

УДК 576.535

И. Б. ВАСИЛЕВИЧ, С. В. ПИНЧУК, Е. С. ЛОБАНОК, И. Д. ВОЛОТОВСКИЙ

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ
КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПОДАВЛЕНИЯ
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, e-mail: ibce@ipb.org.by

(Поступила в редакцию 31.10.2013)

Введение. В процессе функционирования клетки генерация активных форм кислорода (АФК) происходит в ходе разнообразных метаболических реакций, протекающих во внутриклеточной и во внеклеточной средах. Помимо генерации АФК, образование супероксидного анион-радикала, пероксида водорода и других активных кислородных метаболитов в клетках может наблюдаться в результате переноса электронов в митохондриальной дыхательной цепи, в реакциях микросомального окисления при обезвреживании продуктов метаболизма и чужеродных веществ с участием цитохрома Р-450, в реакциях самопроизвольного (неферментативного) окисления веществ (гемоглобина, ферредоксинов, адреналина катехоламинов, флавинов, гидрохинонов и др.) при избытке ионов металлов с переменной валентностью [1–3]. Биологические эффекты АФК, как правило, реализуются через каскад окислительных реакций [1, 3]. Обладая различными донорно-акцепторными свойствами, АФК, взаимодействуя с биологически важными молекулами (липидами, белками, нуклеиновыми кислотами), не только приводят к развитию окислительного стресса в клетках, но и способны осуществлять регуляцию широкого класса физиологических реакций [4]. В то время как АФК, приводящие к развитию окислительного стресса, индуцируют нарушение функционального состояния [5] и гибель клеток [6], в диапазоне физиологических концентраций АФК могут стимулировать пролиферацию клеток [7–10], в частности, влиять на направление дифференцировки МСК [11, 12]. Образование АФК в клетках находится под регуляторным контролем и осуществляется в количествах, необходимых для реализации соответствующих функций. Поддержание содержания АФК на оптимальном физиологическом уровне, локализация и ограничение зоны их действия в клетках обеспечиваются антиоксидантной системой клетки, включающей низкомолекулярные антиоксиданты и ферменты антиоксидантной защиты [1, 3, 4]. Следовательно, причиной развития окислительного стресса в клетках является не только продукция АФК как таковая, но и нарушение баланса между их образованием и элиминацией [1, 4].

Как правило, антиоксиданты снижают выраженность окислительного повреждения клеток, подавляя образование АФК в случае их избыточной генерации. Для предотвращения развития окислительного стресса в клетках в биологии и медицине широко используются синтетические антиоксиданты, которые ингибируют не только процессы свободнорадикального окисления, но и влияют на систему природных антиоксидантов, изменяя их биологическую активность [13].

Доступным источником мезенхимальных стволовых клеток (МСК), которые могут накапливаться в условиях культуры, дифференцироваться в разные типы клеток и использоваться в клинической медицине, является жировая ткань (ЖТ) [14]. Эффективность применения МСК в терапевтической практике во многом определяется их жизнеспособностью, пролиферативной активностью и устойчивостью к неблагоприятному воздействию окислительного стресса, индуцируемого АФК, образующимися при развитии воспалительных процессов в зоне повреждения [15].

Исходя из важной роли АФК в функционировании клеток, представляется целесообразным изучить возможные биологические эффекты антиоксидантов на МСК при их культивировании *in vitro*. Данные сведения важны также с позиции прогнозирования эффективности использования МСК в регенеративной медицине при лечении различных заболеваний в сочетании с проведением антиоксидантной лекарственной терапии.

В качестве антиоксиданта был выбран эмоксипин – водорастворимое синтетическое производное 3-оксипиридина, относящийся к соединениям биогенного типа, аналогам витамина В₆. Антиоксидантные свойства эмоксипина обусловлены наличием в структуре его азотистого гетероцикла гидроксильной группы. В настоящее время эмоксипин широко применяется в клинической практике для лечения патологических состояний ЦНС, инфаркта миокарда, в офтальмологии, при нарушениях функционирования органов эндокринной системы [16–20]. Препарат используется как с целью быстрого достижения терапевтического эффекта, так и для снижения частоты побочных реакций. Обычные дозы эмоксипина – 3%-ный раствор (2–10 мл) для внутримышечного введения 2–3 раза в сутки в течение 20 дней, или внутривенно 3%-ный раствор (20–30 мл) в 200 мл изотоническом растворе натрия хлорида. Механизмы влияния эмоксипина на клетки до конца не изучены, но в основном его эффект связывается со снижением протекания окислительного стресса в патологически измененных тканях.

