

ДЕЙСТВИЕ УБАИНА И БУФАЛИНА НА НЕЙРОНЫ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ МОЗГА КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ГЛЮКОЗО-КИСЛОРОДНОЙ ДЕПРИВАЦИИ

А.В. Лопачев

мл. науч. сотрудник,
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)
E-mail: lopsasha@yandex.ru

О.М. Лопачева

инженер,
Международный учебно-научный биотехнологический центр МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва);
мл. науч. сотрудник,
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)

К.Н. Куличенкова

аспирант, мл. науч. сотрудник,
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)

О.И. Куликова

мл. науч. сотрудник,
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)

Т.Н. Федорова

д.б.н., зав. лабораторией клинической и экспериментальной нейробиологии,
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)

Цель работы – сравнить нейропротекторное действие преинкубации первичной культуры клеток коры больших полушарий мозга крысы с кардиотоническими стероидами (КТС), убаином и буфалином, в условиях глюкозо-кислородной депривации (ГКД), а также исследовать запуск внутриклеточных сигнальных каскадов, способных влиять на жизнеспособность нейронов.

Материал и методы. Для моделирования 4-часовой ГКД с 20-часовой реоксигенацией использовали 10–12-дневную первичную культуру нейронов коры больших полушарий мозга крысы. Убаин и буфалин в концентрациях 10 и 100 нМ вносили за 30 мин до начала ГКД. Окислительный стресс (ОС) вызывали при помощи 24-часовой инкубации культуры с 20 мкМ ротеноном. Жизнеспособность культуры после эксперимента оценивали при помощи МТТ-теста. Оценка активации киназы Akt проводили по соотношению фосфорилированной и общей формы Akt при помощи вестерн блоттинга.

Результаты. Установлено, что убаин в концентрациях 10 и 100 нМ, в отличие от буфалина, защищал клетки от гибели при 30-минутной преинкубации культуры. При этом в данном исследовании убаин не защищал нейроны от гибели при индукции ОС ротеноном. Убаин, в отличие от буфалина, вызывал активацию киназы Akt.

Выводы. Убаин, но не буфалин, оказывает нейропротекторное действие в условиях ГКД. При этом убаин не защищает нейроны от прямой индукции ОС. Нейропротекторный эффект убаина, вероятно, связан с тем, что он, в отличие от буфалина, активировал киназу Akt.

Ключевые слова: убаин, буфалин, глюкозо-кислородная депривация, ишемия, окислительный стресс, Akt.

Для цитирования: Лопачев А.В., Лопачева О.М., Куличенкова К.Н., Куликова О.И., Федорова Т.Н. Действие убаина и буфалина на нейроны первичной культуры коры больших полушарий мозга крысы в условиях глюкозо-кислородной депривации. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(10):19–24. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-10-03>

Убаин, принадлежащий к классу кардиотонических стероидов (КТС), являющихся специфическими ингибиторами Na,K-АТФазы, при различных условиях способен проявлять как нейротоксическое, так и нейропротекторное действие. Концентрации убаина выше 1 мкМ вызывают гибель клеток в первичных культурах нейронов крысы [1]. В то же время в меньших концентрациях

убаин способен оказывать нейропротекторное действие в модели эксайтотоксического стресса, вызываемого НМДА в первичной культуре клеток коры больших полушарий мозга крысы [2]. Преинкубация с убаином также уменьшает гибель нейронов в других моделях [3, 4]. Как нейротоксический, так и нейропротекторный эффекты убаина связаны с внутриклеточными сигнальными

каскадами, которые запускаются при его специфическом связывании с Na,K-АТФазой.

Ранее было показано, что вызываемая убаином гибель нейронов в первичной культуре клеток мозжечка крысы обусловлена долговременной активацией киназы ERK1/2 [1]. Наномолярные концентрации убаина, активируя другие внутриклеточные сигнальные каскады, защищают нейроны в культуре от эксайтотоксического стресса [5], однако на данный момент эти сигнальные механизмы не описаны подробно. Известно, что убаин способен активировать киназу Akt (PKB) в культуре нейробластомы человека [6]. Активация Akt связана с реализацией защитных механизмов в нейронах при окислительном стрессе (ОС) [7] и ишемии головного мозга [8]. Таким образом, модуляция работы Na,K-АТФазы, а также сами КТС могут в перспективе быть использованы для разработки подходов к нейропротекции при ишемии головного мозга. При этом сигнальный ответ клетки на различные КТС может существенно различаться [9].

