

УДК 576.53:[611.018.26+616.419+616.127]: 576.32

КОВПАК О.С.*, e-mail: kovpak8887@gmail.com,

КОВПАК В.В., канд. вет. наук, e-mail: vitkovpak@ukr.net,

МАЗУРКЕВИЧ А.Й., д-р вет. наук, проф., e-mail: a.mazurkevich@nubip.edu.ua

Національний університет біоресурсів і природокористування України

ГУДЗЬ Н.В., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: gudznataly@gmail.com

Інститут ветеринарної медицини НААН

ВЛИВ ФАКТОРУ РОСТУ ФІБРОБЛАСТІВ (FGF-2) ТА ІНСУЛІНОПОДІБНОГО ФАКТОРУ РОСТУ (IGF-1) НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КОТА

Досліджено вплив фактору росту фібробластів (FGF-2) та інсуліноподібного фактору росту (IGF-1) у різних концентраціях на проліферативну активність та генетичну стабільність стовбурових клітин отриманих з кісткового мозку, жирової тканини та міокарду кота. Встановлено, що інсуліноподібний фактор росту та фактор росту фібробластів позитивно впливає на проліферативну активність всіх досліджуваних культур. За даними цитогенетичного аналізу встановлено, що додавання факторів росту у культуральне середовище не призводить до достовірного збільшення кількості генетичних помилок (у порівнянні з контролем) у всіх досліджуваних культурах.

Ключові слова: фактор росту фібробластів (FGF-2), інсуліноподібний фактор росту (IGF-1), стовбурові клітини, культура клітин кісткового мозку, культура клітин жирової тканини, культура клітин міокарда, коти, цитогенетичний аналіз.

Вступ. Клітинна терапія – новий метод лікування захворювання пов'язаних з незворотною загибеллю клітинних елементів. Область використання клітинних технологій постійно розширюється. На експериментальному рівні клітинні технології вже активно використовуються в кардіології за інфаркту міокарда та кардіоміопатій [1, 2]. Використання клітинних матеріалів на експериментальних моделях ушкодженого міокарда показало позитивний вплив на репарацію тканини і відновлення серцевої діяльності. В якості агентів клітинної терапії інфаркту міокарда використовують різні види клітин.

Найбільш вивченим джерелом стовбурових клітин дорослого організму на сьогоднішній день є кістковий мозок. На даний час науковці виділяють з кісткового мозку різні види клітин, які здатні до поділу в умовах *in vitro*: гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК) [3], мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) [3], ендотеліальні клітини-попередниці [4], плюрипотентні [5] та мультипотентні [6] стовбурові клітини.

Альтернативним джерелом стовбурових клітин дорослого організму все частіше слугує жирова тканина. З жирової тканини можна виділити гемопоетичні стовбурові клітини [7], мезенхімальні стовбурові клітини [8], ендотеліальні клітини-попередниці [9] та преадипоцити [10].

* Аспірант, науковий керівник – д-р вет. наук, професор Мазуркевич А.Й.

Проте не варто забувати про органоспецифічні стовбурові клітини, такі як стовбурові клітини серця [11].

Однак використання клітинних технологій у клінічній практиці потребує великої кількості клітинного матеріалу. Це у свою чергу стимулює удосконалення умов культивування, які дозволять отримати більшу кількість клітинного матеріалу за менший проміжок часу. З літературних даних відомо що фактор росту фібробластів (FGF-2) [12] та інсуліноподібний фактор росту (IGF-1) [13] здатні позитивно впливати на мітотичну активність стовбурових клітин.

Зважаючи на відмінності клітинного складу культур отриманих з різних джерел різним буде і вплив FGF-2 та IGF-1.

Тому нашою метою було дослідження впливу інсуліноподібного фактору росту (IGF-1) та фактору росту фібробластів (FGF-2) у різних концентраціях на проліферативну активність та генетичну стабільність культур стовбурових клітин отриманих з кісткового мозку, жирової тканини та міокарду kota.

Матеріали і методи дослідження. У досліді для отримання культур клітин використовували жирову тканину, кістковий мозок та тканину міокарда котів. Всі маніпуляції з тваринами здійснювалися за попередньої згоди господарів та з дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 230 від 2006 року).

Отримання культури стовбурових клітин жирової тканини (КСКЖТ) здійснювали з підшкірної жирової клітковини дорослих кішок під час планової гістеректомії за стандартною методикою [14] у власній модифікації. Культуру стовбурових клітин кісткового мозку (КСККМ) отримували з кісткового мозку переважно стегнових кісток дорослих котів за стандартною методикою [14, 15]. Культуру стовбурових клітин міокарда (КСКМ) отримували із серця завмерлих плодів кошенят, що залишалися після надання рододопомоги модифікованим методом експланту [14].

Одержану клітинну масу культивували у стандартному середовищі: 80% – DMEM; 20% – FBS; 10 мкл/см³ – антибіотика-антимікотика («Sigma», США); у CO₂ інкубаторі за 37°C та 5% концентрації CO₂ [15], до конфлюентності 90–95%. Клітини знімали за стандартною методикою (розчином 0,25% трипсин/ЕДТА) [15].

