично разцепване. В резултат се получава N-краен фрагмент, който е биологично активният сигнал, и C-краен фрагмент с ензимна функция. По време на тази обработка активният N-краен фрагмент се модифицира ковалентно чрез прикачване на холестерол към C-края му. Освен това N-краят на активния фрагмент се палмитоилира чрез специфична ацилтрансфераза, което допълнително увеличава хидрофобността на молекулата и усилва сигналната ѝ активност. Тези липидни модификации ограничават свободното му разпространение в тъканите, като спомагат за асоциирането му с мембрани, липопротеинови частици и компоненти на екстрацелуларния матрикс. Въпреки хидрофобния характер, Hh може да формира мултимери или да се транспортира чрез специализирани механизми, което позволява далечнодействащи морфогенни ефекти.

Hedgehog сигнален път при *Drosophila melanogaster*

В отсъствието на Hh лиганд, трансмембранный рецептор Patched (Ptc) активно потиска функцията на друг мембранен протеин, наречен Smoothed (Smo). В това състояние Smoothed е неактивен и задържан в цитоплазмата, като не може да иницира сигнална каскада. В отсъствие на Hh сигнал, транскрипционният фактор Cubitus interruptus (Ci) се намира в комплекс, включващ Costal2 (Cos2), Fused (Fu) и Suppressor of fused (Su(fu)). Този комплекс често е асоцииран с микротръбички. В рамките на този комплекс, Ci се фосфорилира последователно от PKA, GSK3 и CK1. Това фосфорилиране маркира Ci за частична протеолиза чрез убиквитин-протеазомната система. Протеолизата генерира по-малка форма на Ci (~75 kDa), която действа като транскрипционен репресор (CiR). CiR влиза в ядрото и потиска експресията на Hedgehog-таргетни гени (като *patched (ptc)*, *decapentaplegic (dpp)*) (Фигура 2А).

Свързването на Hedgehog лигандът със своя рецептор Patched на клетъчната повърхност премахва инхибиторното действие на Patched върху Smoothed (Фигура 2Б). Това води до активиране на Smoothed. Активираният Smo се фосфорилира от киназите PKA и CK1, което предизвиква промяна в неговата конформация и натрупването му на клетъчната мембрана. Активираният Smoothed иницира каскада от вътреклетъчни събития, които засягат Ci-регулаторния комплекс. Най-същественото последствие е потискане на фосфорилирането и частичната протеолиза на Ci. Това означава, че Ci вече не се обработва до репресорна форма. Вместо това се стабилизира пълноразмерният Ci, който функционира като транскрипционен активатор (CiA).