Цель исследования – оценка нейропротекторного действия двух КТС – убаина и буфалина – в условиях глюкозо-кислородной депривации (ГКД) как модели ишемии головного мозга *in vitro*, а также исследование различий в запуске внутриклеточных сигнальных каскадов, способных влиять на жизнеспособность нейронов первичной культуры коры больших полушарий мозга крысы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Получение первичной культуры клеток коры головного мозга крысы. Первичную культуру клеток коры больших полушарий мозга крысы получали из мозга 18-дневных эмбрионов крыс линии Wistar согласно ранее описанному протоколу [9]. Культуры содержали в CO₂-инкубаторе («SHEL LAB», США) при 37 °С, 90% влажности, 5% CO₂ в течение 10–12 дней в 96-луночных и 6-луночных планшетах до проведения экспериментальных процедур.

Экспериментальные процедуры. Для моделирования условий ишемии/реперфузии на первичной культуре клеток коры больших полушарий мозга крысы использовали 4-часовую ГКД с последующей 20-часовой реоксигенацией. Эксперименты проводили в 96-луночных планшетах на 12–14 день после посадки. Перед началом ГКД культуральную среду заменяли на искусственную

цереброспинальную жидкость (иЦСЖ), не содержащую глюкозы (125 мМ NaCl, 26 мМ NaHCO₃, 4 мМ KCl, 1,25 мМ NaH₂PO₄, 1,2 мМ MgCl₂, 2 мМ CaCl₂). В контрольных (нормоксических) планшетах иЦСЖ содержала 25 мМ глюкозы. Убаин и буфалин в концентрациях 10 и 100 нМ вносили в иЦСЖ за 30 мин до начала ГКД. Затем планшеты из групп гипоксии (без КТС, с добавлением 10 нМ убаина/буфалина и 100 нМ убаина/буфалина; N=12 для каждой группы) помещали на 4 ч в гипоксическую камеру New Brunswick Galaxy 48 R («Eppendorf», Германия) при 1% O₂, 5% CO₂, 37 °С, 90% влажности. Планшеты из групп нормоксии (без КТС, с добавлением 10 нМ убаина/буфалина и 100 нМ убаина/буфалина; N=12 для каждой группы) содержали в клеточном инкубаторе при атмосферной концентрации O₂, 5% CO₂, 37 °С, 90% влажности. Через 4 ч заменяли иЦСЖ на культуральную среду Neurobasal Medium с добавлением 100 ЕД/мл пенициллин-стрептомицина, 1% GlutaMax и бессывороточной добавки B-27 без антиоксидантов («ThermoFisher Scientific», США) и инкубировали планшеты в течение 20 ч в клеточном инкубаторе при атмосферной концентрации O₂, 5% CO₂, 37 °С, 90% влажности. После этого проводили оценку жизнеспособности клеток в культуре при помощи МТТ-теста.

Для индукции окислительного стресса внутри нейронов был использован ротенон в концентрации 20 мкМ. 10 нМ. Убаин в количестве 100 нМ и 1 мкМ вносили в культуральную среду за 30 мин до добавления ротенона (N=12 для каждой из восьми групп: без убаина, с добавлением 10 нМ, 100 нМ и 1 мкМ убаина – в присутствии и в отсутствии 20 мкМ ротенона). Через 24 ч жизнеспособность культуры оценивали при помощи МТТ-теста.

МТТ-тест. Оценка жизнеспособности клеток проводилась в 96-луночных планшетах с помощью МТТ-теста согласно ранее описанному протоколу [1]. Метод основан на восстановлении живыми клетками желтого 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромидом (МТТ) в синий формазан и характеризует восстановительный потенциал цитоплазмы клеток.