У досліді використовували стовбурові клітини 3 пасажу. Пасажування здійснювалось у розведенні 1:5. Клітини культивували у стандартному середовищі: 80% – DMEM; 20% – FBS; 10 мкл/см³ – антибіотика-антимікотика («Sigma», США) з додаванням:

1. інсуліноподібного фактору росту (IGF-1) («Sigma», США) у концентрації 10, 20 та 50 нг/мл (n=3);
2. фактору росту фібробластів (FGF-2) («Sigma», США) у концентрації 10, 20 та 50 нг/мл (n=3);
3. контроль (культивування у стандартному культуральному середовищі) (n=3).

Підрахунок кількості клітин здійснювали після досягнення конфлюентності 95–100% у одній із досліджуваних груп чашок (КСКМ – 2 доба, КСКЖТ – 3 доба, КСКМ – 2 доба). Додатково визначали індекс проліферації:

$$ІП = \frac{ПП}{ПК} \times 100\%,$$

де: ІП – індекс проліферації;

ПП – кількість клітин після пасажування;

ПК – посадкова кількість клітин.

Мікроскопічний аналіз і оцінку культур здійснювали за допомогою інвертованого мікроскопа Axiovert 40 (Карл Цейс).

Додатково проводили цитогенетичний аналіз культур. Дослідження проводили на 50 метафазних пластинках у кожному із досліджуваних зразків (n=3). Для отримання препаратів хромосом використовували модифікацію стандартного цитогенетичного методу [16, 15]. Отримані препарати фарбували за допомогою набору «Лейкодиф 200», згідно інструкції виробника. Аналіз метафазних пластинок здійснювали за допомогою мікроскопа Leica DMR (Німеччина), збільшення $\times 400$, $\times 1000$.

Результати досліджень та їх обговорення. В процесі дослідження ми відмічали відмінності у впливі різних факторів росту на проліферативну активність клітин у культурі.

Додавання IGF-1 до культурального середовища КСКМ та КСКМ призвело до збільшення індексу проліферації у вказаних культурах (рис.1, а). Варто відмітити, що збільшення концентрації даного фактору росту у середовищі корелювали зі збільшенням індексу проліферації. Так, за концентрації IGF-1 50 нг/мл індекс проліферації КСКМ та КСКМ був вище у порівнянні з контролем у 1,4 та 2,0 разів відповідно (табл. 1). У КСКЖТ відмічали зворотну закономірність: за концентрації IGF-1 10 нг/мл індекс проліферації був у 1,4 рази вище контролю (табл. 1) (рис. 2, а), тоді як концентрація IGF-1 50 нг/мл призвела до зниження індексу проліферації у 1,8 разів нижче контролю.

Таблиця 1

Залежність проліферативної активності стовбурових клітин отриманих з різних джерел від концентрації IGF-1, $M \pm m$, n = 3

Культура клітин	Концентрація IGF-1 у культуральному середовищі			Контроль
	10 нг/мл	20 нг/мл	50 нг/мл	
Індекс проліферації				
КСКМ	1,66 ± 0,05*	1,82 ± 0,05***	2,08 ± 0,07***	1,44 ± 0,05
КСКЖТ	2,67 ± 0,08**	2,08 ± 0,06	1,06 ± 0,09**	1,85 ± 0,11
КСКМ	2,41 ± 0,07***	2,66 ± 0,13***	3,65 ± 0,15***	1,81 ± 0,10

Примітки: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 порівняно з контрольною групою.

