

# ІСТОРІЯ БІОХІМІЇ

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТЕЇНІВ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ ТА ЇХ ОБМІНУ В ІНСТИТУТІ БІОХІМІЇ ім. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ (1972–1990 рр.)



*Внимание нейрхимиков и специалистов смежных областей должно быть направлено на интенсификацию поисков специфических белков в нервной ткани и расширение исследований по расшифровке молекулярных механизмов участия как специфических, так и органонеспецифических тканевых соединений в осуществлении функций, свойственных только нервной системе.*

*О. В. Палладін*

**Р**озшифрування біохімічних основ різних фізіологічних функцій кожної клітини, особливо такої високоорганізованої і спеціалізованої як нервова клітина, неможливо без знання складу її протеїнів, їхніх фізико-хімічних і біологічних властивостей та шляхів їх перетворення в процесі функціонування. Оскільки в регуляторних функціях нервової системи, як і в тих, що контролюють свідомість, беруть активну участь протеїнові структури, дослідження метаболічних перетворень протеїнів нервової тканини, інтенсивність їх синтезу і розщеплення є важливим не тільки для нейрохімії, але й має виключне загальнобіологічне значення.

На початку досліджень нервової системи увагу вчених було зосереджено передусім на вивченні вуглеводного і ліпідного обміну, а обмін протеїнів нервової тканини довгий час залишався поза увагою. Це було обумовлено, по-перше, тим, що для вивчення протеїнів ще не існувало адекватних методів, а по-друге, — довгий час вважалося, що протеїни в нервовій системі виконують лише пластичну функцію.

Систематичні дослідження протеїнів мозку, які вперше у світовій науці виявили їхню важливу фізіологічну роль у функціонуванні структур нервової тканини, було розпочато в Україні. Результати піонерських досліджень протеїнів мозку, проведених **О. Я. Данилевським** і його учнями в Харкові наприкінці XIX — на початку XX ст., стали науковою ба-

зою, на якій **О. В. Палладінін** було створена і розвинуто функціональну нейрохімію як науку. Протягом перших років становлення і розвитку нейрохімії в Україні дослідження протеїнового й азотистого складу нервової тканини проводилось в основному в лабораторії біохімії нервової системи Інституту біохімії, якою керував сам О. В. Палладін.

У перші роки існування Інституту біохімії дослідженням азотистих речовин (протеїнів) було присвячено декілька робіт (здебільшого це роботи **О. В. Палладіна**, **Г. Я. Городиської**, **Т. Є. Любарської**, **О. Я. Рашби** та ін.). Вони дослідили розподіл азотистих сполук у різних відділах головного мозку, спинномозкових вузлах, деяких відділах вегетативної нервової системи, а також провідних шляхах периферичної нервової системи людей і різних тварин. Результати цієї експериментальної роботи показали, що філогенетично наймолодші відділи нервової системи тварин є найбагатшими на азотисті речовини (про це детальніше йшлося в нашій раніше опублікованій статті: Укр. біохім. журн. — 2010. — т. 82, №3. — С. 101–109).

У повоєнні часи **О. В. Палладінін** і **Т. А. Горюхіною** (1947 р.) було проведено одне з перших досліджень протеїнів сірої та білої речовини головного мозку. Використовуючи послідовне екстрагування тканини головного мозку водою, 4,5%-им розчином HCl та 0,1 н розчином NaOH, було виділено три протеїнові фракції та нерозчинний за-

лишок як із сірої, так і з білої речовини головного мозку. Протеїни окремих фракцій відрізнялись ізоелектричними точками. За однакових умов і послідовності екстрагування кількість протеїнів у фракціях була постійною, що свідчило про те, що кожна з цих фракцій мала до певної міри «індивідуальні» протеїни. Вміст і склад протеїнів у сірій та білій речовині головного мозку був неоднаковим: у сірій речовині більше розчинних у воді протеїнів, а у білій – більше нерозчинного протеїнового залишку.

Нові можливості для розділення і дослідження протеїнів нервової тканини дав метод електрофорезу, зокрема зонального електрофорезу на папері, який почав широко застосовуватись для дослідження протеїнів сироватки крові. Для розділення і вивчення розчинних протеїнів тканин тваринного організму цим методом їх необхідно було спочатку екстрагувати в умовах, що виключають денатурацію. Крім того, концентрація протеїнів у цих екстрактах мала бути досить значною – не менше 2%.

Оскільки нечисленні на той час спроби застосування методу зонального електрофорезу на папері для вивчення протеїнів різних тканин дали вже обнадійливі результати, старший науковий співробітник відділу біохімії нервової системи **Н. М. Полякова** вирішила провести дослідження розчинних протеїнів різних відділів центральної і периферичної нервової системи, використовуючи цей метод. Вона застосувала різні способи екстракції протеїнів із мозкової тканини з подальшим розділенням їх методом електрофорезу на папері. Після перевірки 10 варіантів буферних систем вона дійшла висновку, що найкращі результати можна одержати, екстрагуючи протеїни фізіологічним розчином NaCl. За цих умов вивільнюється достатня кількість протеїнів, до 17% (**Н. М. Полякова** і **О. П. Готовцева**, 1956 р.).

Перші електрофоретичні дослідження було проведено на розчинних протеїнах цілого головного мозку кролів. Спочатку було підбрано найкращі умови для електрофоретичного поділу протеїнів (метод одержання екстракту, склад буфера, сила струму, тривалість електрофорезу тощо).

У подальшому були досліджені протеїни різних відділів нервової системи, а саме сірої та білої речовини великих півкуль головного мозку, мозочку і спинного мозку котів. Внаслідок цієї експериментальної роботи було виявлено 6–7 основних протеїнових фракцій

в усіх відділах мозку. Різні відділи нервової системи різняться за вмістом цих фракцій, а також наявністю деяких додаткових фракцій в екстрактах протеїнів певних відділів. Характерним для розчинних протеїнів мозкової тканини є те, що вони мають електрофоретичну рухомість, подібну до глобулінів сироватки крові. В той же час протеїнів з електрофоретичною рухомістю, подібною до такої альбумінів сироватки, в мозку котів виявилось надзвичайно мало. Електрофоретичне дослідження розчинних протеїнів інших тканин (наприклад, печінки) також виявило в них незначну кількість альбумінів.

Аналогічні результати було одержано під час електрофоретичного дослідження розчинних протеїнів сірої та білої речовин головного мозку, мозочка, довгастого і спинного мозку великої рогатої худоби.

Значну кількість протеїнів з електрофоретичною рухомістю, властивою альбумінам сироватки крові, було виявлено в периферичному нерві котів, сідничному нерві корови. Тобто периферичні нерви тварин за своїм протеїновим складом значно відрізняються від головного і спинного мозку. А корінці спинного мозку займають проміжне положення між білою речовиною спинного мозку і периферичним нервом: у корінцях також є альбуміни, але їх трохи менше, ніж у периферичному нерві.

Аналогічну різницю у протеїновому складі периферичної і центральної нервової системи **Н. М. Полякова** спостерігала також і в ембріонів різного віку. Автор вважала, що під час ембріонального розвитку і ускладнення функцій різних відділів нервової системи диференціюється і склад протеїнів (1957 р.).

*Таким чином, метод електрофорезу на папері дав можливість виявити окремі фракції розчинних протеїнів, які входять до складу різних відділів нервової системи, і переконливо показати, що функціонально і структурно різні частини нервової системи відрізняються між собою як за кількістю, так і за складом протеїнів.*

Але метод електрофорезу на папері, даючи можливість розділити розчинні протеїни нервової системи на окремі фракції, не дозволяє шляхом порівняння електрофореграм протеїнів мозку з електрофореграмами сироватки крові визначити хімічну природу тієї або іншої протеїнової фракції. Визначивши тільки швидкість руху протеїнів в електричному полі без подальшого встановлення хімічної будови не можна вважати, що певний протеїн дійсно є подібним до альбуміну або до  $\beta$ -глобуліну сироватки крові.

Тому наступним завданням співробітників відділу біохімії нервової системи було дослідити виявлені протеїни та ідентифікувати їх, використовуючи методи електрофорезу не тільки на папері, але й на крохмалі одночасно з іншими методами дослідження хімії протеїнів.

Такий підхід виявився правомірним після порівняння результатів електрофорезу протеїнів із результатами їх фракціонування методом висолювання. Встановлено, що серед протеїнів мозку є такі, що при висолюванні сульфатом амонію є альбумінами, а у разі застосування електрофорезу виявляються глобулінами. Це стосується як протеїнів мозку, так і периферійних нервів (**Н. М. Полякова**, 1957 р.).

*Таким чином, зроблено висновок, що для того, аби з'ясувати хімічні властивості окремих протеїнів нервової тканини, виявлених електрофорезом, необхідно цей метод поєднувати з іншими методами дослідження протеїнів, зокрема такими як висолювання, імунохімічний метод тощо.*

За використання таких підходів у подальшому було встановлено, що периферичні нерви, на відміну від головного мозку, мають у своєму складі значну кількість протеїнів типу «альбумінів» сироватки крові. Для того, аби бути впевненим, що виявлений альбумін належить саме нервовій тканині, перед екстрагуванням нервові волокна ретельно відмивали від крові, клітин кровоносних судин, лімфи і вивільняли від сполучної тканини, які, як відомо, містять альбуміни. Після цих запобіжних процедур електрофореграми протеїнів нервових волокон показали, що на них міститься саме альбумін. Порівнюючи альбуміни нерва і сироватки крові, використовуючи висолювання сульфатом амонію, а також визначення величини електрофоретичної рухомості, виділення препаративним електрофорезом і вивчення їх розчинності, було показано, що альбуміни периферичних нервів і сироватки крові є схожими (**Н. М. Полякова**, 1956). Крім того, в периферичних нервах виявлено протеїни, які під час електрофорезу рухаються в напрямку до катоду (**Н. М. Полякова, К. С. Кабак**, 1958 р.).

Ці результати було одержано під час дослідження м'якушевих нервів, зокрема сідничного нерва (*n. ischiadicus*) котів і корів. Встановлення різниці у складі протеїнів центральної нервової системи і м'якушевого периферичного нерва зумовило необхідність дослідити протеїни безм'якушевих нервів і окремих відділів вегетативної нервової системи. З цією метою, використовуючи метод елек-

трофорезу на папері, було вивчено розчинні протеїни безм'якушевих нервів, а саме нюхального (*n. olfactorius*) та селезінкового (*n. lienalis*) нервів корови. Результати досліджень показали, що і безм'якушеві нерви, подібно до м'якушевих, мають значну кількість альбумінів, чим вони також відрізняються від головного і спинного мозку. Але безм'якушеві нерви відрізняються від м'якушевих відсутністю протеїнів, які рухаються в напрямку до катоду. А в таких відділах нервової системи як пограничний симпатичний стовбур і зірчастий вузол присутні глобуліни і значна кількість альбумінів. *Тобто нерви та нервові волокна відрізняються від тканин головного і спинного мозку наявністю в їхніх протеїнах значної кількості альбуміну, за властивостями подібного до альбуміну сироватки крові* (**О. В. Палладін, Н. М. Полякова**, 1959 р.).