Вестерн-блоттинг. Вестерн-блоттинг был использован для оценки изменения активации (уровня фосфорилирования) киназы Akt в лизатах культуры после 1 ч инкубации клеток с убаином и буфалином по сравнению с интактными клетками (N=6 для каждой группы). В культуральную

среду добавляли кардиотонические стероиды в конечной концентрации 1 мкМ. Процедура вестерн-блоттинга проводилась согласно ранее описанному протоколу [1]. Оценивалось соотношение интенсивности люминесценции полос фосфорилированной формы киназы к интенсивности люминесценции полос общей формы киназы. Были использованы первичные антитела к p-Akt, Akt («Cell Signaling Technology», США) и GAPDH («Santa Cruz Biotechnology», США), а также вторичные антитела anti-rabbit («Santa Cruz Biotechnology», США) и anti-mouse («Cell Signaling Technology», США), конъюгированные с пероксидазой хрена.

Статистическая обработка данных. Анализ полученных данных проводили в программе GraphPad Prism 7. Для оценки нормальности распределения в выборке применяли тест Шапиро-Вилка. Для множественных сравнений с двумя факторами использовали двусторонний анализ дисперсии и метод множественного сравнения Сидака (данные МТТ-теста) ($N=12$ для каждой группы), для множественных сравнений с одним фактором – односторонний анализ дисперсии и метод множественного сравнения Сидака (данные вестерн-блоттинга) ($N=6$ для каждой группы).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Действие убаина и буфалина на жизнеспособность культуры в условиях глюкозо-кислородной депривации. Убаин и буфалин в концентрациях 10 и 100 нМ не вызывали изменений жизнеспособности культуры в условиях нормоксии (рис. 1,а,б). В условиях ГКД в эксперименте с убаином жизнеспособность культуры снижалась на $53\pm 2\%$ ($p<0,0001$, $t=11,18$) по сравнению с нормоксией (рис. 1,а). Преинкубация культуры с 10 нМ убаином вызывала увеличение жизнеспособности культуры в условиях ГКД на $12\pm 4\%$ ($p=0,0111$, $t=3,06$), а с 100 нМ убаином – на $10\pm 2\%$ ($p=0,0496$, $t=2,48$) (рис. 1,а). В условиях ГКД в эксперименте с буфалином жизнеспособность культуры снижалась на $48\pm 1\%$ ($p<0,0001$, $t=14,27$). Преинкубация культуры с 10 и 100 нМ буфалином не повлияла на жизнеспособность культуры в условиях ГКД (рис. 1,б).

Таким образом, преинкубация культуры с убаином в нетоксических концентрациях способна защитить нейроны от гибели, вызываемой ГКД с последующей реоксигенацией. Буфалин, несмотря на его способность специфически связываться с Na,K-АТФазой, не оказывал подобного эффекта.

Ранее было показано, что гибель нейронов при ишемии связана с эксайтотоксическими механизмами [10], а убаин защищает нейроны от эксайтотоксического действия НМДА [2]. В свою очередь стоит сказать, что 1 мкМ убаин вызывает уменьшение активности Na,K-АТФазы в микросомальной фракции больших полушарий мозга крысы на $27,0\pm 2,0\%$, в то время как 1 мкМ буфалин – на $74,4\pm 1,3\%$ [9]. Можно предположить, что нейропротекторные свойства КТС при ГКД напрямую не связаны с константами ингибирования фермента, но зависят от сигнальных каскадов, которые они активируют внутри нейронов. Было сделано предположение, что убаин и буфалин могут по-разному влиять на активацию связанных с эксайтотоксическим стрессом внутриклеточных сигнальных каскадов. Также известно, что гибель нейронов при ишемии после реоксигенации связана с развитием ОС [11]. В связи с этим был поставлен вопрос о том, может ли преинкубация с убаином защитить нейроны от действия индуктора ОС ротенона.