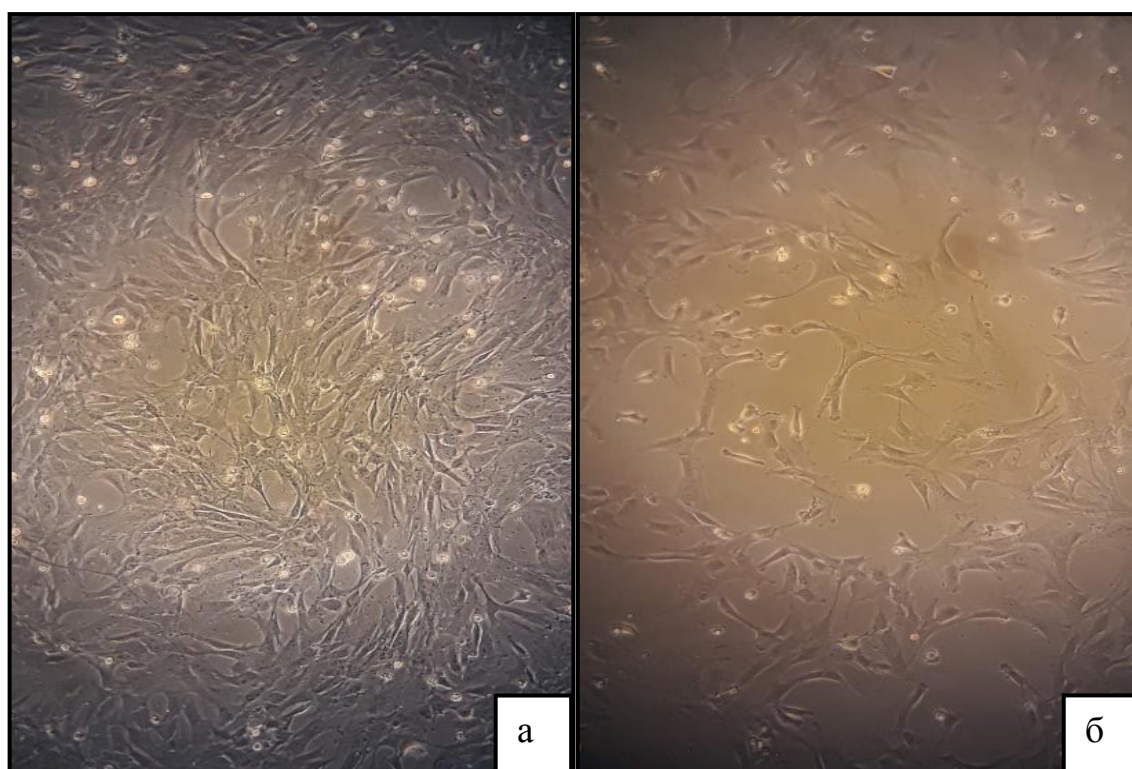


Рис. 1. Мікрофотографії культур стовбурових клітин кісткового мозку за впливу різних мітогенів: а) 50 нг/мл IGF-1; б) контроль (нативні препарати, $\times 100$).

IGF-1 (соматомедин С) структурно подібний до інсуліну, чим пояснюється здатність даного фактору росту зв'язувати (з низькою спорідненістю) рецептор інсуліну [16]. Також це мітоген для більшості клітин, і може діяти як інсулін [13]. На даний час існують суперечливі дані, щодо впливу IGF-1 на проліферацію клітин *in vitro*. За даними Ren та ін. [17] та Kaplan та ін. [17] IGF-1 може стимулювати ріст, проліферацію та диференціацію багатьох типів клітин, включаючи кардіоміоцити, клітини гладких м'язів та судин, як *in vivo* та *in vitro* та інгібують апоптоз і некроз клітин. Отримані дані корелюють з показниками отриманими нами у групі чашок з КСКМ. У той час як Li Y. та ін [19] відзначають, що МСК, що культивувались *in vitro* з IGF-1 у кінцевих концентраціях 2,5; 5,0 та 10,0 нг/мл протягом 48 годин, проте не змінили швидкості проліферації. У наших дослідженнях при додаванні IGF-1 до культурального середовища ми відмічали підвищення індексу проліферації КСКМ та КСКМ порівняно з контролем. Індекс проліферації вище зазначених культур зростав із підвищенням концентрації IGF-1, проте у КСКЖТ спостерігали зворотній ефект, а саме зниження індексу проліферації з підвищенням концентрації IGF-1 у середовищі.