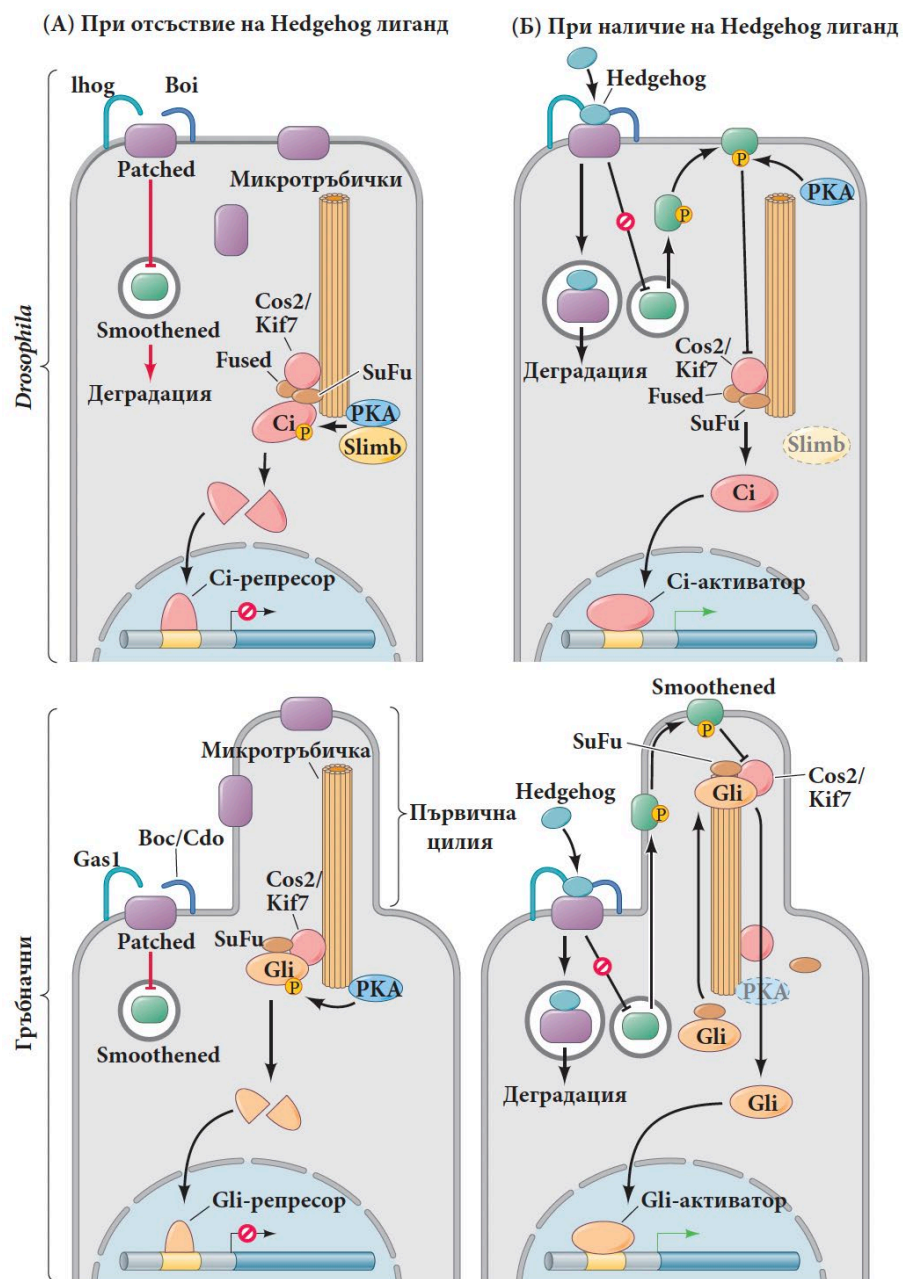
В ядрото CiA иницира експресията на гени, като *decapentaplegic (dpp)*, *wingless (wg)* и самия *patched (ptc)*. Повишената експресия на Ptc увеличава капацитета на клетката да улавя Hh лиганд и да ограничава пространственото му разпространение, като по този начин се оформят стабилни морфогенни градиенти. Други таргетни гени кодират фактори, които определят клетъчната съдба, пролиферация и границите между тъканни домейни.

Hedgehog сигнален път при гръбначни животни

В отсъствие на Hedgehog лиганд клетката се намира в състояние на активна репресия на Hh-зависимата транскрипция. Мембранный рецепторът Patched (Ptch1 или Ptch2) е локализиран предимно в мембраната на първичната ресничка (цилия). Ptch1 функционира като инхибитор на протеина Smoothed (Smo), като го държи извън ресничката или в инактивирано състояние в цитоплазмени везикули. Смята се, че Ptch1 действа като мембранна помпа, която изнася специфични ендогенни стероли (като холестерол), необходими за активирането на Smo. Транскрипционните фактори Gli2 и Gli3 се намират в цитоплазмата, свързани в комплекс със Sufu, който ги държи неактивни. В близост до основата на ресничката (или в нея, регулирано от Kif7), Gli2 и Gli3 се фосфорилират от PKA, GSK3 и CK1. Фосфорилираните Gli3 (и в по-малка степен Gli2) се разпознават от β -TrCP и се подлагат на частично разграждане в протеазомата. Разграждането на Gli3 генерира по-къса форма Gli3 репресор (Gli3R) (аналогично на CiR). Разграждането на Gli2 също може да генерира репресор (Gli2R), но основният репресор е Gli3R. Gli3R влиза в ядрото и потиска транскрипцията на Hh таргетните гени. Пълноразмерните Gli са секвестрирани от Sufu или насочени за пълна деградация. Gli1 генът (който кодира само активатор) не се експресира.