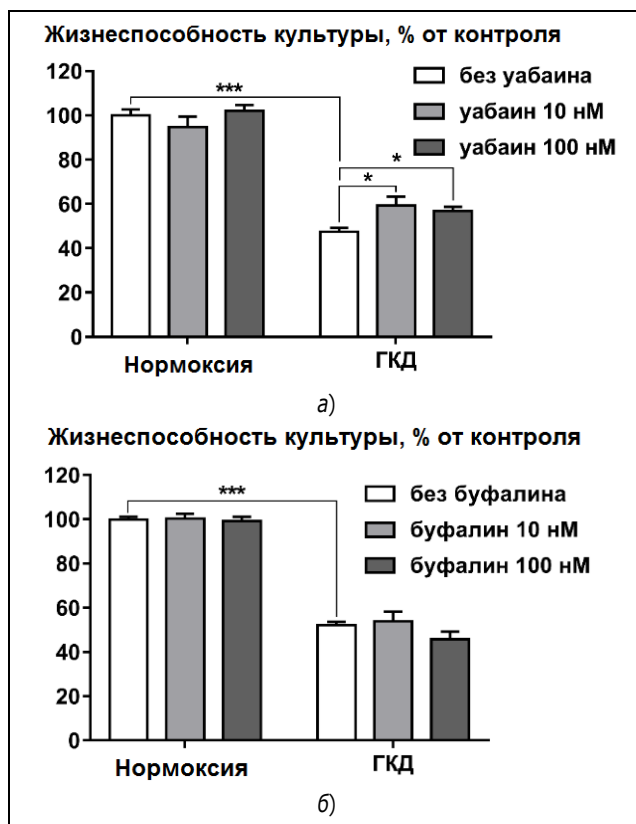


Рис. 1. Влияние 10 и 100 нМ убаина (а) и буфалина (б) на жизнеспособность первичной культуры клеток коры больших полушарий мозга крысы в условиях нормоксии и ГКД (данные представлены как средние значения \pm SEM, $N=12$, * – $p<0,05$; *** – $p<0,001$)

Влияние убаина на жизнеспособность культуры при индукции ОС ротеином. Как видно из рис. 2, 20 мкМ ротеин после 24 ч инкубации вызывал снижение жизнеспособности культуры на $44 \pm 2\%$ относительно интактных клеток ($p < 0,0001$, $t = 9,73$). Внесение убаина, как совместно с ротеином, так и без него, не оказывало влияния на жизнеспособность культуры во всех исследуемых концентрациях.

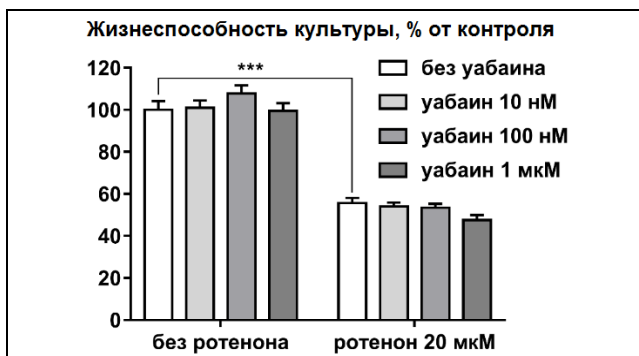


Рис. 2. Влияние 10 нМ, 100 нМ и 1 мкМ убаина на жизнеспособность первичной культуры клеток коры больших полушарий мозга крысы при индукции ОС 20 мкМ ротеином (данные представлены как средние значения \pm SEM, $N = 12$, *** – $p < 0,001$)