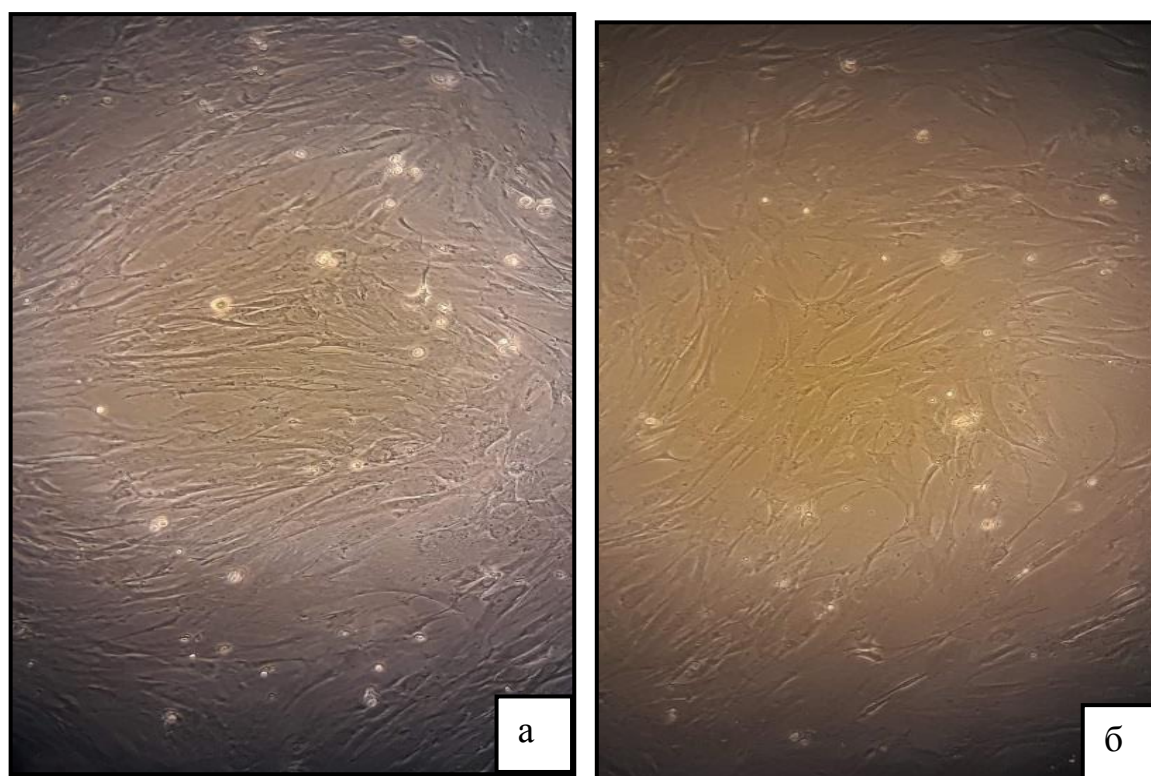


Рис. 2. Мікрофотографії культур стовбурових клітин жирової тканини за впливу різних мітогенів: а) 10 нг/мл IGF-1; б) контроль (нативні препарати, $\times 100$).

При дослідженні FGF-2 нами було виявлено відмінності у його впливі на проліферативну активність клітин, який залежав від походження культури клітин, а також від його концентрації у культуральному середовищі.

Найбільш виражений вплив FGF-2 відмічався на КСКМ (табл. 2) та (рис. 3, а). За концентрації даного фактору росту 10 нг/мл індекс проліферації збільшився у 2,7 разів у порівнянні контролем. Відмічали кореляцію між збільшенням концентрації FGF-2 та зниженням індексу проліферації у культурі.

Таблиця 2

Залежність проліферативної активності стовбурових клітин отриманих з різних джерел від концентрації FGF-2, $M \pm m$, $n = 3$

Культура клітин	Концентрація FGF-2 у культуральному середовищі			Контроль
	10 нг/мл	20 нг/мл	50 нг/мл	
Індекс проліферації				
КСКМ	1,69 \pm 0,04 **	1,28 \pm 0,03*	0,74 \pm 0,02	1,44 \pm 0,05
КСКЖТ	2,43 \pm 0,05**	1,81 \pm 0,06	1,56 \pm 0,08	1,85 \pm 0,11
КСКМ	4,84 \pm 0,11***	3,87 \pm 0,22***	2,51 \pm 0,06***	1,81 \pm 0,10

Примітки: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

Значно нижчий стимулюючий ефект FGF-2 відмічали у КСКМ та КСКЖТ, так за додавання 10 нг/мл індекс проліферації у досліджуваних культурах збільшився у 1,2 та 1,3 рази відповідно (табл. 2). Зі збільшенням

концентрації даного фактору росту у середовищі індекс проліферації пропорційно знижувався (нижче контрольної групи).

FGF-2 – багатофункціональний фактор росту, який впливає на різні властивості, включаючи індукцію проліферації та диференціації клітин, має вплив на широкий спектр клітин мезодермального і нейро-ектодермального походження [20], чим пояснюється його стимулюючий вплив на досліджувані культури клітин. За даними Gospodarowicz et al [21] даний фактор росту стимулює проліферацію ендотеліальних клітин, що містяться у всіх досліджуваних культурах. Окрім того, дані Hasegawa, T. et al. [22] вказують не лише на стимулюючий вплив на ендотеліальні клітин, а й на зміни фенотипу у бік характерний для ендотеліальних клітин за додавання FGF-2. Інгібуючий вплив FGF-2 за збільшення концентрації у культуральному середовищі залишається до кінця незрозумілим.