Пізніше виявилось, що метод електрофорезу на папері має свої недоліки, зокрема фільтрувальний папір деякі протеїни, особливо ліпопротеїни, адсорбує, і не дає їм можливості вільно пересуватись в електричному полі. Тому було запропоновано використовувати гель *агар-агару*, у складі якого було 98% буферного розчину, як краще середовище для електрофорезу. Внаслідок електрофорезу розчинних протеїнів головного мозку на агар-агарі було виявлено 16 фракцій. Але і ці електрофоретичні протеїнові фракції не були гомогенними, до складу розчинних протеїнів нервової тканини входить ще значніша кількість індивідуальних протеїнів (**О. В. Палладін, Н. М. Полякова**, 1959 р.).

*Отже, метод електрофорезу на агар-агарі виявився інформативнішим. Його з успіхом почали використовувати у відділі біохімії нервової системи для розділення протеїнів центральної нервової системи і периферичних нервів.*

Паралельно з вивченням вмісту і розподілу різних протеїнових фракцій в окремих структурах нервової системи проводилося і дослідження їх обміну. Так, використовуючи метіонін з радіоізотопом сірки <sup>35</sup>S, **О. В. Палладін і Н. Вертаймер** у 1955 р. провели дослідження оновлення протеїнів центральної нервової системи за різних функціональних станів. Спочатку автори дослідили інтенсивність включення міченого метіоніну в протеїни різних відділів центральної нервової системи котів у нормі. Виявилось, що найбільшу швидкість оновлення виявляють протеїни сірої речовини великих півкуль головного мозку і мозочка, тобто функціонально найскладніші та філогенетично наймолодші



відділи центральної нервової системи, які, як показали попередні дослідження, мають і найбільшу кількість протеїнів. Найменша інтенсивність оновлення протеїнів була у спинному мозку, який є функціонально найменш складним і філогенетично найстарішим, з найменшим вмістом протеїнів. Біла речовина великих півкуль за інтенсивністю оновлення протеїнів наближається до спинного мозку, а довгастий, середній мозок, таламус займають проміжне місце за інтенсивністю оновлення протеїнів.

За *C-авітамінозу* у морських свинок великих змін в оновленні протеїнів головного мозку не спостерігалось. Значніші зміни в обміні протеїнів мозку спостерігались за *E-авітамінозу* в молодих кролів, зокрема інтенсивність оновлення протеїнів значно знижувалась в усіх досліджених відділах центральної нервової системи. Під час *голодування* молодих кролів інтенсивність оновлення протеїнів у передніх долях великих півкуль і мозочку знижувалась, але меншою мірою, ніж за *E-авітамінозу*; у спинному мозку порушення обміну протеїнів під час *голодування* були такі самі, як і за *E-авітамінозу*.

Оновлення протеїнів у периферичному нерві (*сідничний нерв кішки*) з використанням  $^{35}\text{S}$ -метіоніну було вивчено Т. П. Сіліч (1957 р.). Результати її досліджень показали, що інтенсивність включення радіоактивного метіоніну в протеїни сідничного нерва за умови

введення радіоізоотопу за 24 год перед дослідом дуже низька порівняно з інтенсивністю його включення в головний мозок. Окремі фракції протеїнів, одержані екстрагуванням тканини нерва різними розчинниками, значно різняться за рівнем включення в них метіоніну. Найбільшу радіоактивність виявлено у фракції рибонуклеопротеїну, найменшу — в нерозчинних у слабких сольових розчинах і лузі протеїнах. Порівняння інтенсивності оновлення окремих фракцій протеїнів у *периферичному нерві* і в *головному мозку* показало, що розподіл радіоактивності в них подібний, але всі фракції протеїнів периферичного нерва оновлюються значно повільніше відповідних протеїнів головного мозку, як білої, так, особливо, і сірої речовини, що свідчить про різний склад протеїнів нервів і головного мозку (О. В. Палладін, Н. М. Полякова і Т. П. Сіліч, 1957 р.).

У 1958 р. співробітники відділу біохімії нервової системи повернулись до питань дослідження впливу голодування на стан протеїнів головного мозку. Вплив голодування на вміст і обмін протеїнів головного мозку вивчався і раніше. Ще у 1922 р. А. Ленц показав зменшення протеїнових речовин і зміну співвідношення між *нейроглобулінами* і *нейростроміном* у головному мозку людей під час голодування. О. В. Палладін з Д. І. Цуверкаловим та В. Беляєвою (1922, 1924 рр.) встановили, що за голодування *аміногенез* у



О. В. Палладін в лабораторії. Київ, 60-ті роки

сірій речовині головного мозку знижується, а в білій — підвищується; змінюється також співвідношення між азотовмісними і безазотистими речовинами мозку тварин. Щоб перевірити ці суперечливі дані, **О. В. Палладін** і **М. Ф. Гулий** (1935 р.) дослідили вплив голодування на процеси *аміногенезу* і *протеолізу* в головному мозку щурів, голубів і собак (в білій та сірій речовинах головного мозку). Автори виявили великі індивідуальні коливання в результатах під час дослідження мозку нормальних і голодуючих тварин, тому ці досліді не дали можливості зробити певні висновки про вплив голодування на процеси *аміногенезу* і *протеолізу* в мозку щурів і собак. У мозку ж голубів було відмічено підвищення *протеолізу* у разі голодування.

Зважаючи на суперечливі результати досліджень, **О. В. Палладін**, **Н. М. Полякова** і **О. П. Готовцева** (1958 р.) вирішили вивчити вплив голодування на протеїни мозку, використовуючи для цього метод електрофорезу на папері, який дає можливість розділити протеїни на окремі фракції і виявити зміни у співвідношенні або кількості цих фракцій.

Дослідження, проведені на дорослих кролях із використанням методу електрофорезу на папері, показали відсутність відмінностей між водорозчинними протеїнами мозку контрольних тварин і тих, що голодували. В той же час у сироватці крові за голодування збільшується вміст *α-глобулінів* і зменшується — *альбумінів*. Дослідження обміну протеїнів головного мозку за голодування з використанням радіоактивного  $^{35}\text{S}$ -метіоніну показало, що у молодих кролів швидкість включення радіоактивного метіоніну в протеїни головного мозку зменшується, тобто зменшується інтенсивність їхнього оновлення. За голодування дорослих кролів включення радіоактивного метіоніну в протеїни головного мозку майже не змінюється порівняно з контрольними дорослими тваринами.

Отже, автори дійшли висновку, що голодування тварин, швидше за все, не впливає на вміст і швидкість оновлення протеїнів головного мозку (**О. В. Палладін**, **Н. М. Полякова** і **О. П. Готовцева**, 1958 р.).

Було також проведено дослідження включення радіоактивної сірки метіоніну в протеїни мозку щурів залежно від ступеня забезпеченості тварин вітаміном А. Встановлено, що в *A-гіповітамінозних* тварин знижується радіоактивність протеїнів мозку, але ще більше зниження (до 70%) має місце в *A-авітамінозних* тварин. В той самий час змін у радіоактивності

протеїнів мозку за *A-гіпервітамінозного* стану не виявлено. У разі навантаження авітамінозних тварин вітаміном А за 8 год до введення радіоактивного метіоніну спостерігається значне підвищення включення радіоактивної сірки метіоніну в протеїни головного мозку щурів. Було зроблено припущення, що біохімічна функція вітаміну А, можливо, пов'язана з біосинтезом протеїнів у тканинах, зокрема в головному мозку (**А. А. Душейко**, 1960 р.).

У 1960 р. **Н. М. Поляковою** в «Українському біохімічному журналі» (т. XXXII, № 1) було опубліковано велику оглядову роботу «*Білки нервової системи*», в якій вона проаналізувала результати наукових досліджень за період 1959–1960 рр. Автор зауважила, що, незважаючи на досить значну кількість робіт та використання найновіших методів, дослідження протеїнів нервової системи знаходиться фактично на початковому етапі, тим самим мотивуючи необхідність подальших зусиль у цьому напрямі.

Проведені у відділі в цей період дослідження активності *протеїназ* у функціонально різних відділах центральної нервової системи і в різних структурах клітин головного мозку показали, що різні відділи головного мозку великої рогатої худоби і кролів характеризуються неоднаковою протеолітичною активністю. Найвищу активність *протеїназ* у великої рогатої худоби виявлено в сірій речовині півкуль головного мозку і мозочка, потім — у довгастому мозку і далі — в білій речовині великих півкуль і мозочка; найнижчу протеолітичну активність виявлено у спинному мозку. У кролів на першому місці за активністю *протеїназ* — сіра речовина великих півкуль; потім — мозочок (сіра і біла



**О. В. Палладін**, **Н. М. Полякова**. Київ, 1970 р.

речовина разом); більш низьку протеолітичну активність виявлено в білій речовині великих півкуль. *Отже, найвищу протеолітичну активність виявляють найскладніші відділи — сіра речовина великих півкуль головного мозку і мозочок* (Н. М. Полякова, Я. В. Белік і Л. А. Царюк, 1960 р.).

Стосовно структурних елементів клітин головного мозку кролів, одержаних методом диференційного центрифугування, слід відзначити, що вони характеризуються різною питомою протеолітичною активністю: найбільшу активність виявлено у фракції мітохондрій, значно нижчу — у мікросомах, ще нижчу — в ядрах і найнижчу — в розчинній фракції. За сумарним вмістом протеолітичного ензиму в окремих клітинних фракціях, розрахованим у відсотках від активності вихідного гомогенату, клітинні фракції розміщуються наступним чином: фракція мітохондрій → розчинна фракція → ядра → фракція мікросом.

Продовжуючи роботи із фракціонування протеїнів мозку, Н. М. Полякова і В. К. Лішко (1962 р.) поставили перед собою завдання видалити з екстракту мозку ті протеїни, які під час розділення методом електрофорезу на папері заважають чіткому розділенню їх на фракції. З цією метою було проведено дослідження з розділення протеїнів головного мозку великої рогатої худоби, із застосуванням методів фракційного висолування сульфатом амонію в поєднанні з електрофорезом на папері та агар-агарі. Автори дійшли висновку, що розчинні протеїни мозку складаються з великої кількості фракцій, багато з яких добре розчинні у воді і витримують тривалий діаліз проти дистильованої води. Одержані такими методами фракції протеїнів можна використовувати для подальших досліджень.