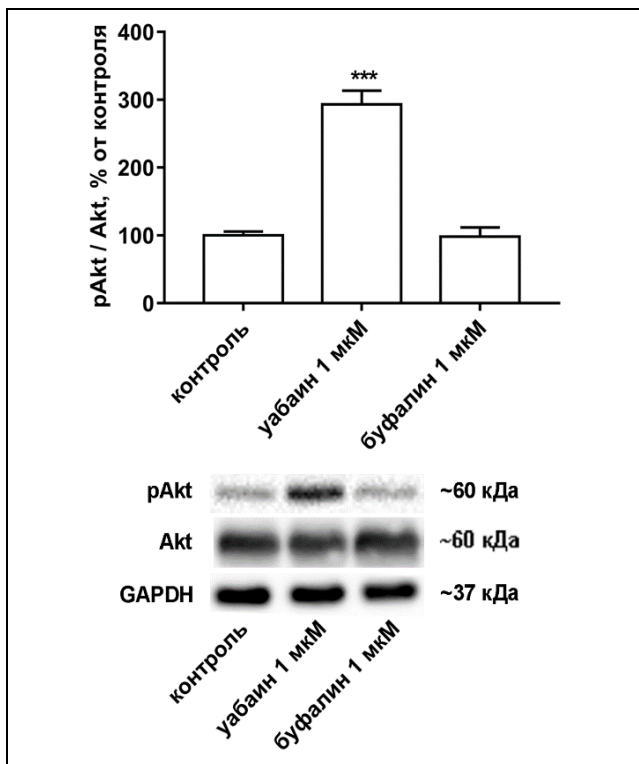


Рис. 3. Влияние 1 мкМ убаина и 1 мкМ буфалина на активацию киназы Akt при 1 ч инкубации в первичной культуре клеток коры больших полушарий мозга крысы (данные представлены как средние значения \pm SEM, $N = 6$, *** – $p < 0,001$; представлены репрезентативные фотографии соответствующих полос на мембране)

Таким образом, можно заключить, что 30-минутная преинкубация с убаином не защищает нейроны в культуре от ОС, индуцированного ротеином. Согласно данным литературы, более длительная преинкубация с убаином может оказывать нейропротекторный эффект в условиях ОС [3]. При этом в исследованиях, посвященных изучению нейропротекторного действия убаина в условиях эксайтотоксического стресса, вызываемого НМДА, не требовалось длительной преинкубации культур нейронов с убаином [2]. Можно предположить, что данные эффекты связаны с разными сигнальными механизмами.

Активация киназы Akt в культуре при действии убаина и буфалина. Было проведено сравнение действия убаина и буфалина в концентрации 1 мкМ на активацию киназы Akt в культуре клеток коры больших полушарий мозга крысы после 1 ч инкубации.

Как видно из рис. 3, уровень активации киназы Akt в культуре после 1 ч инкубации с 1 мкМ убаином повышается в $2,93 \pm 0,20$ раза ($p < 0,0001$, $t = 9,48$). Буфалин в количестве 1 мкМ при тех же условиях инкубации не оказывает влияния на активацию Akt. Данный факт, во-первых, дает основание предполагать, что нейропротекторное влияние убаина в условиях ГКД может быть связано с активацией Akt, поскольку его нейропротекторный эффект в моделях ишемии и ОС опосредован активацией Akt [7, 8], во-вторых, подтверждает литературные данные о том, что разные КТС, хотя и связываются с Na,K-АТФазой, могут запускать различные сигнальные каскады в нейронах [9, 12]. Активация Akt, в свою очередь, связана с вызываемой убаином активацией PI3K в нейронах [8], в то время как убаин способен вызывать активацию PLC/IP3/PI3K пути [13, 14]. Вопрос о том, почему данный сигнальный путь в нашей модели не запускается буфалином, остается открытым, в то время как в опухолевых клетках буфалин вызывает апоптоз именно через активацию PI3K/Akt пути [15]. Можно предположить, что в разных типах клеток различается влияние связывания КТС с Na,K-АТФазой на активность взаимодействующих с ней белков-партнеров.

ВЫВОДЫ

1. Убаин, в отличие от буфалина, обладает нейропротекторным действием в условиях ГКД. В то же время убаин не защищает нейроны от прямой индукции ОС ротеином.

ноном. Нейропротекторный эффект уабаина, вероятно, связан с тем, что он, в отличие от буфалина, активирует киназу Akt.