Цель данной работы – изучение влияния эмоксипина на пролиферативную активность, жизнеспособность и антиоксидантную защиту в МСК ЖТ в условиях культуры.

Объекты и методы исследования. Работа проведена на МСК из ЖТ крысы. Для выделения МСК была проведена ферментативная обработка гомогената жировой ткани 0,25%-ным раствором коллагеназы в фосфатно-солевом буфере (ФСБ), рН 7,2 при 37 °С в течение 30 мин. Полученную клеточную суспензию фильтровали через капроновый фильтр (100 мкм) и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. После удаления супернатанта осадок заливали полной ростовой средой ДМЕМ (среда Игла, модифицированная по способу Дульбекко), содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамина, 0,01 мл базового раствора комплексного антибиотика-антимикотика. Затем клетки высевали в количестве $8 \cdot 10^4$ кл/мл в культуральные флаконы (Sarstedt, Германия) и культивировали при 37 °С в CO₂-инкубаторе во влажной атмосфере при постоянном давлении 5 % CO₂. Полную смену ростовой среды проводили каждые 72 ч. При достижении 70–80 % конфлуентности монослоя клетки переводили в суспензию с использованием растворов трипсина (0,25 %) и ЭДТА (0,02 %) (Gibco, США) и рассевали в соотношении 1 : 3 на следующий пассаж. Клетки второго пассажа растили при посевной плотности 3 тыс. клеток на 1 см² поверхности культурального флакона в полной ростовой среде в течение 4 сут, после чего материал отбирали в эксперимент.

В работе использовали 1%-ный раствор эмоксипина производства Республиканского унитарного предприятия «Белмедпрепараты» (г. Минск). Дальнейшей очистке препарат не подвергали. Судя по измерениям спектров поглощения и флуоресценции раствора эмоксипина в ФСБ содержание посторонних примесей в препарате не превышало 1 %. Продолжительность культивирования МСК с эмоксипином составляла 96 ч до достижения в контроле 70%-ной конфлуентности монослоя.

Наблюдение за ростом клеток и их морфологическим статусом проводили ежедневно с использованием инвертированного микроскопа Olympus СКХ 41 (Япония). Оценивали форму, размер клеток, наличие и длину отростков. Пролиферативную активность клеток характеризовали по индексу пролиферации, равному отношению количества клеток после 4 сут культивирования к количеству клеток при посеве.

Жизнеспособность МСК определяли на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с использованием красителей пропидиум иодида и флуоресцеин диацетата [21]. При этом оценивалась доля живых и погибших клеток по механизмам некроза и апоптоза. Для определения фенотипа МСК клетки второго пассажа в количестве $1 \cdot 10^5$ ресуспендировали в 100 мкл ФСБ, вносили в суспензию меченые флуорофорами антитела к антигенам CD29 (FITC, флуоресцеинизотиоцианат), CD44 (FITC), CD90 (PE, фикоэритрин), CD105 (FITC), CD34 (FITC) и CD45 (FITC) в разведениях согласно инструкциям фирм-производителей (CD29, CD44, CD105 –

Thermo Scientific, CD90, CD34, CD45 – RD Systems). Затем образцы инкубировали в течение 30 мин в темноте при комнатной температуре, отмывали центрифугированием 2 раза ФСБ (1500 об/мин × 10 мин), ресуспендировали в 300 мкл ФСБ и анализировали с помощью проточного цитофлуориметра. Для каждого антигена анализу подвергалось не менее 10 000 клеток. Анализ их иммунофенотипа с помощью проточной цитофлуориметрии показал, что клетки культуры экспрессируют маркеры CD90 (>95 %), CD105 (>99 %), CD29 (>85 %) и CD 44 (>95 %) типичные для МСК, в то время как экспрессия маркеров гемопоэтических клеток была незначительна: CD34 (<3 %), CD45 (<2 %).