У такий спосіб Н. М. Полякова і В. К. Лішко (1962 р.) виділили та очистили *протеїназу* головного мозку. Вивчаючи активність протеїнази в різних відділах головного мозку і в різних його внутрішньоклітинних структурах, автори ще у 1960 р. встановили, що найвищу протеолітичну активність виявляють мітохондрії (80% протеїнази локалізовано саме в мітохондріях і тільки 10% — в цитоплазматичній фракції). З'ясувалось, що протеїназу можна легко екстрагувати з мітохондрій водою і що вона витримує діаліз проти води. Протеолітична активність зберігається також після ліофілізації її розчину. Далі було показано, що найкращі результати можна одержати в тому разі, коли як вихідний продукт використовується ацето-

вий порошок мозку, а очистка проводиться фракційним розділенням протеїнів ацетоном з наступною іонообмінною хроматографією на діетиламіноетилцелюлозі (ДЕАЕ). За застосування такого підходу протеїназа головного мозку була очищена в 160 разів.

Продовжуючи дослідження протеїнів головного мозку, було вивчено властивості *протеїнази* мозку, очищеної у 1000 разів порівняно з гомогенатом мозку. Попередньо було зроблено припущення, що цей ензим належить до *катепсинів*. Внаслідок вивчення його властивостей було встановлено, що рН-оптимум цього ензиму для субстрату гемоглобіну дорівнює 3,1, а для альбумінів сироватки крові — 4,1. Ензим був стабільний за рН 5,5–8,5. На його активність не впливають іони таких металів як цинк, ртуть, магній, свинець, кадмій, марганець, кобальт, а також іони амонію, цистеїн, глутатіон, аскорбінова кислота, ЕДТА, *p*-хлормеркурібензоат, соєвий інгібітор трипсину. Було також показано, що він є термолабільним ензимом, а в розчинах сечовини втрачає свою активність. Із трьох досліджених субстратів — денатурований *гемоглобін*, *сироватковий альбумін* та *овальбумін* — найкращим виявився гемоглобін, а найгіршим — овальбумін. Спираючись саме на ці показники, автор дійшов висновку, що виділена протеїназа належить до групи *катепсинів Д* (В. К. Лішко, 1963 р.).

У подальшому було показано, що препарат кислого катепсину, одержаний з головного мозку великої рогатої худоби, містить три протеолітичні фракції. Для розщеплення гемоглобіну рН-оптимум всіх трьох фракцій дорівнює 3,0–3,1. Дві виділені фракції розщеплюють *гемоглобін* і  *$\beta$ -ланцюг інсуліну*, утворюючи однакові гідролізати. Третя протеолітична фракція розщеплює гемоглобін інакше, чим дві попередні, що свідчить про наявність принаймні двох протеїназ катепсинової природи в головному мозку корів. Автор вважає, що виділена *кисла протеїназа* з мозку великої рогатої худоби гомоспецифічна *катепсину Д* (В. К. Лішко, 1964, 1965 рр.).

Підсумки роботи відділу з вивчення протеїнів нервової системи за цей період було узагальнено у великій оглядовій статті О. В. Палладіна «Обмен веществ в головном мозгу при возбуждении и торможении» (Укр. біохім. журн., 1962, т. XXXIV, № 4, С. 621–633), а також у доповідях провідних співробітників відділу (Н. М. Полякової, Я. В. Беліка, Б. Й. Хайкіної, К. О. Гончарової, О. В. Кірсенко, Л. С. Смерчинської) на



III Всесоюзній науковій конференції з біохімії нервової системи в Єревані у квітні 1962 р. З великою доповіддю «Обмін білків в нервовій системі» на цій конференції виступив також академік **О. В. Палладін**. Він, зокрема, відзначив, що за останні 5 років у дослідженні протеїнів нервової системи багато було зроблено, а саме: розроблено методи виділення й очищення окремих протеїнових фракцій та індивідуальних протеїнів—ензимів; досліджено протеїни субклітинних структур мозку, їх оновлення за різних функціональних станів і локалізація в них ензимів.

Надалі ці дослідження у відділі розширювалися і поглиблювалися. Так, **Л. С. Смерчинська** (1963 р.) під час вивчення оновлення протеїнів окремих клітинних структур тканини головного мозку за голодування виявила значне зниження оновлення протеїнів у мітохондріях, трохи менше — у мікросомах і надосадовій фракції, а найменший рівень оновлення протеїнів було встановлено в ядерній фракції. Виходячи з великого вмісту радіоактивної мітки у кислоторозчинній фракції мозку тварин за голодування, автор вважала, що зниження інтенсивності включення  $^{35}\text{S}$ -метіоніну у протеїни клітинних структур обумовлено процесами змін їхнього синтезу всередині клітини.

Було досліджено також вплив *іпразиду*, який застосовують для лікування депресивного стану людей, коли вміст ендogenous серотоніну значно підвищений, на інтенсивність оновлення протеїнів окремих клітинних елементів мозку кролів. Автори виходили з попередніх даних **Л. С. Смерчинської** (1964 р.), яка встановила, що під впливом серотоніну, введеного у велику цистерну мозку тварин у комплексі з креатинсульфатом із розрахунку 500 мкг/кг маси тіла, відбувається зниження інтенсивності включення  $^{35}\text{S}$ -метіоніну як у сумарні протеїни мозку, так і в протеїни ядер, мітохондрій, мікросом і розчинної фракції. Ступінь зниження інтенсивності включення мітки для протеїнів окремих внутрішньоклітинних компонентів мозку виявився приблизно однаковим. *Іпразид*, введений кролям підшкірно в дозі 100 мг/кг маси тіла тварин за 17 год перед введенням  $^{35}\text{S}$ -метіоніну, зумовлює зниження інтенсивності оновлення як сумарних протеїнів, так і протеїнів окремих клітинних фракцій тканин головного мозку. За сумісної дії *іпразиду* та *екзогенного серотоніну* інтенсивність включення радіометіоніну в протеїни знижувалося значно більше. Під впливом *іпразиду* і особливо за

комбінованої його дії з екзогенним *серотоніном* спостерігалось підвищення радіоактивності в кислоторозчинній фракції мозку і сироватці крові (**Л. С. Смерчинська і В. Г. Авдєєв**, 1964 р.).

Того ж року було проведено фракціонування розчинних протеїнів сірої та білої речовини великих півкуль головного мозку великої рогатої худоби висолуванням з екстракту сульфатом амонію за насичення від 0,3 до 1,0 (**О. В. Палладін і С. О. Кудінов**, 1964 р.). Внаслідок цього із сірої речовини одержано вісім фракцій, а з білої — сім. Після розчинення та діалізу ці фракції, а також вихідні екстракти розділено електрофорезом на агар—агарі і доведено, що протеїни сірої та білої речовини великих півкуль головного мозку якісно між собою майже не відрізняються, за винятком відсутності однієї фракції на електрофореграмах серед протеїнів білої речовини. Але було виявлено, що вони відрізняються за кількістю протеїнів в окремих електрофоретичних зонах. *Автори дійшли висновку, що протеїни окремих електрофоретичних фракцій є гетерогенними, до їхнього складу входять протеїни або з однаковою, або близькою електрофоретичною рухливістю.* Правомірність такого висновку засвідчують і дані **Н. М. Полякової і М. К. Малишевої** (1962 р.), які встановили активність *альдолази* і *дезамінази аденозину* в одній і тій самій фракції, а в іншій — активність *протеїнази* та *фосфоглюкомутази*.

Було також виявлено гетерогенність протеїнів мітохондріальних фракцій із тканини головного мозку кролів. Так, методом диференційного центрифугування виділено п'ять мітохондріальних фракцій, які значно відрізняються між собою за седиментаційною здатністю, вмістом і оновленням протеїнів, нуклеїнових кислот, активністю сукцинатдегідрогенази (**Я. В. Бєлік, Я. Т. Терлецька, В. І. Тюленєв**, 1965 р.).

У процесі дослідження оновлення протеїнів, виділених з мітохондріальних фракцій тканини головного мозку кролів встановлено, що склад протеїнів важких та легких мітохондрій за своїми фізико-хімічними властивостями неоднорідний: протеїни кожної фракції по-різному екстрагуються розчинниками і неоднаково висолуються сульфатом амонію. За інтенсивністю оновлення протеїни цих двох фракцій виявилися також неоднорідними: найвища інтенсивність оновлення притаманна розчинним протеїнам. *Дійшли висновку, що неоднакова інтенсивність оновлення субмітохондріальних фракцій протеїнів свідчить про різну функціональну роль*

їх у клітині (Я. В. Белік, Я. Т. Терлецька і В. І. Тюленев, 1966 р.).

Роботи з цього напрямку досліджень у відділі біохімії нервової системи завершилися захистом низки дисертацій. Так, у 1964 р. Я. Т. Терлецька захистила кандидатську дисертацію на тему: «Влияние ингибитора моноаминоксидазы — ипразида — на некоторые стороны азотистого обмена головного мозга животных» (науковий керівник акад. О. В. Палладін), а у 1965 р. захистив кандидатську дисертацію В. К. Лішко «Очистка и изучение свойств катепсина мозга» і М. К. Малишева «Изучение дезаминирования адениловой кислоты в нервной ткани» (науковим керівником у них була д.б.н. Н. М. Полякова). Того самого року захистила кандидатську дисертацію Л. С. Смерчинська на тему: «Влияние серотонина и ипразида на обмен белков центральной нервной системы» (науковий керівник акад. О. В. Палладін).

У 1967 р. до питання про методи виділення ядер з тканини головного мозку повернулись В. Г. Авдєєв і О. В. Палладін. Ними було обгрунтовано можливість виділення порівняно чистих ядер з головного мозку котів одноразовим центрифугуванням 25%-их гомогенатів у середовищах з густиною 1,273.

Згодом з ядер головного мозку котів виділено дезоксирибонуклеопротейнову фракцію (ДНП), фракцію неочищених ядерних

рибосом, розчинну ядерну фракцію, фракцію кислого і залишкового протеїну. ДНП було розділено на гістони і фракцію «ДНП + негістоновий протеїн» (В. Г. Авдєєв і Я. В. Белік, 1967 р.). Встановлено, що радіоактивний лізин у дослідах *in vivo* найактивніше включається в негістонові протеїни ДНП. Найменшу інтенсивність оновлення виявлено у фракції залишкових протеїнів (протеїни ядерної оболонки) і гістонах. При введенні котам  $^{14}\text{C}$  гліцину найбільшу радіоактивність виявлено у кислому протеїні та рибонуклеопротейні, найменшу — у залишковому протеїні і гістонах (В. Г. Авдєєв, 1968 р.).

У 1968 р. В. Г. Авдєєв захистив кандидатську дисертацію «Выделение ядер головного мозга, изучение их состава и интенсивности обновления белков» (наукові керівники акад. О. В. Палладін, ст.н.співр. Я. В. Белік).