При наличие на Hedgehog лиганд, като Sonic hedgehog (Shh), Indian hedgehog (Ihh) или Desert hedgehog (Dhh), се задейства каскада от реакции. Свързването с лиганда принуждава Ptch1 да напусне ресничката (чрез ендоцитоза/деградация). Това премахва инхибирането върху Smo. В резултат Smoothed се активира и натрупва в мембраната на първичната ресничка. Активираният Smo претърпява конформационни и фосфорилационни промени, които му позволяват да иницира вътреклетъчни сигнални събития. Натрупването на активен Smo в ресничката (по механизми, които все още се изясняват, но включват G-протеини и Kif7) води до дисоциация на комплекса между Sufu и Gli2/Gli3. Gli протеините (главно Gli2 и в по-малка степен Gli3) не се фосфорилират за разграждане. Вместо това те се превръщат в Gli активатори (GliA). Пълноразмерните Gli2 и Gli3 се стабилизират, претърпяват посттранслационни модификации и се превръщат в транскрипционни активатори (Gli2A, Gli3A). Взаимодействието между Gli и Sufu се отслабва, което позволява освобождаване на Gli от инхибиторния комплекс.

Стабилизираните активаторни форми на Gli (GliA) влизат в ядрото, където се свързват със специфични регулаторни елементи в ДНК и активират транскрипцията на Hedgehog-таргетните гени (*Ptch1*, *Gli1*, *Hhip*, *Nkx2.2*, *FoxA2*). Сред тези гени са фактори, които определят клетъчната съдба, контролират пролиферацията и участват в органогенезата.



Фигура 2. Hedgehog сигнализацията при *Drosophila* и гръбначни. (А) В отсъствието на Hh лиганд. (Б) При наличие на Hedgehog лиганд. (адаптирана по Scott F. Gilbert, 2016)

В биологията, регенерацията представлява процес, при който организмите възстановяват или заместват изгубени, увредени или ампутирани части на тялото. Способността за регенерация варира значително между отделните видове. В основата си, регенерацията е сложен процес, интегриращ клетъчно обновяване, тъканно възстановяване и морфогенетичен растеж. Основните механизми на регенерацията се управляват от молекулярни процеси, като главна роля тук играе генната регулация, която управлява клетъчното делене, клетъчната диференциация и морфогенеза. Регенерацията е доказателство за забележителната адаптивност и устойчивост на биологичните системи.

Не всички организми притежават еднаква способност за регенерация, а и самите механизми, чрез които се осъществява този процес, могат да се различават съществено. Възстановяването на изгубени тъкани или органи може да се осъществи по четири основни начина:

1. Регенерация, медирана от стволони клетки. Това е процес, при който специализирани клетки с висок потенциал за самообновяване и диференциация възстановяват изгубени или увредени тъкани и органи. Този механизъм е широко разпространен – от безгръбначни до бозайници, включително и човека. Стволоните клетки служат като постоянен клетъчен резерв, който се активира при физиологична нужда (редовна подмяна на клетки) или в отговор на травма. Активираните стволони клетки започват бързо клетъчно делене, за да увеличат клетъчната маса, необходима за регенерацията. Част от тях остават стволони клетки, докато други се диференцират в необходимите специализирани клетки (например мускулни клетки, нервни клетки, кръвни клетки).