Для оценки в МСК внутриклеточного содержания АФК (H_2O_2 , супероксид-анион-радикал) использовали флуоресцентные зонды CM- H_2DCFDA [22] и гидроэтидин (HE) [23]. Для определения H_2O_2 в суспензию МСК вносили 8 мкМ CM- H_2DCFDA , инкубировали в темноте в течение 15 мин при 37 °С, отмывали клетки 2 раза от несвязавшегося зонда в ФСБ (1500 об/мин, 10 мин) и выдерживали 2 ч при 37 °С в среде ДМЕМ. За это время молекула CM- H_2DCFDA гидролизовалась внутриклеточными эстеразами до непроницающего через плазматическую мембрану полярного соединения CM- H_2DCF , которое после взаимодействия с H_2O_2 приобретает способность к флуоресценции с максимумом при 530 нм (возбуждение 488 нм). Интенсивность флуоресценции нагруженных зондом МСК оценивали на проточном цитофлуориметре. Для анализа выбирали гейт жизнеспособных клеток (отрицательные по PI). Для оценки внутриклеточного содержания супероксид-анион-радикалов МСК инкубировали в присутствии 20 мкМ HE в течение 20 мин в темноте при 37 °С, отмывали центрифугированием 2 раза в ФСБ (1500 об/мин × 10 мин) и инкубировали в среде ДМЕМ в течение 40 мин при 37 °С. Флуоресценцию окисленного HE регистрировали на проточном цитофлуориметре при 636 нм (возбуждение 488 нм).

Гистограммы распределения клеток по интенсивности флуоресценции оценивали с помощью программного обеспечения DIVA-6,1 (Becton Dickenson, США).

Переокисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали по образованию продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-пр.), концентрацию которых рассчитывали принимая величину коэффициента молярной экстинкции при $\lambda = 535$ нм, равную $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Содержание небелковых SH-групп (представленных в основном восстановленным глутатионом) оценивали с использованием реактива Элмана, принимая коэффициент молярной экстинкции окрашенного продукта при $\lambda = 412$ нм, равным $1,36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по степени торможения реакции окисления кверцетина [24].

Результаты и их обсуждение. Первичная суспензия клеток, полученных из ЖТ с помощью ферментативной обработки, представляет собой смесь различных клеток. При ее посеве в культуральные флаконы и последующем культивировании в среде ДМЕМ часть клеток адсорбируется к пластику флакона. Ко второму пассажу после смыва неадсорбированного материала в культуре остаются преимущественно МСК, имеющие фибробластоподобную морфологию.

На рис. 1 представлены микрофотографии МСК после культивирования в присутствии эмоксипина в концентрации 0,0005–0,25 %. Как видно из рисунка, содержание эмоксипина в среде не изменяет морфологию клеток: МСК имеют фибробластоподобную, веретеновидную форму во всем диапазоне концентраций. Однако при концентрациях 0,05–0,25 % обнаруживается значительное снижение количества клеток в культуре по сравнению с контролем. Определение индекса пролиферации (рис. 2) показало, что при концентрациях эмоксипина 0,01–0,25 % наблюдается значительное снижение пролиферативной активности МСК (при 0,25 % регистрируется количество клеток более низкое, чем при посеве). При концентрациях препарата 0,0005–0,005 % пролиферативная активность МСК увеличивается: на 22, 17 и 12 % в присутствии 0,0005, 0,001 и 0,005%-ного препарата соответственно. Снижение пролиферативной активности МСК при высоких концентрациях эмоксипина связано с проявлением его токсического действия, о чем свидетельствует увеличение количества некротических клеток в культурах (рис. 2). Токсическое действие препарата при высоких концентрациях, вероятно, реализуется посредством нарушения прооксидантно/антиоксидантного баланса в клетках в сторону интенсификации окислительных процессов, о чем свидетельствуют результаты определения внутриклеточного содержания АФК в МСК. Если содержание пероксида водорода в МСК при высоких концентрациях эмоксипина