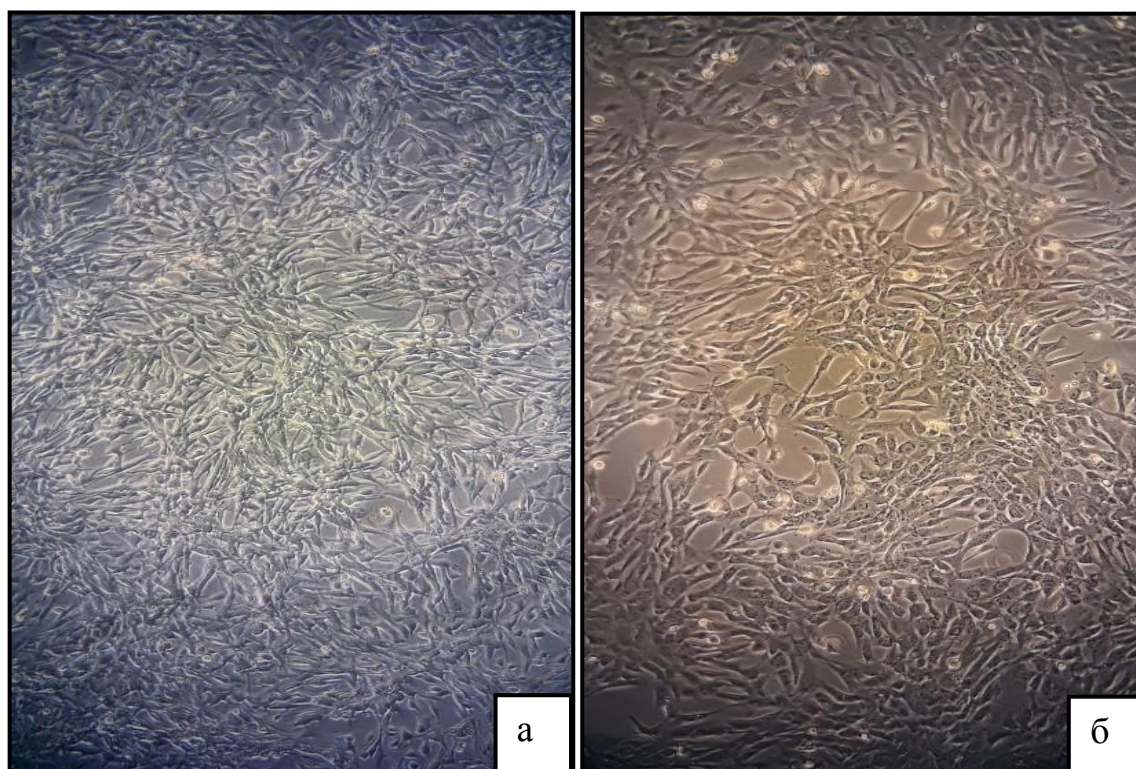


Рис. 3. Мікрофотографії культур стовбурових клітин міокарда за впливу різних мітогенів: а) 10 нг/мл FGF-2; б) контроль (нативні препарати, $\times 100$).

Для подальшого використання стовбурових клітин у клінічній практиці необхідно підтвердження її генетичної стабільності. Оскільки прискорення проліферації може призвести до збільшення кількості генетичних помилок у культурі, нами було вирішено додатково провести цитогенетичний аналіз (рис. 4) дослідних груп з найвищим індексом проліферації (табл. 3).

За даними цитогенетичного аналізу додавання факторів росту у культуральне середовище не призводить до достовірного збільшення кількості генетичних помилок (у порівнянні з контролем) у всіх досліджуваних культурах.

Результати цитогенетичного аналізу культур клітин kota за впливу факторів росту, $M \pm m$, $n = 3$

Культура клітин	IGF-1		FGF-2	Контроль
	10 нг/мл	50 нг/мл	10 нг/мл	
	Нормальний каріотип, %			
КСККМ	80,0 ± 1,3	-	81,3 ± 0,9	79,3 ± 0,9
КСКЖТ	-	86,0 ± 1,3	86,7 ± 0,9	88,7 ± 0,8
КСКМ	89,3 ± 2,2	-	88,7 ± 0,9	90 ± 1,3

Примітки: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

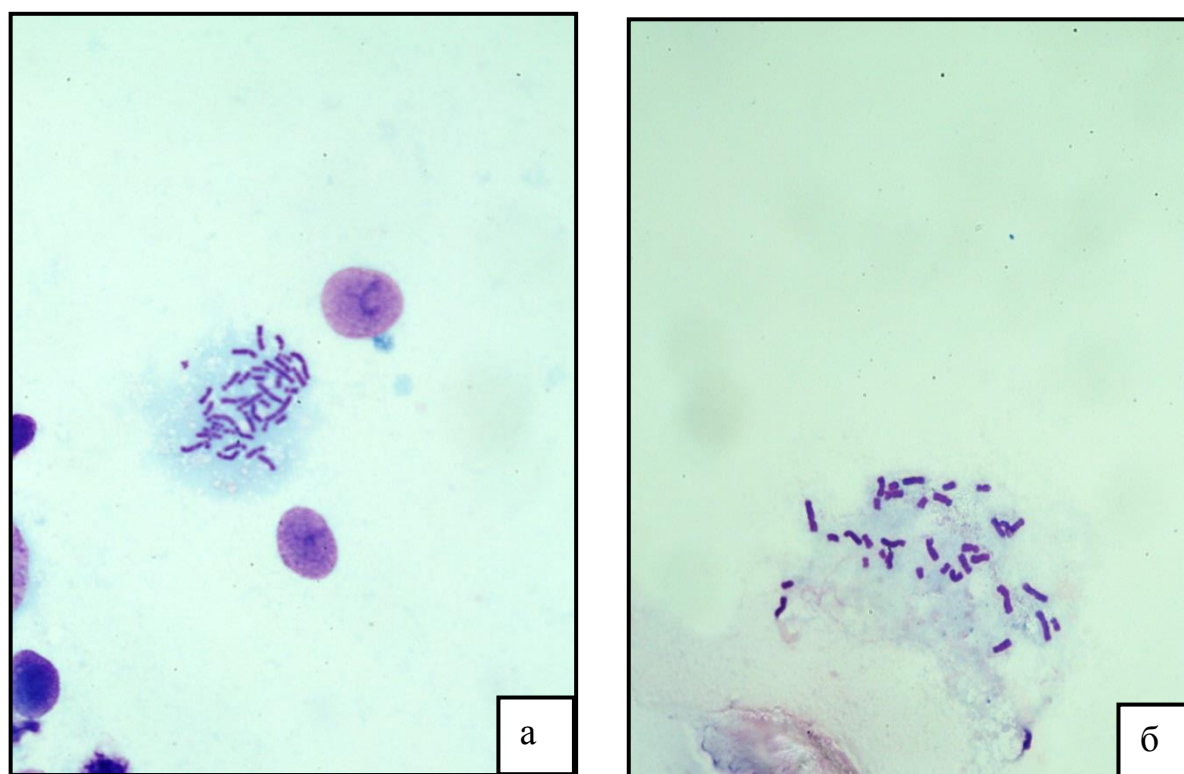


Рис. 4. Мікрофотографії метафазних платстинок клітин kota: а) нормальний каріотип, $n=38$; б) анеуплоїдія, $n=35$ (фарбування «Лейкодиф 200», $\times 1000$).