2. Епиморфоза. При този механизъм клетките на ампутираното място преминават през процес на дедиференциране, за да образуват недиференцирана клетъчна маса, известна като бластема. Въпреки че произходът им често е различен, бластемните клетки са морфологично сходни. Впоследствие те се диференцират, за да формират нова структура. Клетките на бластемата обикновено се диференцират в същия или подобен клетъчен тип. Този процес е характерен за регенерацията на крайници при земноводните. Експериментално е установено, че ако бластема от крайник се трансплантира на друго място по тялото на същия индивид, тя ще продължи да се развива като крайник, доказвайки автономността на този механизъм.

3. Морфалаксис. За разлика от епиморфозата, при морфалаксиса не се формира бластема. След ампутация се осъществява ремоделиране на съществуващите тъкани: някои клетки мигрират към мястото на увреждането, други се репозиционират в структурата. Клетките променят експресията на гени и придобиват нови морфологични и функционални характеристики. Градиенти от сигнални молекули (напр. Wnt, BMP, FGF) дефинират оста на регенерация и позиционната идентичност на клетките. Част от клетките умират чрез програмирана клетъчна смърт, освобождавайки място за репозициониране и реконструкция на структурата. Процесът е типичен за някои безгръбначни животни (напр. хидра, медузи), както и за регенерацията при растенията.

4. Компенсаторна регенерация. Този механизъм включва пролиферация на диференцирани клетки, които запазват своите специализирани характеристики. За разлика от другите типове, тук не участват стволони или дедиференцирани клетки. Всяка клетка се дели, за да генерира сходни по функция и структура клетки, без формиране на недиференцирана тъканна маса. Типичен пример е черният дроб при бозайниците, който може да възстанови своята маса и функция след увреждане или отстраняване на част от него, без да се формира бластема.

В някои случаи процесът на регенерация не води до пълно и точно възстановяване на изгубената структура. Вместо напълно идентично копие на оригиналния орган или тъкан, регенерацията може да доведе до непълно възстановяване, морфологично променена структура, или свръхрастеж спрямо първоначалните размери. Пример за непълна регенерация се наблюдава при поповите лъжички, при които след ампутация на опашката новата структура често е по-малка – приблизително половината от оригиналната. При отстраняване на долната челюст на някои видове саламандри (като дъждовника), се формира нова, по-малка и често недоразвита челюст. Тя представлява хрущял модел на оригиналната, което показва, че сигналните пътища за формиране на тъканта са активни, но пътищата, контролиращите растежа и окончателната форма са

нарушени. Същото се наблюдава и при гущерите, които могат да регенерират опашките си – новата опашка е изградена от несегментирана хрущялна тръба. Поради тази морфологична разлика, регенерираната опашка лесно се отличава от първоначалната. При ракообразните в някои случаи процесът на регенерация се обърква, водейки до феномен, наречен хетероморфоза. Хетероморфозата е вид аномална регенерация, при която на мястото на ампутирания орган израства друг, различен по структура и функция орган. Най-известният пример за хетероморфоза при ракообразните е регенерацията на антена на мястото на око. Сред членестоногите са описани случаи, при които след ампутация на антена, от мястото на раната се регенерира крак. Свърхростеж или свърхкомпенсация може да се наблюдава при някои случаи – например при омари, където от основата на отстранен крайник може да се формира крайник с по-голям брой сегменти или аномално развитие на щипките (дактила и пропода).

Регенерацията се подчинява на строги биологични принципи, които гарантират правилното формиране на структурите в пространството и времето. Два от най-важните принципи са установяването на полярност и прецизната регулация на клетъчните процеси. Регенериращата тъкан винаги възстановява само структурите, които са дистално (по-далеч от центъра на тялото) разположени спрямо мястото на ампутация. Тази проксимално-дистална ос е строго спазвана. Единствените известни изключения са при организми с огромен регенеративен капацитет, като сладководните планарии.