Іншу серію досліджень було присвячено виділенню основного протеїну головного мозку, встановленню структури та вивченню фізико-хімічних властивостей. Методами висолювання сульфатом амонію, хроматографії на ДЕАЕ—целюлозі та сефадексі Г-100 з великих півкуль головного мозку корів одержано й очищено протеїн 15-ї електрофоретичної фракції. Гомогенність очищеного протеїну було доведено методами диск-електрофорезу в ПААГ, електрофорезу на агар-агарі та ультрацентри-



В. А. Кокунін, С. О. Кудінов, В. К. Лішко. Київ, 80-ті роки



фугуванням. Визначено амінокислотний склад цього протеїну. Велика кількість лізину у складі протеїну та його переміщення до катоду при диск-електрофорезі свідчили про *основний (лужний)* характер цього протеїну. Було встановлено його фізико-хімічні характеристики: ізоелектрична точка в межах рН від 9,0 до 9,4; молекулярна маса – 31 500 Да; показано, що ця фракція протеїну є мікрогетерогенною: він розділяється на сім електрофоретичних зон і має сім N-кінцевих амінокислот (С. О. Кудінов, Н. М. Полякова та ін., 1966, 1967 рр.).

Результати цієї експериментальної роботи узагальнено в кандидатській дисертації С. О. Кудінова (1967 р.) «Исследование основного белка головного мозга» (наукові керівники акад. О. В. Палладін, докт. біол. наук Н. М. Полякова).

У тому самому році в усіх субклітинних та субмітохондріальних фракціях головного мозку кролів було виявлено активність *кислої протеїнази*. Встановлено, що вона розподілена між фракціями нерівномірно. З п'яти мітохондріальних фракцій більш важкі структури виявляють близько 2/3 від загальної активності ензиму в гомогенаті. У мікросомах питома активність кислої протеїнази виявилася також досить високою. І якщо розчинна цитоплазматична фракція містить цей ензим, то найскоріше він перейшов у розчинну форму зі зруйнованих внутрішньоклітинних структур. *Результати цих досліджень свідчать про те, що кисла протеїназа досить міцно зв'язана із внутрішньоклітинними структурами, і це є досить важливим для розуміння її ролі у катаболізмі протеїнів* (Я. В. Белік і В. І. Тюленев, 1967 р.).

Протеолітичну активність у різних відділах нервової системи та субклітинних фракціях головного мозку кролів досліджували Я. В. Белік, Л. С. Смерчинська, Я. Т. Терлецька, О. Г. Гриненко (1968 р.). Вони встановили, що активність протеїнази, визначеної за рН 7,2 з використанням субстрату *протаміну*, в різних відділах нервової системи неоднакова: найвища – в білій речовині півкуль головного мозку, найнижча – в сірій, а в інших відділах (проміжний, середній мозок, вароліїв міст, довгастий мозок, мозочок, спинний мозок) вона має проміжне значення. Протеолітичну активність виявлено в усіх субклітинних фракціях головного мозку (*ядрах, мітохондріях, мікросомах, розчинній фракції*). Вона підвищується з віком тварин, найвищу активність виявлено у тварин, які тільки починають прозрівати.

Було проведено також електрофоретичне дослідження протеїнів, екстрагованих

із субклітинних структур головного мозку тритоном X-100. Виявилось, що протеїни, екстраговані 0,1%-им розчином неіонного детергенту тритон X-100 із фракцій мієліну, нервових закінчень і мітохондрій головного мозку котів, під час електрофорезу в агаровому гелі розділяються на 15 зон аналогічних тим, що виявлено у водорозчинних протеїнах мозку. П'ять із них розташовано на анодному кінці фореграм, а 10 – на катодному. У водорозчинних протеїнах мозку і в тритоновому екстракті фракції нервових закінчень на анодному кінці електрофореграм виявлено ще дві додаткові зони. *Автори вважали, що протеїни в основному локалізовані в клітинних органідах мозку, з яких переходять у гіалоплазму* (Я. В. Белік, Л. С. Смерчинська, О. П. Гловацька (Козуліна), 1969 р.).

Для висвітлення біологічної ролі розчинних цитоплазматичних і ядерних *основних* протеїнів головного мозку було досліджено вплив одного з них (15-ї електрофоретичної зони) на активність деяких ензимів. Показано, що цей *основний* протеїн активує залежну від  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  АТФ-азу і гальмує активність  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази, дезамінази аденілової кислоти і ГТФ-ази (С. О. Кудінов, Н. М. Полякова, Н. К. Крица, 1969 р.).

Визнаючи важливу роль протеїнів у функціонуванні головного мозку, в 70-ті роки у відділі біохімії нервової системи продовжували роботи з виявлення специфічних протеїнів, вивчення їх структури, обміну в тому або іншому функціональному стані, а також тієї специфічної ролі, яку вони відіграють у функціонуванні різних відділів центральної й периферичної нервової системи. Зокрема, з білої речовини головного мозку великої рогатої худоби було виділено фракцію *очищеного мієліну* з мол. масою 17 000 кДа. Амінокислотний аналіз цього протеїну свідчив про наявність великої кількості *основних* (лужних) амінокислот: їхній вміст вдвічі перевищував вміст дикарбонових амінокислот. За амінокислотним складом виділений протеїн був майже ідентичним *енцефалітогенному протеїну*, виділеному іншими авторами (О. В. Палладін, Я. Т. Терлецька, О. П. Козуліна, 1970 р.).

Було також досліджено специфічні для нервової тканини *кислі* протеїни. Одним з них був протеїн S-100, особливістю якого є те, що він залишається у розчинному стані при 100%-му насиченні сульфатом амонію. Було розроблено метод виділення й очистки цього протеїну, визначено його амінокислотний склад. В ньому виявлено велику кількість



*В лабораторії О. П. Козуліна, К. О. Гончарова, Я. Т. Терлецька. Київ, 1970 р.*

амінокислот — глутамінової та аспарагінової (О. В. Палладін, Л. С. Смерчинська, 1971 р.). Вперше цей протеїн був виділений Б. В. Муром та Д. Мак-Грегори у 1965 р. і став предметом декількох доповідей на II з'їзді Міжнародної біохімічної спілки в Мілані (1969 р.).

Було також досліджено деякі кислі протеїни головного мозку великої рогатої худоби, котів і кролів, зокрема, протеїни трьох електрофоретичних зон (1а, 1б, 1в), які в агаровому гелі рухаються з максимальною швидкістю до аноду і випадають в осад у разі насичення сульфатом амонію 0,6–1,0. Виявлено відмінність у вмісті протеїнів цих зон у різних відділах нервової системи та в цілому головному мозку деяких видів ссавців. Із водного екстракту півкуль головного мозку корів виділено в чистому стані найрухливіший з досліджених протеїнів (зона 1в), у складі якого виявлено РНК. Показана мікрогетерогенність протеїнових зон 1а та 1б, а також низька швидкість оновлення протеїнів досліджуваних електрофоретичних зон (Л. С. Смерчинська, Я. В. Белік, Г. А. Бережний, 1972 р.).

У 1970 р. Я. В. Белік опублікував оглядову статтю «Гематоенцефалический барьер и транспорт аминокислот через мембраны» (УБЖ, т. 42, № 3), в якій було узагальнено експериментальні дані різних авторів стосов-



*Я. В. Белік. Київ, 1970 р.*



но можливих механізмів транспортування вільних амінокислот крізь мембранні структури тканини головного мозку; того самого року він захистив докторську дисертацію на тему: «*Белки субклеточных структур ткани головного мозга и интенсивность их обновления на разных стадиях постнатального развития*» (науковий консультант — акад. **О. В. Палладін**).

У 1971 р. **О. В. Палладін** у статті «*Основы биохимии памяти*» (УБЖ, 1971, т. 43, № 5) узагальнив відомий на той час науковий матеріал. Цю статтю він завершив твердженням, що дослідження останніх років відкрили перед біохімією пам'яті блискавичні перспективи.

Тому дослідження з вибраного напряму вивчення біохімії нервової системи у відділі продовжувалися. Зокрема, вивчалася активність протеолітичних ензимів і кислоти фосфатази в нервовій клітині на різних стадіях розвитку алергічного *енцефаломієліту*. Було показано, що вірогідне підвищення активності кислоти протеїнази в головному мозку морських свинок спостерігалось лише на 18-у добу після підшкірного введення *основного (лужного) енцефалітогенного протеїну*, який раніше було виділено з очищеного мієліну великої рогатої худоби. Активність *нейтральної протеїнази* головного мозку в процесі розвитку захворювання не змінювалась, а *кислоти фосфатази* в білій речовині головного мозку підвищувалась лише на 7-у добу. У спинному мозку це підвищення спостерігалось на 7-, 14- і 18-у добу. Виходячи з результатів проведених досліджень і даних літератури, автори дійшли висновку, що зміни активності цих ензимів за алергічного *енцефаломієліту* спостерігаються лише в період морфологічних змін при ураженні центральної нервової системи (**О. П. Козуліна, Я. Т. Терлецька, Л. П. Сироватська**, 1972 р.).

Під час дослідження активності *пептид-гідролази* субклітинних і суборганіодних фракцій головного мозку кролів було показано, що очищені препарати ядер і мієліну характеризувалися незначною активністю *пептид-гідролазної системи*. Близько 70% кислоти (рН 3,5, субстрат *гемоглобін*) і 45% нейтральної (рН 7,2, субстрат *протамін*) *пептид-гідролази* локалізовано у фракції внутрішніх мембран мітохондрій. У препараті рибосом мозку, вільного від мембран ендоплазматичного ретикулула, активність *пептид-гідролаз* не було виявлено (**О. В. Палладін, О. Г. Гриненко, Я. В. Белік**, 1972 р.).

У 1972 р. **О. Г. Гриненко** захистив кандидатську дисертацію «*Пептид-гидролазная активность морфологически и функционально*

*разных структур мозга*» (науковий керівник — д. б. н. **Я. В. Белік**).

Результати досліджень з обміну протеїнів у різних відділах центральної нервової системи за різних функціональних станів організму тварин було узагальнено у фундаментальній монографії «*Белки головного мозга и их обмен*» (**О. В. Палладін, Я. В. Белік і Н. М. Полякова**, 1972, К.: Наукова думка, 315 с.). У ній проаналізовано дані літератури та результати власних досліджень авторів, які проводилися у відділі біохімії нервової системи Інституту біохімії АН УРСР впродовж двадцяти років. Було висвітлено роль гематоенцефалічного бар'єру в мембранному транспортуванні амінокислот і формуванні амінокислотних фондів у тканинних структурах мозку. Коротко розглянуто головні етапи і напрями досліджень протеїнового обміну в центральній та периферичній нервовій системі, а також описано найважливіші морфологічні, функціональні та біохімічні особливості нервової тканини, які визначають в ній специфіку обміну речовин. У першу чергу досить детально обговорено результати досліджень авторів монографії з функціональної біохімії клітинних структур нервової тканини, тобто напряму, в якому авторам цієї книги належить одне з головних місць.