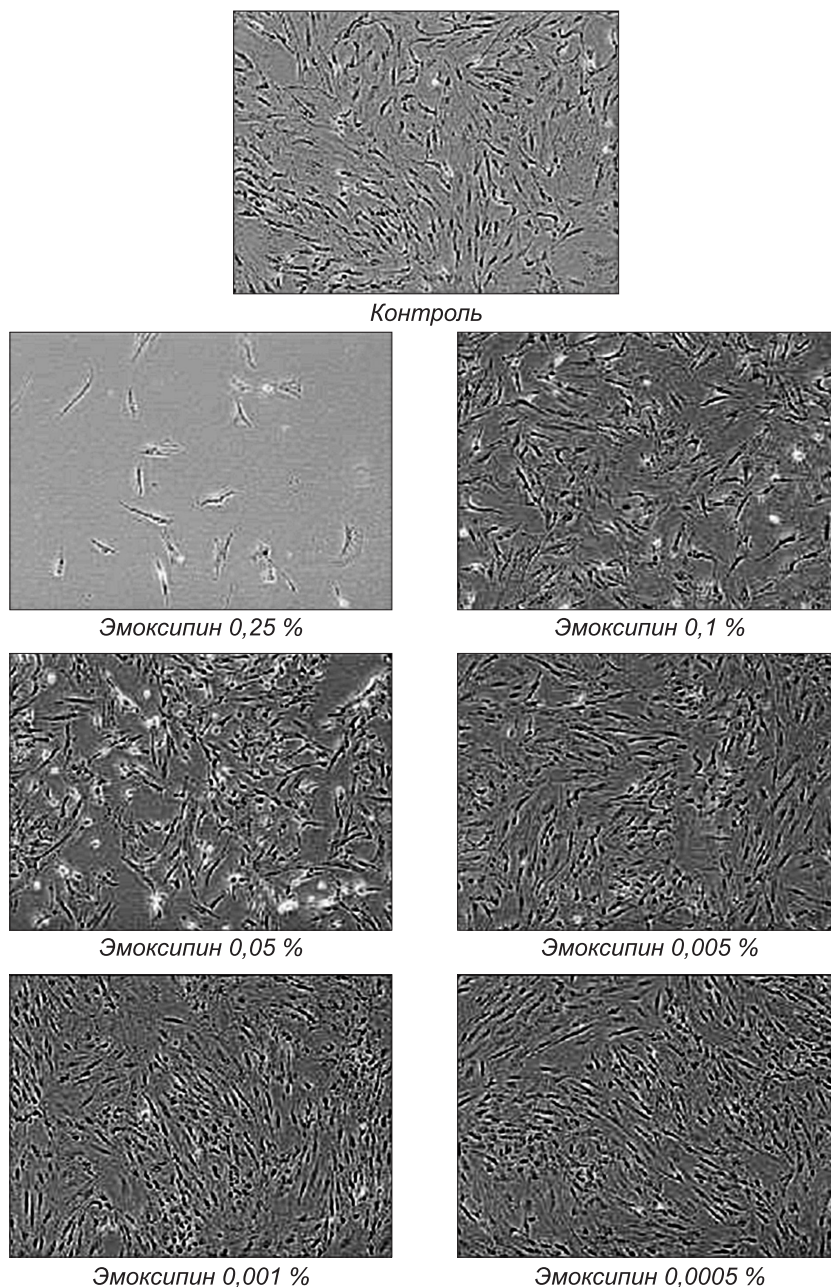
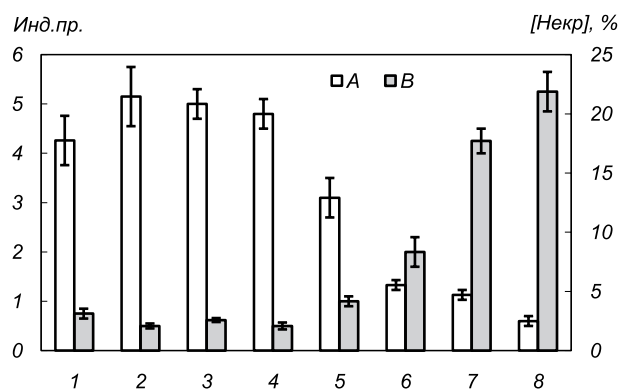


Рис. 1. Микрофотографии МСК ЖТ, культивируемые в среде ДМЕМ, содержащей различные концентрации этоксипина. Клетки второго пассажа. Время инкубации клеток с этоксипином 96 ч при 37 °С, 5 % CO₂, 10 % ЭТС, увеличение ×40