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Культура стовбурових клітин міокарда є найбільш сприйнятливою до досліджуваних факторів росту. Вплив останніх на культуру стовбурових клітин кісткового мозку та жирової тканини був на одному рівні.

2. Інсуліноподібний фактор росту позитивно впливав на проліферативну активність всіх досліджуваних культур. Оптимальною для КСККМ та КСКМ є концентрація 50 нг/мл, для КСКЖТ – 10 нг/мл, що дозволяє підвищити індекс проліферації у 1,4; 2,0 та 1,4 рази відповідно (порівняно з контролем).

3. Оптимальною для всіх досліджуваних культур є концентрація фактору росту фібробластів-2 10 нг/мл, що дає змогу підвищити індекс

проліферації у 1,2, 1,3 та 2,7 рази порівняно з контролем для КСККМ, КСКЖТ та КСКМ відповідно.

4. За даними цитогенетичного аналізу додавання факторів росту у культуральне середовище не призводить до достовірного збільшення кількості генетичних помилок (у порівнянні з контролем) у всіх досліджуваних культурах.

Результати отримані у процесі дослідження у подальшому будуть використані для впровадження клітинних технологій у ветеринарну практику.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hill J.M. Outcomes of granulocyte colony-stimulating factor administration to patients with severe coronary artery disease / J.M. Hill, M.A. Syed, A.E. Arai et al // *Circulation*. – 2004. – Vol.110 (suppl III). – P. 352.
2. Smits P.C. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up / P.C. Smits, R.J. van Geuns, D. Poldermans et al. // *J Am Coll Cardiol*. – 2003. – Vol.42. – P. 2063–2069.
3. Pontikoglou C. Bone marrow mesenchymal stem cells: biological properties and their role in hematopoiesis and hematopoietic stem cell transplantation / C. Pontikoglou, F. Deschaseaux, L. Sensebé et al. // *Stem Cell Rev*. – 2011. – №7(3). – P. 569–589.
4. Nolan D.J. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells are a major determinant of nascent tumor neovascularization / D.J. Nolan, A. Ciarrocchi, A.S. Mellick et al // *Genes Dev*. – 2007. – № 21(12). – P. 1546–1558.
5. Wiedemann A. Induced pluripotent stem cells generated from adult bone marrow-derived cells of the nonhuman primate (*Callithrix jacchus*) using a novel quad-cistronic and excisable lentiviral vector / A. Wiedemann, K. Hemmer, I. Bernemann et al. // *Cell Reprogram*. – 2012. – №14(6). – P. 485–496.
6. Hima Bindu A. Potency of various types of stem cells and their transplantation / A. Hima Bindu, B. Srilatha // *J Stem Cell Res Ther*. – 2011. – №1. – P. 115.
7. Han J. Adipose tissue is an extramedullary reservoir for functional hematopoietic stem and progenitor cells / J. Han, Y. J. Koh, H.R. Moon et al. // *Blood*. – 2010. – №115. – P. 957–964
8. Mahmoudifar N. Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Adipose Tissue / N. Mahmoudifar, P.M. Doran // *Methods Mol Biol*. – 2015. – №1340. – P. 53–64.
9. Xue S. Functional endothelial progenitor cells derived from adipose tissue show beneficial effect on cell therapy of traumatic brain injury / S. Xue, H. T. Zhang, P. Zhang et al. // *Neurosci Lett*. – 2010. – №473(3). – P. 186–191.
10. Sengenès C. Preadipocytes in the human subcutaneous adipose tissue display distinct features from the adult mesenchymal and hematopoietic stem cells /C. Sengenès, K. Lolmède, A. Zakaroff-Girard // *J Cell Physiol*. – 2005. – №205(1). – P. 114–122.
11. Bearzi C. Human cardiac stem cells / C. Bearzi, M. Rota, T. Hosoda // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2007. – №104(35). – P. 14068–14073.
12. Ratajczak M.Z. Effect of basic (FGF-2) and acidic (FGF-1) fibroblast growth factors on early haemopoietic cell development / M.Z. Ratajczak, J. Ratajczak, M. Skorska et al. // *Br J Haematol*. – 1996. – №93(4). – P. 772–782.
13. Niedźwiedzka A. Insulin-like growth factor 1 (somatomedin C) and its binding proteins 1 and 3 in children with special consideration of diabetes / A. Niedźwiedzka // *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw*. – 2000. – №6(1). – P. 51–58.
14. Ian Freshney R. Culture of animal cells: a manual of basic technique / R. Ian Freshney. – [5th ed.] – USA: John Wiley & Sons. – 2005. – 642 p.
15. Мазуркевич А.Й., Ковпак В.В., Данілов В.Б. Клітинні технології у ветеринарній медицині // Навчальний посібник – К.: КОМПРИНТ. – 2014. – 132 с.

