

## ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК 591.88:616-089.843:591.481.1:616-005.4-092.9

# ДИНАМІКА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ РІЗНИХ ВАРІАНТАХ ТКАНИННОЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ З МЕТОЮ АКТИВАЦІЇ АНГІОГЕНЕЗУ НА МОДЕЛІ ФОКАЛЬНОЇ ЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ В ЩУРІВ



Ярмолук Євгеній Сергійович,  
i.iarmoliuk@ukr.net

Ярмолук Є.С.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

**Ключові слова:** неврологічний дефіцит, оклюзія середньої мозкової артерії, постішемічний ангіогенез, поведінкове тестування, суспензія кісткового мозку, ембріональна нервова тканина.

**Вступ.** Нейротрансплантація розглядається дослідниками як один із перспективних напрямків відновного лікування пацієнтів із ішемічним інсультом (ІІ) [1,3,9]. Результати численних досліджень із клінічної трансплантації здебільшого орієнтовані на морфологічні дані і обмежуються кількісними показниками об'єму ділянки інфаркту мозку та іншими морфометричними показниками (кількість і розподіл клітинних елементів, судин, факторів росту тощо) [7,8]. Оскільки ефективність клітинної і тканинної терапії проявляється в різні терміни після оклюзії середньої мозкової артерії (ОСМА), для отримання вірогідних результатів необхідно проводити функціональне тестування у чітко визначеному часовому діапазоні з урахуванням закономірностей розгортання репаративних механізмів (нейро- та ангіогенез) у тканинах мозку [6,10]. Враховуючи відсутність даних щодо порівняльної ефективності найбільш доступних засобів нейротрансплантації (ембріональна нервова тканина і кістковий мозок) з точки зору їх впливу на постішемічний церебральний ангіогенез, особливої актуальності набуває дослідження динаміки відновлення неврологічних функцій у лабораторних щурів у фіксовані строки на моделі ІІ.

**Мета дослідження:** проаналізувати динаміку неврологічних порушень у щурів із фокальною церебральною ішемією при різних варіантах тканинної трансплантації, спрямованої на активацію ангіогенезу в ділянці ішемічного ушкодження мозку.

**Матеріали і методи.** У дослідженні використано 72 білі щурі-самці з масою тіла 280-320 г, поділених на 4 групи, по 18 тварин у кожній: **контрольна** – тварини, яким моделювали фокальну церебральну ішемію (ФЦІ) за допомогою модифікованої нами методики перманентної інтралюмінальної монофіламентної оклюзії правої середньої мозкової артерії, **дослідну №1** – тварини, яким після ОСМА проводили інтрацеребральну трансплантацію аlogenної ембріональної нервової тканини (ТЕНТ), **дослідну №2** – тварини, яким після ОСМА проводили інтрацеребральну трансплантацію тканини аlogenного кісткового мозку (ТКМ), **дослідну №3** – тварини, яким після ОСМА проводили інтрацеребральну інфузію 0,9% фосфат-буферного розчину (ФБР) натрію хлориду (контроль трансплантації).

Усі дослідні процедури проводилися в суворій відповідності до "Правил виконання робіт з використанням експериментальних тварин", затверджених МОЗ України. Функціональне тестування тварин проводили згідно з розробленим нами протоколом на 1, 3, 7, 14, 21 і 28 добу після ОСМА, тест постановки лапи у відповідь на подразнення вібрисів – на 3, 7, 14, 21 і 28 добу.

**Моделювання фокальної церебральної ішемії** здійснювали за модифікованою нами методикою оклюзії середньої мозкової артерії за допомогою монофіламентів із силіконовим покриттям (Dossol corp., США) та супутньою оклюзією колатералей, детально описаною в попередніх роботах [4].