Основну думку авторів цієї монографії можна сформулювати таким чином: *результати численних досліджень вчених всього світу свідчать про те, що протеїни мозку є основою всіх його складних функцій, вони беруть участь в усіх проявах психічної діяльності головного мозку (а також за його дисфункцій) і що обмін протеїнів тісно пов'язаний з різними сторонами поведінки — інстинктом, навчанням, пам'яттю тощо. Все це дає підстави сподіватись, що пізнання функцій нервової тканини може стати основою для розробки шляхів нормалізації порушень розумової діяльності мозку.*

Із впевненістю можна сказати, що ця монографія присвячена одному із найважливіших розділів нейрохімії — нейрохімії протеїнів головного мозку.

Академік Олександр Володимирович Палладін від дня створення Інституту біохімії і до кінця свого життя (6.12.1972 р.) був незмінним керівником досліджень з біохімії нервової системи. В останні роки роботи **О. В. Палладін** зі своїми учнями зосередив зусилля на вивченні протеїнових речовин нервової тканини та найскладніших, а разом із тим і найважливіших, утворень нервових клітин — *мембран*.



Із 1973 до 1982 р. відділом біохімії нервової системи керував доктор біологічних наук, професор **Яков Васильович Белік**. У цей період було продовжено дослідження **нейроспецифічних протеїнів** нервової тканини. З розвитком цього нового перспективного напрямку функціональної нейрохімії, початок якого припадає на 1965 р., коли було відкрито перший нейроспецифічний протеїн S-100, поставали і вирішувалися і нові завдання, пов'язані з вивченням структури й обміну інших *нейроспецифічних протеїнів*, визначенням регіонального розподілення та мікроструктурної локалізації, пізнанням їхньої ролі у функціонуванні різних відділів центральної й периферичної нервової системи.

Так, у 1973 р. **О. П. Козуліна (Гловацька)** підсумувала результати попередніх досліджень і захистила кандидатську дисертацію «*Энцефалитогенный белок миелина головного мозга. Активность некоторых гидролаз при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите*» (науковий керівник — д. б. н. **Я. В. Белік**).

Продовжуючи попередні дослідження, **Я. В. Белік** і **О. Г. Гриненко** (1973 р.) поставили за мету з'ясувати, чи не пов'язана вища активність *пептид-гідролази* в білій речовині великих

півкуль головного мозку кроля, порівняно із сірою, з певними мікроструктурами клітини. Результати роботи показали, що субклітинні фракції (*мітохондрії, мікосоми, мієлін і розчинні цитоплазматичні протеїни*) білої речовини великих півкуль головного мозку кроля характеризуються вищою активністю *нейтральної пептид-гідролази* порівняно з відповідними внутрішньоклітинними структурами кори мозку. Найвищу питому активність ензиму виявлено в мікосомній фракції білої речовини мозку. Фракція нервових закінчень, яку було виділено із сірої речовини великих півкуль головного мозку, не містила *нейтральної пептид-гідролази*. Виявилось, що ензими білої та сірої речовини головного мозку мають різні рН-оптимиуми.

У подальшому з водорозчинних протеїнів великих півкуль головного мозку бика фракціонуванням сульфатом амонію, хроматографією на ДЕАЕ — целюлозі та сефадексі Г-100 було виділено фракцію, яка під час електрофорезу в 7,5%-у поліакриламідному гелі була представлена однією зоною, що мігрує разом із фронтом барвника (*кислі протеїни*). У 15%-му поліакриламідному гелі вона розділяється на 6 або 7 компонентів. Моле-



Колектив відділу біохімії нервової системи. 1-й ряд (зліва направо): Я. Т. Терлецька, К. О. Гончарова, Н. М. Полякова, Я. В. Белік, В. Й. Кочерга, С. О. Кудінов. Київ, 70-ті роки

кулярна маса протеїнів цієї фракції дорівнює 25 000–30 000 Да (Л. С. Смерчинська, Г. А. Бережний, О. Г. Гриненко, Я. В. Белік, 1974 р.).

Досліджуючи антигенний склад *кислих протеїнів* головного мозку виявлено чотири органоспецифічних антигени (А, Б, В, Г). Антиген А складається із двох фракцій з електрофоретичною рухливістю преальбумінів і  $\alpha_2$ -глобулінів сироватки крові. Інші антигени розміщуються в ділянці альбумінів або преальбумінів (Б),  $\alpha_2$ -глобулінів (В) та  $\beta_1$ -глобулінів (Г) сироватки крові. Антигени А і Б мають спільну імунологічну детермінанту для бика і кроля, а антигени В і Г виявлено лише в мозку бика (Г. А. Бережний, В. О. Горбань, Я. В. Белік, 1974 р.).

Ці дані було представлено Г. А. Бережним в кандидатській дисертації «Фракционный состав и свойства водорастворимых кислых белков головного мозга», яку він захистив у 1974 р. (наукові керівники – д. б. н. Я. В. Белік, к. б. н. В. О. Горбань).

У подальшому досліджувався антигенний склад фракції преальбумінів водорозчинних протеїнів великих півкуль головного мозку бика. *Преальбуміни* було одержано методом препаративного електрофорезу в агаровому гелі протеїнів, які висолуються із водного екстракту мозку сульфатом амонію в межах 60–100% насичення. За допомогою антисироваток, одержаних з курей, імунізованих фракцією виділених преальбумінів, серед компонентів цієї фракції методом імуноелектрофорезу виявлено лише один органоспецифічний і видонеспецифічний антиген, який названо *антигеном Д*. Останній знайдено у водорозчинних протеїнах великих півкуль головного мозку та зорового нерва бика. Імунологічно ідентичний з ним антиген виявлено у водному екстракті головного мозку кроля й щура і не знайдено в мозку курей. За своїми електрофоретичними властивостями *антиген Д* є *преальбуміном* (Г. А. Бережний, Я. В. Белік, В. О. Горбань, 1975 р.).

З великих півкуль мозку бика виділено специфічний для нервової системи протеїн S-100 та одержано моноспецифічну антисироватку до нього. При імуноелектрофоретичному дослідженні вихідного екстракту мозку з антисироваткою виявлено спарену лінію преципітації, яка складається із двох дуг у зоні *преальбумінів* та  $\alpha_2$ -*глобулінів* сироватки, а в дослідах з очищеною фракцією протеїну – лише одну дугу, яка відповідає *преальбуміновому* компоненту. Очищена фракція протеїну S-100 в агаровому гелі розділяється на низ-

ку преальбумінових електрофоретичних зон із переважною локалізацією в найрухливішій зоні. Встановлено, що гетерогенність цього протеїну обумовлена наявністю в системі іонів Са. У присутності 1 мМ ЕДТО очищений протеїн S-100 мігрує з максимальною швидкістю до аноду однією або двома близько розташованими *преальбуміновими* зонами. За допомогою одержаної моноспецифічної антисироватки встановлено, що виявлений раніше із використанням гетерогенних антисироваток двофракційний *антиген А* є протеїном S-100 (Г. А. Бережний, В. О. Горбань, Я. В. Белік, 1974 р.; Л. С. Смерчинська, Я. В. Белік, Л. П. Сироватська, Т. М. Бірилло, 1976 р.).

Одночасно було показано, що в структурах *зорового аналізатора* собаки (*зоровій зоні*, *передньому двогорбиковому тілі*, *зовнішньому колінчастому тілі* та *сітківці* вміст  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК) змінюється в процесі постнатального розвитку найінтенсивніше протягом перших трьох тижнів життя. В усіх досліджених структурах *зорового аналізатора* вміст ГАМК значно збільшується в період прозрівання тварин і у віці шести місяців. Різні структури *зорового аналізатора* істотно відрізняються між собою за вмістом ГАМК (Т. М. Агаєв, Я. В. Белік, 1974 р.).

Пізніше Т. М. Агаєв, Я. В. Белік (1977 р.) дослідили вміст вільної *глутамінової (ГК)*, *аспарагінової (АК)* і  $\gamma$ -аміномасляної (ГАМК) кислот у структурах *зорового аналізатора* кори (17 зорових зон), *підкоркових утворень* (в передньому двогорбиковому тілі і зовнішньому колінчастому тілі) головного мозку і *сітківці* собак у віці 1, 3 і 5 років. У тварин усіх вікових груп виявлено істотні регіональні відмінності вмісту досліджених кислот; суттєвішими вони виявилися у тварин віком 1 рік; у кожній структурі їхній вміст у тварин одного року можна розмістити в такому порядку: – ГК > АК > ГАМК, у тварин трьох і п'яти років – ГК > ГАМК > АК.

В цей самий період у відділі було проведено дослідження ефективності лікування *експериментального алергічного енцефаломієліту* (ЕАЕ) в морських свинок *основним протеїном* мієліну і *синтетичним енцефалітогенним нонапептидом*, синтезованим в Інституті молекулярної біології і генетики АН УРСР. Одержані дані показали високу ефективність (85%) лікування ЕАЕ *основним протеїном* за сенсibilізації тварин цим самим протеїном. Значніший лікувальний ефект (100%) *основного протеїну* виявлено у тварин, сенсibilізованих



пептидом. Незначну лікувальну дію (25%) має пептид у тварин, захворювання в яких спричинювали *основним протеїном*. Проте, під час лікування захворювання, зумовленого пептидом, його лікувальний ефект був значно вищим (70%). Під час лікування ЕАЕ антигеном, напевне, відбувається десенсибілізація специфічних лімфоцитів, або лімфоцити тварин — донорів після четвертої лікувальної ін'єкції втрачають здатність переносити ЕАЕ тваринам — реципієнтам (Я. Т. Терлецька, Я. В. Белік, О. П. Козуліна, Л. П. Сироватська, О. А. Гершкович, В. К. Кібіреєв, С. Б. Серебряний, 1976 р.).

У 1978 р. було опубліковано велику оглядову статтю Я. Т. Терлецької, Я. В. Беліка, О. П. Козуліної «Основной белок миелина. Химические и иммунологические свойства» (В кн. «Молекулярная біологія», в. 2, К.: Наукова думка), в якій було підсумовано одержаний у відділі експериментальний матеріал та доробку закордонних авторів з цього питання.

У 1979 р. зі спинного мозку і корінців спинного мозку бика було виділено *основний протеїн (spinal cord protein, SCP)*, відомий як *антиенцефалітогенний*. Протеїн очищено до молекулярного гомогенного стану; мол. маса його — 13 500 Да. Досліджено деякі його фізико-хімічні властивості та визначено амінокислотний склад. Автори передбачили

третинну будову цього протеїну (Я. Т. Терлецька, Л. П. Сироватська, О. П. Козуліна, Д. Д. Протвін, 1979 р.).

В дослідах на морських свинках була показана можливість цього *основного протеїну мозку (SCP)* запобігати розвитку експериментального алергічного енцефаломієліту і доведено, що цей протеїн не є антиенцефалітогенним. Із використанням імунної сироватки до цього протеїну досліджено розподіл його в різних відділах центральної та периферичної нервової системи бика. Найбільший його вміст виявлено у периферійній нервовій системі (в корінцях спинного мозку, сідничному нерві, нервах плечового сплетіння, блукаючому і зоровому нерві) та у тих відділах нервової системи, які багаті на нервові волокна (спинному та довгастому мозку, варолієвому мосту), але вміст протеїну в мозолястому тілі та в білій речовині головного мозку був незначним. Показано наявність досліджуваного протеїну в мієліновій оболонці периферичної нервової системи та імунологічна ідентичність його з *основним білком мієліну (P-2)* (Л. П. Сироватська, О. П. Козуліна, Я. Т. Терлецька, 1979 р.).