16. Laron Z. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone / Z. Laron // *Molecular Pathology*. – 2001. – №54(5). – P. 311–316.
17. Ren J. Insulin-like growth factor I as a cardiac hormone: physiological and pathophysiological implications in heart disease / J. Ren, W.K. Samson, J.R. Sowers // *J Mol Cell Cardiol*. – 1999. – №31(11). – P. 2049–2061.
18. Kaplan R.C. Insulin-like growth factors and coronary heart disease / R.C. Kaplan, H.D. Strickler, T.E. Rohan et al. // *Cardiol Rev*. – 2005. – №13(1). – P. 35–39.
19. Li Y. Insulin-like growth factor 1 enhances the migratory capacity of mesenchymal stem cells / Y. Li, X. Yu, S. Lin et al. // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2007. – №356(3). – P. 780–784.
20. Tassi E. Enhancement of fibroblast growth factor (FGF) activity by an FGF-binding protein / E. Tassi, A. Al-Attar, A. Aigner et al. // *J Biol Chem*. – 2001. – №276(43). – P. 40247–40253.
21. Gospodarowicz D. Isolation of bovine pituitary fibroblast growth factor purified by fast protein liquid chromatography (FPLC). Partial chemical and biological characterization / D. Gospodarowicz, S. Massoglia, L. Cheng et al. // *J. Cell. Physiol*. – 1985. – №122. – P. 323–328.
22. Hasegawa T. Effect of fibroblast growth factor-2 on dental pulp cells derived from human deciduous teeth in vitro / T. Hasegawa, N. Chosa, T. Asakawa et al. // *Experimental and Therapeutic Medicine*. – 2010. – №1. – P. 477–480.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ (FGF-2) И ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА (IGF-1) НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОТА / Ковпак О. С., Ковпак В.В., Мазуркевич А.И., Гудзь Н.В.

Исследовано влияние фактора роста фибробластов (FGF-2) и инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) в различных концентрациях на пролиферативную активность и генетическую стабильность стволовых клеток полученных из костного мозга, жировой ткани и миокарда кота. Установлено, что инсулиноподобный фактор роста и фактор роста фибробластов положительно влияет на пролиферативную активность всех исследуемых культур. По данным цитогенетического анализа определено, что добавление факторов роста в культуральную среду не приводит к достоверному увеличению количества генетических ошибок (по сравнению с контролем) во всех исследуемых культурах.

Ключевые слова: фактор роста фибробластов (FGF-2), инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), стволовые клетки, культура клеток костного мозга, культура клеток жировой ткани, культура клеток миокарда, коты, цитогенетический анализ.

EFFECT OF FIBROBLASTS GROWTH FACTOR (FGF-2) AND INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF-1) ON THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF STEM CELLS OF CAT / Kovpak O., Kovpak V., Mazurkevich A., Hudz N.

Introduction. Cell technologies implementation in clinical practice requires a large amount of cellular material. This stimulates the improvement of cultivation conditions, which will allow to obtain more cellular material over a shorter period of time. From literature data, it is known that fibroblast growth factor (FGF-2) and insulin-like growth factor (IGF-1) can positively affect the mitotic activity of stem cells.

Therefore, **the goal of the work** was to investigate the effect of fibroblast growth factor (FGF-2) and insulin-like growth factor (IGF-1) in various concentrations on proliferative activity and genetic stability of stem cell cultures derived from bone marrow, adipose tissue and cat's myocardium.

Materials and methods. In research we used third passage of stem cells of fat tissue, bone marrow and myocardium. Passage was carried out in the 1:5 dilution. Cells were cultured in a standard medium: 80% DMEM; 20% – FBS; 10 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ – antibiotic-antimycotic with the addition of:

1. Insulin-like growth factor (IGF-1) at concentration of 10, 20 and 50 ng/ml;
2. Fibroblast growth factor (FGF-2) at concentration of 10, 20 and 50 ng/ml;
3. Control (cultivation in a standard culture medium).

Results of research and discussion. It was found that the FGF-2 has a positive effect on the proliferative activity of stem cells in cell cultures of adipose tissue, cardiac muscle and bone marrow of cat at low concentrations (10 ng/ml). IGF-1 has a positive effect on the proliferative activity of stem cells in cell cultures of bone marrow and cardiac muscle of cat at high concentrations (50 ng/ml), while the effect on the cell culture of adipose tissue stem cells was the opposite. According to the cytogenetic analysis it was found that adding FGF-2/IGF-1 to the culture media does not lead to a significant increase in the number of genetic errors in all the studied cell cultures.