2. В целом полученные новые данные о нейропротекторном действии уабаина расширяют представление о том, как вызываемая КТС через связывание с Na,K-АТФазой активация сигнальных каскадов может влиять на жизнеспособность нейронов в условиях моделирования ишемии головного мозга с помощью ГКД.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lopachev A.V., Lopacheva O.M., Osipova E.A., Vladychenskaya E.A., Smolyaninova L.V., Fedorova T.N., Koroleva O.V., Akkuratov E.E. Ouabain-induced changes in MAP kinase phosphorylation in primary culture of rat cerebellar cells // *Cell Biochem. Funct.* 2016; 34(5): 367–377.
2. Антонов С.М., Кривой И.И., Драбкина Т.М., Миронова Е.В., Евстратова А.А. Нейропротекторное действие уабаина и экспрессия пептида Bcl-2 при гиперактивации NMDA-рецепторов в нейронах коры головного мозга крыс *in vitro* // Доклады академии наук. 2009; 426(4): 552–555 (Antonov S.M., Krivoj I.I., Drabkina T.M., Mironova E.V., Evstratova A.A. Neiroprotektornoe dejstvie ua-baina i ekspressiya peptida Bcl-2 pri giperaktivacii NMDA-receptorov v nejronah kory golovnogo mozga krysv *in vitro* // *Doklady akademii nauk.* 2009; 426(4): 552–555).
3. Isaev N.K., Stelmashook E.V., Halle A., Harms C., Lautenschlager M., Weih M., Dirnagl U., Victorov I.V., Zorov D.B. Inhibition of Na⁽⁺⁾,K⁽⁺⁾-ATPase activity in cultured rat cerebellar granule cells prevents the onset of apoptosis induced by low potassium // *Neurosci. Lett.* 2000; 283(1): 41–44.
4. Song H.L., Demirev A.V., Kim N.Y., Kim D.H., Yoon S.Y. Ouabain activates transcription factor EB and exerts neuroprotection in models of Alzheimer's disease // *Mol. Cell. Neurosci.* 2019; 95: 13–24.
5. Golden W.C., Martin L.J. Low-dose ouabain protects against excitotoxic apoptosis and up-regulates nuclear Bcl-2 *in vivo* // *Neuroscience.* 2006; 137(1): 133–144.
6. Akkuratov E.E., Wu J., Sowa D., Shah Z.A., Liu L. Ouabain-Induced Signaling and Cell Survival in SK-N-SH Neuroblastoma Cells Differentiated by Retinoic Acid // *CNS & neurological disorders drug targets.* 2015; 14(10): 1343–1349.
7. Park J.H., Kim C.K., Lee S.B., Lee K.-H., Cho S.-W., Ahn J.-Y. Akt attenuates apoptotic death through phosphorylation of H2A under hydrogen peroxide-induced oxidative stress in PC12 cells and hippocampal neurons // *Scientific reports.* 2016; 6: 21857.
8. Sanderson T.H., Kumar R., Murariu-Dobrin A.C., Page A.B., Krause G.S., Sullivan J.M. Insulin activates the PI3K-Akt survival pathway in vulnerable neurons following global brain ischemia // *Neurol. Res.* 2009; 31(9): 947–958.
9. Лопачев А.В., Лопачева О.М., Никифорова К.А., Филлимонов И.С., Федорова Т.Н., Акkuratov E.E. Сравнительное действие кардиотонических стероидов на внутриклеточные процессы в нейронах коры головного мозга крысы // *Биохимия.* 2018; 83(2): 238–250 (Lopachev A.V., Lopacheva O.M., Nikiforova K.A., Fili-monov I.S., Fedorova T.N., Akkuratov E.E. Sravnitel'noe dejstvie kardiotonicheskikh steroidov na vnutrikle-tochnye processy v nejronah kory golovnogo mozga krysy // *Biohimiya.* 2018; 83(2): 238–250).
10. Brassai A., Suvanjeiev R.G., Ban E.G., Lakatos M. Role of synaptic and nonsynaptic glutamate receptors in ischaemia induced neurotoxicity // *Brain Res. Bull.* 2015; 112: 1–6.
11. Dobrota D., Fedorova T.N., Stepanova M.S., Babusikova E., Stelova D., Tatarkova Z., Stvolinsky S.S., Boldyrev A.A. Oxidative stress induced in rat brain by a combination of 3-nitropropionic acid and global ischemia // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2010; 3(2): 144–151.
12. Song H., Karashima E., Hamlyn J.M., Blaustein M.P. Ouabain-digoxin antagonism in rat arteries and neurones // *J. Physiol. (Lond.).* 2014; 592(5): 941–969.
13. Zhang L., Zhang Z., Guo H., Wang Y. Na⁺/K⁺-ATPase-mediated signal transduction and Na⁺/K⁺-ATPase regulation // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2008; 22(6): 615–621.
14. Madan N., Xu Y., Duan Q., Banerjee M., Larre I., Pierre S.V., Xie Z. Src-independent ERK signaling through the rat alpha3 isoform of Na/K-ATPase // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2017; 312(3): C222–C232.
15. Yin P.H., Liu X., Qiu Y.Y., Cai J.F., Qin J.M., Zhu H.R., Li Q. Anti-tumor activity and apoptosis-regulation mechanisms of bufalin in various cancers: new hope for cancer patients // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2012; 13(11): 5339–5343.