Регенерация при хидра (*Hydra vulgaris*)

Тялото на хидрата има ясно изразена орално-аборална ос, като в оралния край се намира главата с хипостома и пипалата, а в аборалния – основа (базален диск или краче), чрез която животното се прикрепя към субстрата. Регенерацията по тази ос се осъществява чрез възстановяване на позиционната информация, която указва на клетките къде се намират и каква структура трябва да изградят. Установяването на полярност и правилното формиране на структури се управлява от химични сигнали, наречени морфогени. Морфогените са вещества, които се разпространяват в тъканта и формират концентрационни градиенти. Клетките „усещат“ локалната концентрация на морфогена и реагират по различен начин в зависимост от нея, което води до диференциация и организиране на тъканите в специфични структури.

Основна роля в организирането на главовия край има т.нар. „главов активатор“ (Head Activator, HA). Той е малък пептид, състоящ се само от 11 аминокиселини (<Glu-Pro-Gly-Gly-Ser-Lys-Val-Ile-Leu-Phe), който се синтезира и секретира предимно в областта на хипостома. Главовият активатор се разпространява в тъканите чрез дифузия и формира градиент с най-висока концентрация в оралния край и постепенно намаляваща концентрация към аборалния. На молекулярно ниво, HA стимулира експресията на гени, отговорни за формирането на главови структури. Действието на главовия активатор е тясно свързано със сигнални пътища, подобни на тези при по-висшите животни, включително Wnt/ β -катениновия път. Когато една хидра бъде обезглавена, Wnt сигналният път се активира в апикалната част, която ще формира нова глава. Механизмът на действие на HA е свързан с индуцирането на клетъчна диференциация и пролиферация на интерстициалните стволови клетки (i-cells) към нервни клетки и книдоцити (копиривни клетки), които са характерни за главовия регион и пипалата. Освен като морфоген, HA действа и като митоген, т.е., стимулира клетъчното делене, което е необходимо за растежа на новата структура.

Паралелно с главовия активатор действа активатора на базалния диск/крачето (Foot Activator, FA). FA се произвежда предимно от клетките в базалния диск (крачето). Оттук той дифундира нагоре по тялото, създавайки концентрационен градиент, противоположен на този на HA – най-висока концентрация в крачето, намаляваща към главата. FA стимулира интерстициалните клетки да се диференцират в жлезисти клетки, характерни за базалния диск, които произвеждат лепкав секрет за прикрепване. Важна функция на FA е да потиска формирането на глава в аборалния край. Ключът към правилната регенерация на Хидра е взаимодействието между градиентите на HA и FA. Високата концентрация на HA на единия полюс и високата концентрация на FA на другия полюс осигуряват ясна информация за позицията по оста глава-краче. Клетките реагират различно над и под определени прагови концентрации на всеки морфоген, което води до ясно разграничаване на зоните (глава, тяло, краче).

Регенерация при планария (*Dugesia dorotocephala*)

Планариите са известни със своите изключителни регенеративни способности, които ги правят основен моделен организъм в изследванията на регенерацията и стволовите клетки. Техният регенеративен капацитет се дължи на наличието на необласти – популация от плурипотентни стволови клетки, които са разпределени в цялото тяло. Процесът на регенерация при планариите се осъществява чрез епиморфоза, при която необластите се активират на мястото на ампутицията, за да образуват бластема. Бластемата се състои основно от две клетъчни популации: външен клетъчен слой или ектодерма, произлизаща от епидермиса, който покрива повърхността на раната след ампутиация и мезенхимни клетки (получени от необласти, които пролиферират и се натрупват под този ранен епидермис, като в крайна сметка се диференцират в изгубените части на тялото). Бластемата се появява около 24 часа след нараняване като тънък, непигментиран и растящ ръб. Въпреки сходната архитектура на бластемата при планарии и гръбначни, механизмът на образуването ѝ се различава: при планариите епителът на раната се формира от промяна във формата на епидермалните клетки (не чрез пролиферация), а мезенхимните клетки произлизат от съществуващи необласти (не чрез дедиференциация както при гръбначните).