Conclusion and prospects for further research. It was established that IGF-1 and FGF-2 positively influence the proliferative activity of all studied cultures. According to the cytogenetic analysis, it was determined that the addition of growth factors to the culture medium does not lead to a significant increase in the number of genetic errors (in comparison with the control) in all the studied cultures. The results obtained in the research will be used for the introduction of cell technologies into veterinary practice.

Keywords: fibroblast growth factor (FGF-2), insulin-like growth factor (IGF-1), stem cells, bone marrow cell culture, adipose tissue culture, myocardial cell culture, cats, cytogenetic analysis.

REFERENCES

1. Hill, J.M., Syed, M.A., Arai, A.E., et al. (2004). Outcomes of granulocyte colony-stimulating factor administration to patients with severe coronary artery disease. *Circulation*, 110 (suppl III), 352.
2. Smits, P.C., van Geuns, R.J., Poldermans, D., et al. (2003). Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *J Am Coll Cardiol*, 42, 2063-2069.
3. Pontikoglou, C., Deschaseaux, F., Sensebé, L., et al. (2011). Bone marrow mesenchymal stem cells: biological properties and their role in hematopoiesis and hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cell Rev*, 7 (3), 569-589.
4. Nolan, D.J., Ciarrocchi, A., Mellick, A.S., et al. (2007). Bone marrow-derived endothelial progenitor cells are a major determinant of nascent tumor neovascularization. *Genes Dev*, 21(12), 1546-1558.
5. Wiedemann, A., Hemmer, K., Bernemann, I., et al. (2012). Induced pluripotent stem cells generated from adult bone marrow-derived cells of the nonhuman primate (*Callithrix jacchus*) using a novel quad-cistronic and excisable lentiviral vector. *Cell Reprogram*, 14 (6), 485-96.
6. Hima Bindu, A. & Srilatha, B. (2011). Potency of various types of stem cells and their transplantation. *J Stem Cell Res Ther*, 1, 115.
7. Han, J., Koh, Y.J., Moon, H.R., et al. (2010). Adipose tissue is an extramedullary reservoir for functional hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 115, 957-964.
8. Mahmoudifar, N. & Doran, P.M. (2015). Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Adipose Tissue. *Methods Mol Biol*, 1340, 53-64.
9. Xue, S., Zhang, H.T., Zhang, P. et al. (2010). Functional endothelial progenitor cells derived from adipose tissue show beneficial effect on cell therapy of traumatic brain injury. *Neurosci Lett*, 473 (3), 186-191.
10. Sengenès, C., Lolmède, K. & Zakaroff-Girard, A. (2005). Preadipocytes in the human subcutaneous adipose tissue display distinct features from the adult mesenchymal and hematopoietic stem cells. *J Cell Physiol*, 205(1), 114-122.

11. Bearzi, C., Rota, M. & Hosoda, T. (2007). Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(35), 14068-14073.
12. Ratajczak, M.Z, Ratajczak, J., Skorska, M. et al. (1996). Effect of basic (FGF-2) and acidic (FGF-1) fibroblast growth factors on early haemopoietic cell development. *Br J Haematol*, 93(4), 772-782.
13. Niedźwiedzka, A. (2000). Insulin-like growth factor 1 (somatomedin C) and its binding proteins 1 and 3 in children with special consideration of diabetes. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw*, 6(1), 51-58.
14. Ian, Freshney R. (2005). *Culture of animal cells: a manual of basic technique*. (5th ed). USA: John Wiley & Sons.
15. Masurkewitsch, A.J., Kowpak, V.V. & Danilow, W.B. (2014). *Klitinni technologii u weterinarnij medizini. Nawtschal'nij pocibnik [Cellular technologies in veterinary medicine. Manual]*. Kyev: KOMPRINT [in Ukrainian].
16. Laron, Z. (2001). Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Molecular Pathology*, 54 (5), 311-316.
17. Ren, J., Samson, W.K. & Sowers, J.R. (1999). Insulin-like growth factor I as a cardiac hormone: physiological and pathophysiological implications in heart. *J Mol Cell Cardiol*, 31 (11), 2049-2061.
18. Kaplan, R.C., Strickler, H.D., Rohan, T.E. et al. (2005). Insulin-like growth factors and coronary heart disease. *Cardiol Rev*, 13 (1), 35-39.
19. Li, Y., Yu, X., Lin, S. et al. (2007). Insulin-like growth factor 1 enhances the migratory capacity of mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 356 (3), 780-784.
20. Tassi, E., Al-Attar, A., Aigner, A. et al. (2001). Enhancement of fibroblast growth factor (FGF) activity by an FGF-binding protein. *J Biol Chem*, 276 (43), 40247-40253.
21. Gospodarowicz, D., Massoglia, S., Cheng, L. et al. (1985). Isolation of bovine pituitary fibroblast growth factor purified by fast protein liquid chromatography (FPLC). Partial chemical and biological characterization. *J. Cell. Physiol*, 122, 323-328.
22. Hasegawa, T., Chosa, N., Asakawa, T. et al. (2010). Effect of fibroblast growth factor-2 on dental pulp cells derived from human deciduous teeth in vitro. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 1, 477-480.