Рис. 2. Влияние этоксипина на индекс пролиферации (А) и количество некротических клеток (В) в культуре МСК из ЖТ крысы второго пассажа. Время инкубации клеток с этоксипином 96 ч при 37 °С, 5 % CO₂, 10 % ЭТС: 1 – К (контроль); 2 – 0,0005 %; 3 – 0,001 %; 4 – 0,005 %; 5 – 0,01 %; 6 – 0,05 %; 7 – 0,1 %; 8 – 0,25 % концентрации этоксипина в среде культивирования



возрастает незначительно по сравнению с контролем, то содержание супероксид-анион-радикалов увеличивается на 25 и 28 % в присутствии 0,1%-ного и 0,25%-ного препарата соответственно (рис. 3). Механизм наблюдаемого эффекта связан с нарушением функционирования компонентов антиоксидантной системы клеток. В пользу этого свидетельствуют полученные нами данные по влиянию эмоксипина на устойчивость МСК к окислительному стрессу. Ранее [6] нами показано развитие окислительного стресса в суспензиях МСК в присутствии микромолярных концентраций гидропероксида трет-бутила (ТБГП). Окислительный стресс проявлялся в повреждении белков, окислении липидов, снижении количества жизнеспособных и увеличении апоптотических и некротических клеток. Изучение действия ТБГП на суспензию МСК показало значительное снижение устойчивости культивируемых в присутствии высокой концентрации эмоксипина (0,1 %) клеток к окислительному стрессу. После инкубации с ТБГП (150 мкМ) в течение 2 ч содержание ТБК-активных продуктов в суспензии ($4 \cdot 10^5$ кл/мл) культивируемых в присутствии 0,1%-ного эмоксипина МСК возрастает на $2,20 \pm 0,15$ нмоль/мг белка, тогда как в контрольных клетках – на $1,73 \pm 0,11$ нмоль/мг белка. Количество жизнеспособных клеток в культурах снижается на 24 и 30 % соответственно для контрольных и культивируемых в присутствии 0,1%-ного эмоксипина. Количество апоптотических и некротических после окислительного воздействия ТБГП увеличивается, при этом отношение количества некротических клеток к апоптотическим составляет 0,13 для контрольных и 2,1 для культивируемых в присутствии 0,1%-ного препарата МСК. Развитие преимущественно некротической гибели при окислительном стрессе характерно для клеток со сниженной антиоксидантной защитой [6]. Представленные в таблице данные свидетельствуют о снижении в культивируемых в присутствии 0,1%-ного препарата МСК содержания одного из основных компонентов антиоксидантной системы – восстановленного глутатиона, а также супероксиддисмутазной активности по сравнению с контролем. Эти результаты согласуются с данными о снижении под влиянием эмоксипина супероксиддисмутазной активности и стимулировании ПОЛ в клетках опухолевой ткани (пролиферативно-активные клетки) при химиотерапии перевиваемого рака крыс РС-1. Эффект на клетки опухолевой ткани проявлялся при высоких концентрациях эмоксипина – 25 мг/кг веса [25]. Использование низких концентраций эмоксипина (0,0005–0,005 %) при культивировании МСК приводит к снижению содержания в клетках как пероксида водорода, так и супероксид-анион-радикалов (рис. 3), что указывает на увеличение антиоксидантного статуса клеток при данных условиях культивирования. Эти результаты хорошо согласуются с увеличением содержания восстановленного глутатиона, глутатионпероксидазной и супероксиддисмутазной активности в культивируемых МСК в присутствии низкой концентрации (0,001 %) эмоксипина по сравнению с контролем (таблица). Данные клетки проявляют также большую устойчивость к окислительному стрессу: в ответ на действие ТБГП количество продуктов ПОЛ составило