**Одержання суспензії ембріональної нервової тканини (ЕНТ).** Ембріони на 15-16 день гестації вилучали шляхом кесаревого розтину вагітних самок щурів і переносили у чашку Петрі зі стерильним розчином, який містив розчин Хенкса (HBSS), без іонів  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$ , 0,6% розчин глюкози, 10 мМ розчин HEPES. Після цього плоди декапітували і виділяли півкулі головного мозку, які переносили до наступної чашки Петрі з вищезазначеним розчином. Під операційним мікроскопом при збільшенні 16x з півкуль мозку виділяли фрагменти смугастого тіла та прилеглі ділянки кори мозку, які збирали в наступній чашці Петрі з розчином DMEM, після чого піддавали їх механічній дисоціації. Отриману суспензію центрифугували при 1200 об/хв протягом 5 хв і отриманий осад ресуспендували DMEM до об'єму 5,0 мл із концентрацією 10 000 живих клітин/мкл.

**Одержання суспензії кісткового мозку.** Суспензію кісткового мозку стовбурових клітин одержували з діафізів стегнових кісток інтактних самців білих щурів за методикою, розробленою співробітниками лабораторії експериментальної нейрохірургії ДУ “Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України” [2]. Одержану завесь кісткового мозку відмивали від формених елементів крові підігрітим до  $37^{\circ}\text{C}$  0,9% розчином натрію хлориду, а потім очищували та подрібнювали за допомогою багаторазового піпетування у пробірці з 0,1 М розчином фосфатного буферу (рН – 7,4) протягом 10 хв. і поміщали у флакон з 5 мл даного розчину. Далі вміст флакону центрифугували при швидкості 2 тис. об/хв протягом 20 хв. і відбирали 1 мл центрифугату. Для трансплантації відбирали 20 мкл суспензії, попередньо ресуспендуючи вміст пробірки. За літературними даними, у 10 мкл даного розчину міститься близько 5 млн. мезенхімальних стовбурових клітин [3].

**Інтрацеребральна тканинна трансплантація.** Під інтраперитонеальним наркозом (седазин – 10 мг/кг і калісол – 75 мг/кг маси тіла) тварину фіксували в стереотаксичному апараті СЕЖ-4 у положенні на животі. До бічних штанг стереотаксичного апарату приєднували мікроманіпулятор, всередині якого містилася скляна канюля із кінчиком довжиною 5 мм і діаметром 0,2 мм. До скляної канюлі під'єднували мікрокатетер 20 G, який, у свою чергу, з'єднували зі шприцем Гамільтона об'ємом 25 мкл, заповненим, залежно від умов експерименту, суспензією кісткового мозку (20 мкл,  $1\text{C}10^6$  клітин) або ЕНТ (20 мкл,  $2\text{C}10^5$  клітин). Шприц Гамільтона закріплювали в автоматичному мікроін'єкторі (Harvard Apparatus, США). Із серединного розрізу м'яких тканин голови щура скелетували підлеглу кістку та накладали фрезевий отвір згідно із нижчезазначеними координатами. Тверду мозкову оболонку розтинали за допомогою ін'єкційної голки 26G. Далі зі швидкістю 5 мкл/хв вводили тканинну суспензію у смугасте тіло праворуч згідно із такими координатами: 0,3 мм дозду від брегми, 3 мм латерально від середньої лінії і 4,0 мм вглиб від твердої мозкової оболонки. Після ін'єкції канюлю залишали на 5 хв. у порожнині черепа з метою рівномірного розподілу суспензії та запобігання її витіканню. Потім голку

виймали, а фрезевий отвір закривали медичним воском (Bone wax, Ethicon). М'які тканини зашивали пошарово.

При виборі терміну проведення аутогенної трансплантації (2 доба після моделювання ОСМА) послуговувалися літературними даними та даними, отриманими щодо динаміки відновних процесів у групі “контроль”. Виходячи із даних численних досліджень [3,5,6], ми припускали, що специфічний ефект трансплантації ЕНТ і суспензії кісткового мозку проявляється повною мірою на стадії ранньої нейросудинної репарації, яка починається на 1-2 добу у контрольній групі.