При възрастните планарии необластите са единствените клетки, способни на митотично делене. Всички останали клетки в тялото са пост-митотични (спрели да се делят) и се обновяват непрекъснато чрез диференциация на потомството на необластите. Необластите не са концентрирани в определена ниша или орган, а са разпръснати из цялото тяло на червея, предимно в паренхимата (мезенхимната тъкан, запълваща пространството между органите). Липсват само в самия фаринкс и най-предната част на главата. Това позволява регенерация от почти всеки фрагмент. Идентифицират се чрез експресията на специфични гени. Най-известните включват гени от семейството *Piwi* (напр. *smedwi-1*, *smedwi-2*, *smedwi-3* при *Schmidtea mediterranea*), *Vasa* и гени, кодиращи РНК-свързващи протеини като *Bruno-like* (*smn*). Необластите са изключително многобройни, като могат да достигнат до 20–30% от общия брой клетки. Облъчването унищожава почти всички необласти в планарията, тъй като делящите се клетки са по-чувствителни към радиация. Ако обаче оцелее дори само един неопласт, той може сам да възстанови целия организъм, като генерира прогениторни клетки, които се диференцират във всички клетъчни типове. Пълното унищожаване на необластите чрез облъчване предотвратява регенерацията и води до смърт на планарията.

Регенерацията при планариите започва в рамките на минути след нараняване и включва сложна комбинация от механични, биохимични и генетични процеси.

Ампутацията или нараняването причинява директна клетъчна смърт и разрушаване на тъканната цялост на мястото на раната. Увредените и умиращи клетки освобождават вътреклетъчни молекули, които действат като DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns). Нараняването почти моментално води до локално, временно повишаване на нивата на реактивни кислородни радикали (ROS) на мястото на раната. Въпреки че високите нива на ROS са вредни, в този случай те действат като важни сигнални молекули. Епителните клетки по ръба на раната променят формата си (стават по-плоски) и мигрират, за да покрият откритата повърхност. Това създава временен защитен слой в рамките на няколко часа, предпазвайки от инфекции и загуба на течности. Сигналите от увреждането (DAMPs, ROS, механичен стрес) бързо активират експресията на гени за ранен отговор в клетките около раната. Тези гени (като *fos*, *jun*, *egr-1*) кодират транскрипционни фактори, които от своя страна активират други гени, необходими за регенерацията. Освен некротичната смърт, от самото нараняване се индуцира и апоптоза в клетките, намиращи се близо до мястото на разреза. Тази апоптоза има няколко функции: премахване на увредени клетки, които не могат да бъдат спасени; освобождаване на допълнителни сигнали (включително растежни фактори и морфогени), които стимулират необластите; премоделиране на тъканите. Комбинацията от DAMPs, ROS, сигнали от апоптотични клетки, както и фактори, освободени от увредените тъкани и вероятно от нервната система, достигат до необластите (плурипотентните стволови клетки), разпръснати из тялото. Тези сигнали карат необластите, особено тези близо до раната, да излязат от състояние на относителен покой (G0 или бавен клетъчен цикъл) и да започнат активно да се делят (пролиферират). Активираните необласти или техните ранни потомци започват да мигрират целенасочено към мястото на нараняване, привлечени от хемоатрактанти, освободени от раната. Промените в йонните потоци и мембранный потенциал (V_{mem}) на клетките около раната играят първоначална роля в задаването на полярност. Ключови сигнални пътища, използвани по време на ембриогенезата за определяне на осите се реактивират в остатъчните тъкани близо до раната. Активността на Wnt/ β -catenin пътя бързо се модулира, за да се ус-

танови дали ще се формира глава (ниска Wnt активност, чрез експресия на инхибитори като *Notum*) или опашка (висока Wnt активност). Установяването и поддържането на DV (гръбно-ко-ремната) ос по време на регенерация при планариите се регулира от сигналния път на костния морфогенетичен протеин (BMP). Тези пътища създават морфогенни градиенти, които насочват диференциацията на необластите в следващите етапи. В резултат на пролиферацията и миграцията на необластите, на мястото на раната се натрупва маса от недиференцирани или слабо диференцирани клетки. Това е регенерационната бластема.