Виходячи з одержаних даних, дійшли висновку, що *протеїн P-2* не є інтегральним протеїном мієліну. Мієлін має здатність в умовах неіонного середовища зв'язувати цей протеїн. Але він легко виходить із мієліну у



Я. В. Белік. III Український біохімічний з'їзд. Донецьк, 1977 р.



разі підвищення іонної сили розчину. Автори запропонували метод виділення *протеїну Р-2* з мієліну 0,15М розчином NaCl з наступною очисткою гелю-фільтрацією на сефадексі Г-50. *Протеїн Р-2* виявився ідентичним з нейроспецифічним протеїном SCP, що було підтверджено під час вивчення нейроноспецифічного протеїну SCP в нервовій системі методом радіальної імунодифузії (Л. П. Сироватська, Л. С. Смерчинська, О. П. Козуліна, Я. Т. Терлецька, Я. В. Белік, 1980 р.). Електрофізіологічними дослідженнями було виявлено вплив нейроспецифічного протеїну Р-2 (протеїну SCP) на нервово-м'язову синаптичну передачу (Л. В. Байдан, М. Ф. Шуба, Я. Т. Терлецька, Л. П. Сироватська, 1980 р.).

Методами імунохімії та системного аналізу досліджено розподіл *нейроспецифічного протеїну S-100* у корі великих півкуль, гіпокампі та мозочку експериментальних тварин у процесі навчання і пам'яті і встановлено, що синтез *протеїну S-100* є відповіддю на фізіологічне навантаження нервових клітин специфічних структур мозку, які беруть участь у формуванні нової навички, і не має сигнального значення (Н. Г. Алексидзе, Г. А. Бережний, В. О. Нікурадзе, Я. В. Белік, 1982 р.).

У 1981 р. Л. П. Сироватська захистила кандидатську дисертацію «*Нейроспецифический белок SCP: физико-химические и иммунологические свойства, особенности распределения в нервной системе*» (науковий керівник — д. б. н., проф. Я. В. Белік).

Аналіз і оцінка основних результатів за 60 років дослідження (1922–1982 рр.) протеїнів нервової тканини та їх обміну були представлені Я. В. Беліком у статті «*Успехи украинских ученых в исследовании белков нервной системы*» (УБЖ, т. 54, № 6, 1982 р.). Особливу увагу в ній зосереджено на результатах та перспективах вивчення фізико-хімічних властивостей та біологічної ролі таких нейроспецифічних протеїнів, як *S-100*, *нейроспецифічний протеїн мієліну*, *антиген Д* і *протеїн Р-2*.

Великою допомогою дослідникам у галузі нейрохімії при пошуку наукової інформації стали два томи бібліографічного покажчика, складені д. б. н. Я. В. Беліком: книга перша (1979 р.) — бібліографічний покажчик з нейрохімії за 1953–1962 рр., книга друга (1981 р.) — за 1963–1967 рр. Рецензенти цієї роботи В. І. Розенгарт і І. А. Ситинський підкреслили, що «*необходимо поблагодарить профессора Я. В. Белика за его нелегкий труд, который будет высоко оценен всеми специалистами, работающими в области нейрохимии* —

*биохимиками, физиологами, фармакологами, морфологами, биологами, медиками, а также библиотечными работниками. Следует пожелать автору продолжить его ценную и нужную работу по выпуску в свет новых библиографических указателей по нейрохимии, охватывающих последующие периоды времени*».

У подальшому у відділі біохімії нервової системи із тканини головного мозку бика було виділено нейроспецифічний протеїн *антиген Д*, який виявився гомогенним в умовах диск-електрофорезу в ПААГ. Його маса, визначена методом електрофорезу в ПААГ з додецилсульфатом натрію, дорівнює 53 кДа. Чистий препарат *антигену Д* має активність *енолази* та за електрофоретичною характеристикою відповідає *ізоензиму γ-типу* енолази. Ґрунтуючись на електрофоретичних, імунологічних і ензиматичних властивостях *антигену Д* та *нейроспецифічних антигенів*, відомих в літературі під назвою **14-3-2**, зроблено висновок про їх ідентичність. Пронаявність у нервовій тканині *ізоензимів енолази*, в основному субодиниць *γ-типу*, на той час ще не було відомо. Локалізація цього протеїну в пост- і пресинаптичній мембрані свідчить про його важливу роль у функціонуванні синапсу (Г. А. Бережний, 1984 р.).

Методом імунодифузії виявлено наявність *нейроспецифічного протеїну S-100* у фракціях, що утворюються за диференційної екстракції ізольованих клітинних ядер мозочку бика, зокрема в ядерному соку та *ядерній мембрані*. *Протеїн S-100* не знайдено у вихідному препараті хроматину та його фракціях, які отримано методом хроматографії на гідроксіапатиті, з чого зроблено припущення, що *протеїн S-100* не бере безпосередню участь у регуляції генетичної активності клітини на рівні трансляції. Найімовірніше він впливає на процеси фосфорилування протеїнів ядра і, можливо, на деякі інші процеси, що надає йому здатності опосередковано змінювати експресію геному, а також брати участь у посттранскрипційній регуляції на етапах процесингу і транспорту РНК (О. О. Капралов, Л. С. Смерчинська, Я. В. Белік, В. І. Тюленев, 1983 р.).

Дослідження впливу кислого *нейроспецифічного протеїну S-100* на фосфорилування протеїнів мозку щурів у присутності АТР показало, що саме цей *протеїн* прискорює процес фосфорилування ядерних протеїнів мозку, в той час як *антиген Д* — інший кислий нейроспецифічний протеїн — гальмує цей процес (В. І. Тюленев, О. О. Капралов, Л. С. Смерчинська, Я. В. Белік, 1983 р.). Встановлено, що

$\text{Ca}^{2+}$  і сАМР не впливають на фосфорилування ядерних протеїнів мозку. Протеїн S-100 підвищує фосфорилування ядерних протеїнів з високою молекулярною масою, але за насичених концентрацій АТР не впливає на фосфорилування гістонів і негістонових протеїнів. За низьких концентрацій АТР в інкубаційному середовищі додавання протеїну S-100 підвищує фосфорилування високомолекулярних ядерних протеїнів і знижує фосфорилування гістонів, що може свідчити про конкурентну взаємодію цих протеїнів за нестачі АТР.

У подальшому в досліджах *in vitro* було показано, що  $\text{Ca}^{2+}$  знижує стимулювальну дію нейроспецифічного протеїну S-100 на фосфорилування ядерних протеїнів мозку шурів. Преінкубація протеїну S-100 з  $\text{Ca}^{2+}$  протягом 4 і 18 год значно підвищує його стимулювальну дію на процес фосфорилування. Автори вважають, що дія протеїну S-100 на фосфорилування обумовлена не зміною концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ , а його взаємодією з цим протеїном. Встановлено, що для стимулювальної дії протеїну S-100 на процес фосфорилування необхідна певна концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  (О. В. Капралов, Д. І. Балков, В. І. Тюленев, Я. В. Белік, 1985 р.).

У 1985 р. О. О. Капралов захистив кандидатську дисертацію на тему: «Влияние белка S-100 на фосфорилирование ядерных белков мозга и его связь с процессами регуляции на посттранскрипционном уровне» (науковий керівник — д. б. н., проф. Я. В. Белік). В ній автор стверджує, що протеїн S-100 бере участь в посттранскрипційних механізмах регуляції процесів реалізації генетичної інформації, головним чином, на етапах процесингу транспортної РНК і опосередковано впливає на активність хроматину фосфорилуванням протеїнів ядра.

У 1986 р. О. О. Капралов, В. І. Тюленев показали, що протеїн S-100 входить до складу РНП-частинок і ламінопорового комплексу ядер мозку шурів. Під впливом цього протеїну підвищується фосфорилування протеїнів ядерних мембран мозку. Це відбувається, головним чином, завдяки протеїнам з мол. масою близько 70 кДа. Висловлюється припущення, що дія протеїну S-100 на протеїни ядерних мембран і ламінопорового комплексу зумовлює підвищення ядерно-цитоплазматичного транспорту РНК і підвищення активності АТР-ази ядерних мембран у його присутності.

Було встановлено вплив протеїну S-100 на транспорт РНК у клітинних ядрах мозку шурів і активність АТР-ази (О. О. Капралов, В. І. Тюленев і В. І. Назаренко, 1985–1986 рр.), а також виявлено участь протеїну S-100 у

фосфорилуванні протеїнів нуклеоплазми мозку та його наявність в рибонуклеопротеїнових частинках (О. О. Капралов, В. І. Тюленев, Я. В. Белік, 1988 р.). Автори вважають, що протеїн S-100 може брати участь у процесах транспорту та процесингу гетерогенної ядерної РНК.

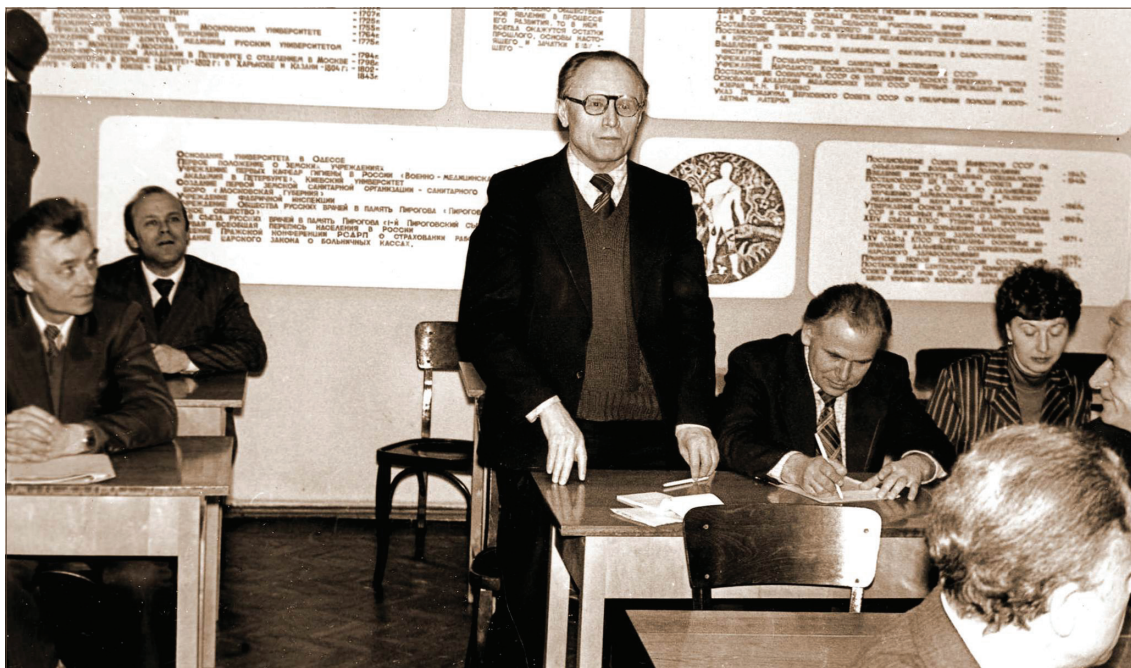
Результати досліджень з цього напрямку у відділі біохімії нервової системи (на той час вже у відділі нейрохімії) та дані літератури було узагальнено в монографії В. О. Березіна і Я. В. Беліка «Специфические белки нервной ткани» (К.: Наукова думка, 1990 р.). Її було присвячено світлій пам'яті Олександра Володимировича Палладіна. У монографії представлено експериментальні дані з ідентифікації, виділення, структури, фізико-хімічних властивостей специфічних протеїнів нервової тканини та обговорено їхню фізіологічну роль, тканинний і клітинний розподіл, субклітинну локалізацію. Крім того, у книзі наведено основні імунохімічні та фізико-хімічні методи ідентифікації, очистки, кількісного визначення нейроспецифічних протеїнів.