Поступила после доработки 18 августа 2019 г.

THE EFFECT OF OUABAIN AND BUFALIN ON THE NEURONS OF PRIMARY CULTURES OF RAT CEREBRAL CORTEX UNDER GLUCOSE-OXYGEN DEPRIVATION

© Authors, 2019

A.V. Lopachev

Junior Research Scientist, Research Center of Neurology (Moscow)

E-mail: lopsasha@yandex.ru

O.M. Lopacheva

Engineer, International Biotechnological Center, Lomonosov Moscow State University;

Junior Research Scientist, Research Center of Neurology (Moscow)

K.N. Kulichenkova

Post-graduate Student, Junior Research Scientist, Research Center of Neurology (Moscow)

O.I. Kulikova

Junior Research Scientist, Research Center of Neurology (Moscow)

T.N. Fedorova

Dr.Sc. (Biol.), Head of Laboratory of Clinical and Experimental Neurochemistry, Research Center of Neurology (Moscow)

Objectives: The objective of this project was the comparison of neuroprotective effects of the cardiostericoids (CTS) ouabain and bufalin in a primary culture of rat cortical neurons in conditions of glucose-oxygen deprivation. In addition, investigation of the activation of intracellular signaling cascades associated with the viability of rat cortical neurons in a primary culture was conducted.

Material and methods: Modeling of 4-hour glucose-oxygen deprivation, followed by a 20-hour re-oxygenation, was performed on a primary culture of rat cortical neurons (10-12 days *in vitro*). Ouabain and bufalin in concentrations of 10 nM and 100 nM were administrated 30 min before glucose-oxygen deprivation. Oxidative stress was induced through a 24-hour long incubation of the culture with 20 μ M rotenone. Viability of the culture after the experimental procedures was evaluated using the MTT-test. The level of Akt kinase activation was evaluated by comparing the ratio of phosphorylated Akt protein to total protein of the Akt kinase using Western Blot.

Results: 30-minute preincubation with 10 nM and 100 nM ouabain, unlike bufalin, protected neurons from death. At the same time, ouabain did not prevent neuronal death when oxidative stress was induced using 20 μ M rotenone. Unlike bufalin, ouabain caused an increase in Akt kinase activation.

Conclusion: Ouabain, but not bufalin, has a neuroprotective effect in conditions of glucose-oxygen deprivation. Simultaneously, in our experiments ouabain does not have a neuroprotective effect under direct induction of oxidative stress. The neuroprotective effect of ouabain is likely due to its ability to activate the Akt kinase, which bufalin does not do.

Key words: *ouabain, bufalin, ischemia, oxidative stress, Akt.*

For citation: Lopachev A.V., Lopacheva O.M., Kulichenkova K.N., Kulikova O.I., Fedorova T.N. The effect of ouabain and bufalin on the neurons of primary cultures of rat cerebral cortex under glucose-oxygen deprivation. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* 2019;22(10):19–24. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-10-03>

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО

Уважаемые коллеги !

Совет молодых ученых ФГБНУ ВИЛАР приглашает Вас принять участие в VII научной конференции с международным участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» по направлениям:

1. Достижения и перспективы развития лекарственного растениеводства.
2. Современные методы выделения, очистки и стандартизации биологически активных веществ из растений.
3. Комплексные подходы в анализе растений (липидомика, протеомика, метаболомика) с целью создания высокоэффективных лекарственных средств.
4. Инновационные подходы в исследованиях различных биообъектов.
5. Актуальные проблемы проведения доклинических и клинических исследований новых лекарственных средств.
6. Форма проведения конференции – очная (устные и постерные доклады).

Дата проведения – 12–13 декабря 2019 г.

Участие в конференции бесплатное.

За дополнительной информацией обращаться по тел.:

8-495-712-10-45; 8-909-984-67-09 – Бабенко Александра Николаевна,

8-909-908-15-33 – Куляк Олеся Юрьевна, e-mail: konf-vilarnii@yandex.ru.