Регенерация при земноводни

Саламандрите притежават забележителна способност за регенерация на сложни структури (цели крайници, опашка, очни тъкани и значителни части от централната нервна система и сърцето). Един от видовете саламандри, използвани най-често в изследванията, свързани с регенерацията е аксолотът (*Ambystoma mexicanum*).

Възрастните саламандри реконструират напълно функционален крайник, като възстановяват прецизно само липсващите структури. Непосредствено след ампутация, кръвоносните съдове се свиват, за да се намали кръвозагубата. Образува се кръвен съсирек. В рамките на няколко часа, епидермалните клетки от ръба на раната започват да мигрират, за да покрият откритата повърхност. Този процес е бърз и завършва с образуването на многослоен епидермален слой, наречен ранев епител. Раневият епител се удебелява и образува специализирана структура, наречена АЕС (Apical Epithelial Cap). АЕС е абсолютно необходим за регенерацията и функционира като важен сигнален център, подобно на АЕР по време на ембрионалното развитие на крайника. Той секретира растежни фактори (особено FGFs), които стимулират клетките под него. Иmunни клетки, предимно неутрофили и макрофаги се инфилтрират в мястото на увреждане. Макрофагите играят двойна роля: първоначално изчистват клетъчните остатъци и патогени, а по-късно преминават към про-регенеративен фенотип, секретирайки растежни фактори и модулирайки екстрацелуларния матрикс (ECM), за да създадат среда, благоприятна за регенерация, а не за образуване на белег. Диференцираните клетки от остатъка на крайника (т.нар. пън), намиращи се в близост до раната, като фибробласти от съединителната тъкан, миоцити (мускулни клетки), хондроцити (хрущялни клетки) и остеоцити (костни клетки), губят своите специализирани характеристики и се връщат към по-недиференцирано, прогениторно състояние. Те променят морфологията си и експресията на гени. Тези дедиференцирани клетки започват интензивно да се делят под влиянието на сигнали от АЕС и нервите. Акумулиращата се маса от недиференцирани, пролифериращи клетки образува бластема. Клетките в бластемата са морфологично сходни, но запазват известна „памет“ за своя произход (напр. клетки, произлезли от мускул, обикновено отново се диференцират в мускулни клетки). Регенерацията на крайниците при саламандрите е силно зависима от наличието на нерви в пъна. Ако крайникът се денервира преди или малко след ампутацията, регенерацията не настъпва или е силно нарушена, бластемата не се образува или не пролиферира адекватно. Нервите освобождават трофични фактори (като nAG, FGFs, трансферин), които са необходими за оцеляването и пролиферацията на бластемните клетки. Клетките в бластемата трябва да „знаят“ къде се намират и какви структури да образуват. Това се постига чрез реактивация на същите сигнални пътища и гени, които контролират развитието на крайника по време на ембриогенезата. Проксимално-дистална ос (от рамото към пръстите) се регулира от градиенти на ретиноева киселина (RA) и FGFs от АЕС, които насърчават дисталния растеж. Нох гените (*Hoxa* и *Hoxd* клъстери) се експресират в специфични домени по тази ос, задавайки идентичността на сегментите (мишница, предмишница, китка, пръсти). Антериорно-постериорната ос (от палеца към малкия пръст) се контролира от *Sonic Hedgehog* (*Shh*) сигнализация. Дорзо-вентралната ос (от горната към долната страна на крайника) се установява от Wnt7a и BMP сигнализация.