Аналізуючи результати досліджень протеїнів нервової системи, проведені в Інституті біохімії у 1972–1990 рр., можна виділити кілька етапів.

Перші дослідження азотистого метаболізму було присвячено виявленню протеїнів у різних відділах нервової системи — у різних ділянках головного мозку, спинному мозку, нервових закінченнях у різних тварин. Таким чином, була визначена біохімічна топографія нервової системи. В межах цих досліджень було розшифровано специфіку регіонального, клітинного і субклітинного розподілу азотистих речовин і протеїнів у різних частинах нервової системи; було виявлено зв'язок між складом і обміном протеїнів у морфологічно і функціонально різних утвореннях нервової системи, з одного боку, і функціями цих структур — з іншого. Крім того, було вивчено онто- і філогенетичні особливості складу і частково обміну протеїнів у різних структурах центральної та периферичної нервової системи; вперше було виявлено асиметрію однакових центрів кори правої і лівої півкулі головного мозку.

Розробка різних питань функціональної нейрохімії протеїнів на другому етапі надала можливість з'ясувати закономірності формування і оновлення протеїнів нервової тканини на регіональному, клітинному, субклітинному і суборганічному рівнях у філо- і онтогенезі, за різних функціональних і патологічних станів; дослідити ензими, які каталізують розщеплення тканинних протеїнів (катепсини); виявити





*Я. В. Белік. Виїздне засідання Наукової ради з біохімії тварин і людини АН УРСР. Кафедра біохімії Вінницького медичного інституту, 1981 р.*

метаболичну гетерогенність протеїнів головного мозку на різних рівнях його структурної організації; дослідити фракційний склад протеїнів різнофункціональних структур нервової системи, використовуючи різні методи електрофорезу, висолювання, диференційного центрифугування; виділити в очищеному стані та дослідити фізико-хімічні і біологічні властивості низки протеїнових фракцій та індивідуальних протеїнів; розробити методичні підходи до пізнання біохімічних основ функціонування макро- і мікроструктурних утворень нервової системи, особливо її специфічних функцій.

*І, нарешті, третій етап був присвячений інтенсивним дослідженням **нейроспецифічних протеїнів**, яким належить головна роль у прояві тих фізіологічних функцій, які притаманні тільки нервовій тканині.* На той час у структурі нервової тканини було виявлено близько 30 нейроспецифічних протеїнів, з них у відділі біохімії нервової системи Інституту біохімії виділено і очищено 4 нейроспецифічних протеїни: *протеїн S-100, антиген Д (такий як протеїн 14-3-2), основний енцефалітогенний протеїн мієліну, протеїн P2 (протеїн SCP – spinal cord protein).* До цих протеїнів одержані

но моноспецифічні антисироватки, а також досліджено їхні фізико-хімічні та імунологічні властивості, визначено їх вміст і локалізацію в різних відділах центральної та периферичної нервової системи.

Ці результати досліджень були широко представлені й обговорені у численних наукових доповідях на нейрохімічних конференціях і симпозиумах, а також на біохімічних з'їздах і конгресах, які відбулися в нашій країні, а також за її межами (Київ, 1953, 1957 рр.; Орхус, 1956 р.; Париж, 1957 р.; Москва, 1961 р.; Єреван, 1962 р.; Сант-Вольфганг, 1962 р.; Ленінград, 1965, 1972 рр.; Тарту, 1966.; Страсбург, 1967 р.; Тбілісі, 1968 р., Мілан, 1969 р.; Будапешт, 1971 р.; Ростов-на-Дону, 1976 р.; Дніпропетровськ, 1978 р.; Мінськ, 1980 р.; Єреван, 1983 р.; Горький, 1987 р. та інші).

Отже, співробітники відділу біохімії нервової системи Інституту біохімії, виконуючи завдання свого наставника і Вчителя, засновника функціональної нейрохімії, **академіка Олександра Володимировича Палладіна** зробили вагомий внесок у розвиток знань із хімії та специфічного функціонування протеїнів нервової системи.

*Р. П. Виноградова, В. М. Данилова*

У роботі використано матеріали наукової бібліотеки Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України.



## Список вибраних публікацій, які використано під час написання статті

1. Палладин А. В., Цуверкалов Д. А. К вопросу об аминокислоте в сером и белом веществе головного мозга при голодании // Сборник, посвященный 75-летию акад. И. П. Павлова, Государственное издание Ленинград. – 1924. – С. 187–192.
2. Палладин О. В., Гулий М. Ф. Вплив голодування на процеси аміногенезу і протеолізу в головному мозку тварин // Укр. біохем. журнал. – 1934. – Том VII, № 2. – С. 73–89.
3. Палладин А. В., Вертаймер Н. Обновление белков в центральной нервной системе при различном функциональном состоянии // ДАН СССР. – 1955. – Том 102, № 2. – С. 319–322.
4. Полякова Н. М. Дослідження білків різних відділів нервової системи методом електрофорезу на папері // Укр. біохім. журнал. – 1956. – Том XXVIII, № 3. – С. 286–295.
5. Палладин А. В., Полякова Н. М. Изучение белков головного мозга методом электрофореза на бумаге // ДАН СССР. – 1956. – Том 107, № 4. – С. 568–570.
6. Полякова Н. М. Электрофорез белков нерва и корешков спинного мозга // Там же. – Том 109, № 6. – С. 1174–1175.
7. Полякова Н. М. Застосування зонального електрофорезу для вивчення білків нервової системи // V з'їзд Українського товариства фізіологів, біохіміків, фармакологів. Тези доповідей. – Вид-во АН УРСР. Київ. – 1956. – С. 247.
8. Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М., Силич Т. П. Исследования белков нервной системы / В кн.: Вопросы биохимии нервной системы. – Киев, Изд-во АН УССР. – 1957. – С. 9–30.
9. Кравчинський Є. М., Сілич Т. П. Вивчення деяких особливостей білкового обміну в сірій та білій речовині головного мозку // Укр. біохім. журнал. – 1957. – Том XXIX, № 1. – С. 25–32.
10. Полякова Н. М., Готовцева О. П. Застосування різних способів екстрагування білків з мозкової тканини для їх розділення методом електрофорезу на папері // Там само. – № 4. – С. 400–408.
11. Палладин А. В., Полякова Н. М., Силич Т. П. Сравнительное изучение белков мозга и нерва // Физиол. журнал СССР. – 1957. – Том XLIII, В. 7. – С. 611–618.
12. Палладин А. В., Белик Я. В., Крачко Л. С. Скорость обновления белков в мозгу при возбуждении и торможении и в зависимости от возраста животного // Биохимия. – 1957. – Том 22, В. 1–2. – С. 359–368.
13. Полякова Н. М., Кабак К. С. Об альбумине периферических нервов // Доклады Академии наук СССР. – 1958. – Том 122, № 2. – С. 275–277.
14. Палладин О. В., Полякова Н. М., Готовцева О. П. Про вплив голодування на білки головного мозку // Укр. біохім. журнал. – 1958. – Том XXX, № 3. – С. 323–332.
15. Палладин А. В., Полякова Н. М. Застосування методу електрофорезу на агар-агарі для розділення розчинних білків нервової тканини // Там само. – 1959. – Том XXXI, № 3. – С. 307–313.
16. Полякова Н. М. Електрофоретичне дослідження білків безм'якушевих нервів та симпатичного стовбура і вивчення властивостей альбуміну нервів // Там само. – С. 314–21.
17. Белик Я. В., Крачко Л. С. Інтенсивність включення метіоніну S<sup>35</sup> в ядерні і цитоплазматичні білки тканини головного мозку котів // Там само. – С. 322–329.
18. Палладин А. В., Белик Я. В., Крачко Л. С. Внедрение метионина S<sup>35</sup> в белки различных структурных элементов клеток полушарий головного мозга и мозжечка // ДАН СССР. – 1959. – Том 127, № 3. – С. 702–705.
19. Палладин А. В. Белки нервной системы и их обмен. В кн.: Актуальные вопросы современной биохимии. Том 1. Биохимия белков. – М., 1959. – С. 102–113.
20. Полякова Н. М. Белки нервной системы // Укр. біохім. журнал. – 1960. – Том XXXII, № 1. – С. 120–148.
21. Душейко А. А. Включення радіоактивної сірки метіоніну в білки тканин та сироватки крові шурів в залежності від ступеня забезпеченості вітаміном А // Там само. – № 6. – С. 823–831.
22. Полякова Н. М., Лішко В. К. Фракціонування розчинних білків мозку // Там само. – 1962. – Том XXXIV, № 1. – С. 10–22.
23. Полякова Н. М., Лішко В. К. Виділення і очистка протеїнази головного мозку // Там само. – № 2. – С. 208–216.
24. Полякова Н. М., Мальшева М. К. Локалізація ферментів в різних фракціях білків