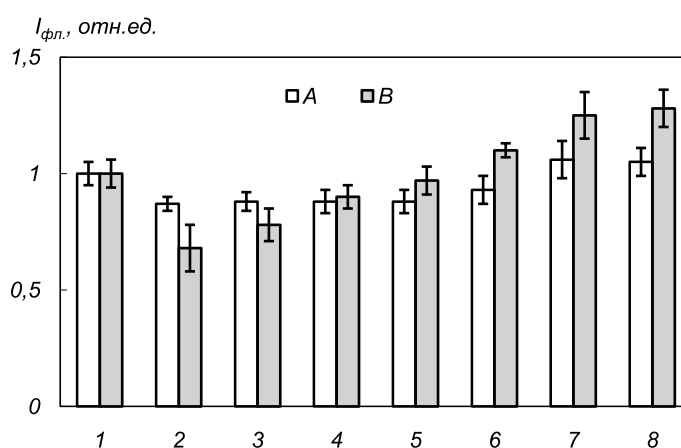


Рис. 3. Влияние эмоксипина на интенсивность флуоресценции зондов CM-H₂DCF-DA (A) и HE (B) в составе МСК из ЖТ крысы: 1 – К (контроль); 2 – 0,0005 %; 3 – 0,001 %; 4 – 0,005 %; 5 – 0,01 %; 6 – 0,05 %; 7 – 0,1 %; 8 – 0,25 % концентрации эмоксипина в среде культивирования

Влияние эмоксипина, добавленного в среду культивирования МСК ЖТ, на индуцированное ТБГП (150 мкМ, 120 мин, 400 тыс. кл/мл) накопление ТБК активных продуктов ПОД, внутриклеточное содержание восстановленного глутатиона (Г-SH), супероксиддисмутазную (СОД) и глутатионпероксидазную (ГПр) активность в клетках

Параметры активности системы антиоксидантной защиты	Контроль	Эмоксипин, 0,1 %	Эмоксипин, 0,001 %
Содержание ТБК-продуктов, нмоль/мг белка	1,73±0,11	2,20±0,15	1,49±0,14
Содержание Г-SH, нмоль/мг белка	32,8±2,4	21,7±3,3	35,2±3,0
Активность СОД, ед/мг белка	1,50±0,15	1,16±0,13	1,58±0,16
Активность ГПр, мкмоль/ (мин · мг белка)	0,35±0,05	0,46±0,03	0,34±0,03

1,49±0,14 нмоль/мг белка, количество жизнеспособных клеток снизилось на 21 %. Учитывая стимулирующее влияние АФК на пролиферативную активность клеток, важно отметить, что снижение внутриклеточного содержания АФК в присутствии низких концентраций эмоксипина наблюдается на фоне роста пролиферации МСК.

Заключение. При культивировании мезенхимальных стволовых клеток (МСК) жировой ткани (ЖТ) эмоксипин в низких концентрациях (0,0005–0,005 %) не влияет на морфологию клеток, оказывает стимулирующее влияние на их пролиферативную активность, стимулирует активность системы антиоксидантной защиты и приводит к уменьшению внутриклеточного содержания АФК (пероксида водорода и супероксид-анион-радикала). При концентрациях 0,01–0,25 % препарат оказывает токсическое действие на МСК, что проявляется в снижении пролиферативной активности и жизнеспособности клеток, подавлении антиоксидантной защиты и возрастании внутриклеточного содержания H₂O₂ и супероксид-анион-радикалов. В этой связи следует отметить, что в клинической практике эмоксипин применяют в достаточно широком диапазоне концентраций – 1–50 мг/кг веса, используя при этом и внутривенное введение 1–3 раза в сутки. Препарат быстро распределяется в крови и характеризуется высокой скоростью элиминации (18 мин), которая может увеличиваться при патологических состояниях [26]. Распределение эмоксипина в других органах и тканях точно неизвестно и является предметом изучения [27]. Эти данные свидетельствуют о том, что терапевтическое действие эмоксипина реализуется при значительном изменении (на несколько порядков) его концентрации в организме, при этом максимальная концентрация в крови может составлять приблизительно 0,1 % и выше. Полученные данные позволяют полагать, что при клеточной терапии различных заболеваний применение эмоксипина в дозах, при которых концентрация препарата в крови составит более 0,01 %, может привести к снижению эффективности лечения с использованием МСК ЖТ. При концентрациях эмоксипина в крови 0,0005–0,005 % эффективность клеточной трансплантации, наоборот, может увеличиться. В целом приведенные данные следует учитывать при клиническом применении МСК на фоне терапии эмоксипином, при культивировании МСК с целью увеличения их функциональной активности.