Регенеративната медицина представлява интердисциплинарна област, която има за цел възстановяването на структурата и функцията на увредени тъкани и органи чрез активиране, заместване или подпомагане на естествените регенеративни способности на организма. В основата на регенеративната медицина стои разбирането на механизмите, чрез които тъканите се обновяват и възстановяват по време на нормалното развитие, растеж и след увреждане. При много тъкани на човешкия организъм, регенеративният потенциал е ограничен и увреждането води до фиброза и образуване на белег, което нарушава функцията. Регенеративната медицина се стреми да преодолее това ограничение, като използва стратегии, които насочват клетките към регенерация вместо към образуване на белег.

В съвременната регенеративна медицина могат да се разграничат три основни стратегически подхода. Първият включва въвеждане на клетки чрез инжектиране или трансплантация с цел заместване на увреденият тъкан. Вторият се основава на създаването на биоизкуствени тъкани или органи *in vitro*, които впоследствие се имплантират на мястото на увреждането. Третият подход цели фармакологично стимулиране на регенерацията от собствените тъкани на организма.

Основно място в регенеративната медицина заема използването на клетки като терапевтичен инструмент. Клетъчните терапии се основават на въвеждане на клетки в увреденият тъкан с цел директно заместване на загиналите клетки или индиректно подпомагане на регенерацията чрез секреция на биологично активни фактори. Използват се както диференцирани клетки, така и различни типове стволови клетки, които се характеризират със способност за самоподдържане и диференциация. Особено значение имат мезенхимните стволови клетки, които се изолират от костен мозък, мастна тъкан и други източници и проявяват силно изразени имуномодулиращи и трофични ефекти. В много случаи терапевтичният ефект на клетъчните трансплантации се дължи не толкова на директното включване на донорните клетки в тъканта, колкото на освобождаването на растежни фактори, цитокини и екзозоми, които стимулират регенерацията на собствените клетки на организма.

Тъканното инженерство допълва клетъчната терапия, като комбинира клетки, биоматериали и биологично активни молекули за създаване на функционални тъканни заместители. В този подход, клетките се засяват върху специално проектиран матрикс, който имитира екстрацелуларния матрикс и осигурява механична опора, пространствена организация и подходящи сигнали за диференциация. Използват се както естествени полимери като колаген и хиалуронова киселина, така и синтетични биоразградими материали, които постепенно се разграждат в тялото, докато новообразуваната тъкан укрепва. Тъканното инженерство е постигнало значителни успехи при създаването на кожа, кост, хрущял, съдови конструкции и кухи органи, като пикочния мехур. Успехът зависи от способността да се индуцира ангиогенеза, тъй като без ефективна капилярна мрежа доставката на кислород до вътрешността на новата тъкан е невъзможна.

Регенеративната медицина включва и фармакологични подходи, насочени към стимулиране на регенерацията *in situ*, без въвеждане на външни клетки. Тези стратегии се основават на доставяне на растежни фактори, морфогени, малки молекули или инхибитори на фиброзата директно в зоната на увреждане. Целта е да се създаде регенеративно благоприятна микросреда, която активира ендогенните стволови и прогениторни клетки и насочва възстановителния процес към регенерацията вместо към образуване на белег. Иммунната система играе ключова роля в регенеративните процеси и е неразделна част от регенеративната медицина. Възпалението може да бъде както необходим етап от регенерацията, така и фактор, който я потиска и насочва към хронично увреждане и фиброза. Регенеративната медицина има широко приложение при лечението на дегенеративни заболявания, травми и вродени дефекти. Тя предлага нови възможности за терапия на невродегенеративни заболявания, сърдечно-съдови увреждания, мускулно-скелетни патологии, диабет и редица други състояния, при които традиционната медицина има ограничена ефективност.

ПОМАГАЛО
за подготовка за държавен изпит по биология за студентите
от специалности „Биология“, „Екология и опазване на околната среда“,
„Медицинска биология“, „Микробиология и вирусология“,
„Молекулярна биология“

Българска, първо издание

Предпечатна подготовка: Георги Ташков
Печат и подвързия: Пловдивско университетско издателство

Пловдив, 2026
ISBN 978-619-281-157-0 (web)