- мозга, разделенных методом электрофореза на агаре // ДАН СССР. — 1962. — Том **144**, № 6. — С. 1394–1397.
25. *Полякова Н. М.* Исследование белков и ферментов нервной системы / Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Л., 1962. — 28 с.
26. *Лішко В. К.* Вивчення властивостей катепсину мозку // Укр. біохім. журн. — 1963. — Том **XXXV**, № 6. — С. 874–880.
27. *Полякова Н. М.* Фракционирование белков мозга, локализация ферментов в белковых фракциях и очистка протеиназы / III Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы (Сб. докладов) (апрель 1962 г., Ереван). Изд-во АН АрмССР. Ереван, 1963. — С. 25–38.
28. *Белик Я. В.* Интенсивность обновления суммарных белков и белков субклеточных фракций ткани головного мозга сусликов / Там же. — 1963. — С. 39–45.
29. *Смерчинская Л. С.* Интенсивность обновления белков клеточных структур ткани головного мозга при голодании / Там же. — 1963. — С. 47–54.
30. *Палладін А. В., Кудінов С. О.* Фракціонування розчинних білків сірої і білої речовини великих півкуль головного мозку // Укр. біохім. журн. — 1964. — Том **XXXVI**, № 4. — С. 548–558.
31. *Лішко В. К.* Очистка і деякі властивості катепсину мозку // Там само. — С. 565–573.
32. *Смерчинська Л. С., Авдєєв В. Г.* Вплив іпразиду на інтенсивність оновлення білків мозку кролів // Там само. — № 6. — С. 836–847.
33. *Палладін А. В.* Белки нервной системы // Природа. — 1964. — № 7. — С. 24–31.
34. *Лішко В. К.* Очистка и изучение свойств катепсина мозга / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1965. — 14 с.
35. *Малишева М. К.* Изучение дезаминирования адениловой кислоты в нервной ткани / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1965. — 20 с.
36. *Смерчинская Л. С.* Влияние серотонина и ипразиды на обмен белков центральной нервной системы / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1965. — 20 с.
37. *Лішко В. К.* Вивчення специфічності катепсину D мозку великої рогатої худоби // Укр. біохім. журн. — 1965. — Том **37**, № 2. — С. 163–168.
38. *Малишева М. К., Полякова Н. М.* Дезамінування аденілової кислоти в клітинних компонентах тканини головного мозку // Там само. — № 3. — С. 360–369.
39. *Малишева М. К.* Очистка та вивчення деяких властивостей дезамінази аденілової кислоти головного мозку // Там само. — С. 370–378.
40. *Белік Я. В., Терлецька Я. Т., Тюленев В. І.* Метаболічна гетерогенність білків мітохондріальних фракцій тканини головного мозку кролів // Там само. — № 6. — С. 839–849.
41. *Палладін А. В.* Белки нервной системы, их обмен и роль в нервной деятельности / В кн.: Проблемы нейрхимии. Изд-во «Наука». — М.-Л., 1966. — С. 5–17.
42. *Белік Я. В., Терлецька Я. Т., Тюленев В. І.* Оновлення білків, виділених з мітохондріальних фракцій тканини головного мозку кролів // Укр. біохім. журн. — 1966. — Том **38**, № 4. — С. 343–348.
43. *Кудінов С. О., Полякова Н. М.* Очистка основного білка головного мозку // Там само. — № 5. — С. 455–460.
44. *Кудінов С. А.* Исследование основного белка головного мозга / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1967. — 18 с.
45. *Белик Я. В., Тюленев В. И.* Возрастные изменения активности кислой протеиназы в ткани головного мозга кроликов // Журн. эволюц. биохимии и физиол. — 1966. — Том **II**, № 4. — С. 333–338.
46. *Авдєєв В. Г., Палладін О. В.* До питання про методи виділення ядер з тканини головного мозку // Укр. біохім. журн. — 1967. — Том **39**, № 1. — С. 18–24.
47. *Авдєєв В. Г.* Выделение ядер ткани головного мозга, изучение их состава и интенсивности обновления белков / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1968. — 14 с.
48. *Белік Я. В., Смерчинська Л. С., Терлецька Я. Т., Гриненко О. Г.* Протеолітична активність у нервовій тканині // Укр. біохім. журн. — 1968. — Том **40**, № 6. — С. 543–548.
49. *Белік Я. В., Смерчинська Л. С., Гловацька О. П.* Електрофоретичне дослідження білків, що екстрагуються з субклітинних структур головного мозку тритоном X-100 // Там само. — 1969. — Том **41**, № 1. — С. 3–10.
50. *Кудінов С. О., Полякова Н. М., Криса Н. К.* Вплив одного з основних білків головного мозку на активність деяких ферментів // Там само. — № 5. — С. 501–506.
51. *Палладін А. В., Терлецька Я. Т., Козуліна О. П.* Білки структурних утворень тканини головного мозку // Там само. — 1970. — Том **42**, № 2. — С. 144–154.
52. *Белик Я. В.* Гемато-энцефалический барьер и транспорт аминокислот через клеточные



- мембрани // Там само. — № 3. — С. 386–400.
53. *Белик Я. В.* Белки субклеточных структур ткани головного мозга и интенсивность их обновления на разных стадиях постнатального развития / Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Киев, 1970. — 50 с.
54. *Палладин А. В., Смерчинская Л. С.* Специфические для нервной системы кислые белки // Укр. біохім. журн. — 1971. — Том 43, № 3. — С. 398–406.
55. *Палладин А. В.* Основы биохимии памяти // Там само. — № 5. — С. 653–664.
56. *Смерчинська Л. С., Белік Я. В., Бережний Г. А.* Дослідження деяких кислих білків тканини нервової системи // Там само. — 1972. — Том 44, № 1. — С. 3–9.
57. *Козуліна О. П., Терлецька Я. Т., Сироватська Л. П.* Активність протеолітичних ферментів та кислоти фосфатази в нервовій тканині на різних стадіях розвитку алергічного енцефаломієліту // Там само. — № 2. — С. 145–148.
58. *Палладин А. В., Гриненко О. Г., Белік Я. В.* Пептид-гідролазна активність субклітинних і суборганіодних фракцій тканини головного мозку кролів // Там само. — № 6. — С. 686–691.
59. *Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М.* Белки головного мозга и их обмен. — Киев: Наук. думка, 1972. — 316 с.
60. *Гриненко А. Г.* Пептид-гидролазная активность морфологически и функционально разных структур мозга / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1972. — 25 с.
61. *Козулина Е. П.* Энцефалитогенный белок миеліна головного мозга, активність некоторых гидролаз при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1973. — 22 с.
62. *Гриненко О. Г., Белік Я. В.* Пептид-гідролазна активність білої та сірої речовини великих півкуль головного мозку // Укр. біохім. журн. — 1973. — Том 45, № 6. — С. 681–687.
63. *Смерчинська Л. С., Бережний Г. А., Гриненко О. Г., Белік Я. В.* Дослідження кислих білків тканини нервової системи (Повідомлення II) // Там само. — 1974. — Том 46, № 1. — С. 68–72.
64. *Бережний Г. А., Горбань В. О., Белік Я. В.* Про антигенний склад кислих білків головного мозку бика // Там само. — № 2. — С. 141–144.
65. *Бережной Г. А.* Фракционный состав и свойства некоторых водорастворимых кислых белков головного мозга / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1974. — 25 с.
66. *Бережний Г. А., Белік Я. В., Горбань В. О.* Антигенный склад фракції преальбумінів водорозчинних білків головного мозку бика // Укр. біохім. журн. — 1975. — Том 47, № 4. — С. 411–416.
67. *Смерчинська Л. С., Белік Я. В., Сироватська Л. П., Бірилло Т. М.* Про гетерогенність нейроспецифічного білка S-100 // Там само. — 1976. — Том 48, № 5. — С. 609–614.
68. *Терлецька Я. Т., Белік Я. В., Козуліна О. П., Сироватська Л. П., Гершкович О. А., Кібіреєв В. К., Серебряний С. Б.* Ефективність лікування експериментального алергічного енцефаломієліту в морських свинок основним білком мієліну і синтетичним енцефалітогенним нонапептидом // Доповіді АН УРСР. Сер. Б. — 1976. — № 10. — С. 934–937.
69. *Агаєв Т. М., Белик Я. В.* Содержание дикарбоновых аминокислот и ГАМК в структурах зрительного анализатора мозга и сетчатке собак в постнатальном онтогенезе // Укр. біохім. журн. — 1977. — Том 49, № 1. — С. 60–65.
70. *Терлецькая Я. Т., Белик Я. В., Козулина Е. П.* Основной белок миеліна. Химические и иммунологические свойства / Молекулярная биология. Вып. 21. Структура и функция биополимеров. — Киев: Наук. думка, 1978. — С. 15–26.
71. *Сыроватская Л. П., Козулина Е. П., Терлецькая Я. Т., Белик Я. В.* Иммунологическая идентичность нейроспецифических (SCP и P-2) белков и распределение белка SCP в отделах нервной системы // Укр. біохім. журн. — 1979. — Том 51, № 6. — С. 647–652.
72. *Сыроватская Л. П.* Нейроспецифический белок SCP: физико-химические и иммунологические свойства, особенности распределения в нервной системе / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1981. — 24 с.
73. *Белик Я. В.* Успехи украинских ученых в исследовании белков нервной ткани // Укр. біохім. журн. — 1982. — Том 54, № 6. — С. 607–616.
74. *Алексидзе Н. Г., Бережной Г. А., Никурадзе В. О., Белик Я. В.* К вопросу о специфичности белка S-100 в процессах

- обучения и памяти // *Нейрохимия*. — 1982. — Том 1, № 1. — С. 43–50.
75. *Бережний Г. А.* Нейроспецифічний білок антиген Д і його зв'язок з енолазною активністю тканини нервової системи // *Доповіді АН УРСР. Сер. Б.* — 1983. — № 11. — С. 59–61.
76. *Капралов А. А., Смерчинская Л. С., Белик Я. В., Тюленев В. И.* Внутриядерное распределение нейроспецифического белка S-100 в мозжечке быка // *Нейрохимия*. — 1983. — Том 2, № 1. — С. 26–33.
77. *Тюленев В. И., Капралов А. А., Смерчинская Л. С., Белик Я. В.* Влияние белка S-100 на фосфорилирование белков ядер клеток мозга и печени крыс // *Биохимия*. — 1983. — Том 48, Вып. 5. — С. 82–832.
78. *Капралов О. О., Тюленев В. И.* Вплив нейроспецифічного білка S-100 на транспорт РНК з ізольованих ядер мозку і печінки шурів // *Доповіді АН УРСР. Серія Б.* — 1985. — № 4. — С. 62–64.
79. *Капралов А. А., Балков Д. И., Тюленев В. И., Белик Я. В.* Влияние белка S-100 на фосфорилирование ядерных белков мозга крысы; участие ионов кальция // *Нейрохимия*. — 1985. — Том 4, № 1. — С. 23–29.
80. *Капралов А. А., Тюленев В. И., Назаренко В. И.* Влияние белка S-100 на транспорт РНК в клеточных ядрах мозга и активность АТФазы ядерных мембран // *Там же*. — 1986. — Том 5, № 2. — С. 219–220.
81. *Капралов А. А., Тюленев В. И., Белик Я. В.* О наличии нейроспецифического белка S-100 в ламинно-поровом комплексе ядер клеток мозга и его влиянии на фосфорилирование белков ядерной мембраны // *Там же*. — № 4. — С. 365–370.
82. *Березин В.А., Белик Я. В.* Специфические белки нервной ткани. — Киев: Наук. думка, 1990. — 264 с.

Отримано 06.09.2011