Литература

1. *Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др.* Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М., 2006.
2. *Sohal R. S.* // FASEB J. 1997. Vol. 11, № 14. P. 1269–1270.
3. *Костюк В.А., Потапович А.И.* Биорадикалы и биоантиоксиданты. Мн., 2004.
4. *Dröge W.* // Physiol. Rev. 2002. Vol. 82, № 1. P. 47–95.
5. *Song H., Chung SKu., Xu Y.* // Stem Cells. 2010. Vol. 31, № 28. P. 555–563.
6. *Пинчук С.В., Лобанок Е.С., Вологовский И.Д.* // Докл. НАН Беларуси. 2013. Т. 57. С. 79–83.
7. *Вольский Н.Н., Кашлакова Н.В., Козлов В.А.* // Цитология. 1988. Т. 30, № 7. С. 898–902.
8. *Li P. F., Dietz R., von Harsdorf R.* // Circulation. 1997. Vol. 96. P. 3602–3609.
9. *Luczak K., Balcerczyk A., Soszynski M. et al.* // Cell Biol. Int. 2004. Vol. 28. P. 483–486.
10. *Кулагова Т.А., Семенова Г.Н., Квачева З.Б., Чернекевич С.Н.* // Цитология. 2006. Т. 48. С. 900–905.
11. *Voopathy A. V., Pendergrass K. D., Che P. L. et al.* // Stem Cell Res. Ther. 2013. Vol. 4, № 2. P. 2–16.
12. *Kanda Y., Hinata T., Kang S. W., Watanabe Y.* // Life Sci. 2011. Vol. 89. P. 250–258.
13. *Храпова Н.Г.* // Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982. С. 59–70.
14. *Баранов Е.В., Третьяк С.И., Василевич И.Б. и др.* // Клеточ. транспл. ткан. инж. 2013. Т. VIII, № 2. С. 78–83.
15. *Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К.* // Успехи совр. биол. 1997. Т. 117. С. 155–171.

16. Дюмаев К. М., Воронина Т. А., Смирнов Л. Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. М., 1995.
17. Погорелький В. Е., Гаевый М. Д. // Эксп. и клин. фармакол. 1999. № 6. С. 26–28.
18. Столярова В. В. // Эксп. и клин. фармакол. 2002. № 3. С. 13–15.
19. Заславская Р. М., Лилица Г. В., Калинина Е. В. // Клин. мед.: науч.-практ. журн. 2004. № 12. С. 19–21.
20. Палковский О. Л. // Рецепт: науч.-практ. журн. для фармацевтов и врачей. 2008. № 3. С. 32–34.
21. Ross D. D., Joneckis C. C., Ordonez J. V. et al. // Cancer Research. 1989. Vol. 49. P. 3776–3782.
22. Saretzki G. Armstrong L., Leake A. et al. // Stem Cells. 2004. Vol. 22. P. 962–971.
23. Perticarari S., Presani G., Mangiarotti M. A., Banfi E. // Cytometry. 1991. Vol. 12. P. 687–693.
24. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. // Вопр. мед. хим. 1990. Т. 36, № 2. С. 88–91.
25. Зорькина А. В., Скопин П. И. // Сибирский онкол. журн. 2011. Т. 43, № 1. С. 34–39.
26. Мишина Е. В., Филиппенко Н. Г., Пичугин В. В. и др. // Бюл. экп. биологии и медицины. 1990. Т. 60, № 10. С. 389–390.
27. Мажитова М. В., Карибьянц М. А., Теплый Д. Л. // Естест. науки. 2011. Т. 34, № 1. С. 226–230.

I. B. VASILEVICH, S. V. PINCHUK, E. S. LOBANOK, I. D. VOLOTOVSKI

MORPHOLOGY-FUNCTION STATE OF RAT ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS UNDER THE SUPPRESSION OF OXIDATIVE STRESS

Summary

The influence of emoxipine on proliferative activity, viability in rat adipose-derived mesenchymal stem cells (MSCs) in culture, as well as the state in the MSCs of the antioxidant protection system was investigated. It is shown that when 0.0005–0.005 % concentrations of emoxipine in growth medium the proliferative activity of MSCs increased, did not influence the cell viability and reduced intracellular content of hydroperoxide and superoxide anion radicals. At concentrations of 0.01–0.25 % a emoxipine revealed the toxic effects on MSCs, that manifested itself in reduced proliferative activity and cell viability, increased intracellular content of superoxide anion radicals.