**Оцінка неврологічного дефіциту** проводилася згідно з розробленим нами комплексним протоколом, який включає скринінгову шкалу оцінки контралатерального моторного дефіциту (шкала Bederson і співавт.), сенсорних розладів (тест із клейкою стрічкою – sticky tape test) і моторних розладів (тест ходіння по бруску, який звужується в кінці – ledge tapered beam-walking test) і сенсомоторної асиметрії (тест постановки передньої лапи у відповідь на стимуляцію вібрисів – vibrissae elicited forelimb placing test) [5].

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою пакету програм SPSS 20.0 (IBM, США) для операційної системи OS X 10.9 (Apple, США) із використанням двофакторного дисперсійного аналізу (Analysis of Variance – ANOVA) для загальних лінійних моделей із функцією повторних вимірювань і подальшою постпроцесинговою обробкою за допомогою тестів Bonferroni та Scheffe. Дані виражали у вигляді  $M \pm m$ , де  $M$  – середнє арифметичне, а  $m$  – стандартне квадратичне відхилення. Відмінності вважалися статистично вірогідними за умови  $p < 0,05$ .

**Результати та обговорення.** За шкалою Bederson і співавт., максимальний неврологічний дефіцит (середній бал –  $2,7 \pm 0,5$ ) спостерігався у тварин дослідної групи на 3 добу після ОСМА (рис.1). Останній мав тенденцію до поступового регресу контралатеральної флексії та циркумдукції у тварин контрольної групи на 28 добу після моделювання ОСМА. У групах із ТЕНТ і ТКМ середній показник суми балів вже на 3 добу (1 доба після трансплантації) був достовірно нижчий ( $1,9 \pm 0,4$  і  $1,3 \pm 0,5$ ), ніж у контрольній групі та групі плацебо-контролю ( $2,7 \pm 0,5$  і  $2,7 \pm 0,5$ , відповідно,  $p < 0,001$ ).

При цьому статистично вірогідні відмінності спостерігалися між зазначеними групами тварин протягом усього періоду спостереження, в тому числі між групами з ТЕНТ і ТКМ ( $p = 0,004$  згідно з Bonferroni і  $p = 0,008$  за Scheffe). Натомість достовірних відмінностей між контрольною групою та групою плацебо-контролю не спостерігалося ( $p = 1,0$  згідно з корекцією Bonferroni і  $p = 0,964$  за Scheffe). На фоні спонтанного регресу неврологічного дефіциту за даною шкалою, у дослідних групах №1 і №2 його темпи були вищими.

Руховий дефіцит у щурів проявлявся на 1 добу після моделювання ОСМА і мав тенденцію до незначного регресу та стабілізації до 28 доби спостереження (рис. 2). Відзначаються високодостовірні відмінності середнього показника моторної дисфункції між порівнюваними групами, з 3 (ОСМА –  $73,4 \pm 1,6$  порівняно з ТЕНТ –

66,6±1,4 та ТКМ – 59±2, p<0,001) по 28 добу дослідження (ОСМА – 53,9±1,3 порівняно з ТЕНТ – 36,8±0,8 та ТКМ – 21,9±1, p<0,001).

Темпи відновлення рухової функції протилежних кінцівок при ТЕНТ знижуються, починаючи з 14 доби, тоді як при ТКМ утримується позитивна динаміка з 14 по 21 добу.

ОСМА призводила до появи вираженого сенсорного дефіциту – ігнорування подразника на протилежній передній кінцівці шура (за даними тесту із клейкою стрічкою), а також до відсутності рефлексорних рухових відповідей на протилежній стороні при стимуляції вібрисів на 1 добу після моделювання.

Згідно з динамікою показника сенсорної асиметрії (рис. 3), у контрольній і дослідній групі №3 спостерігається незначне відновлення чутливої функції, максимально виражене з 1 по 3 добу, із тенденцією до стабілізації сенсорного дефіциту на 28 добу при відсутності статистично вірогідної різниці між групами (0,48±0,18 і 0,49±0,18 відповідно, p=1,0 згідно з корекцією Bonferroni і Scheffe). В той же час показники сенсорної асиметрії в дослідній групі №1 і №2 істотно відрізняються від зазначених протягом усього періоду спостереження, а також між собою (p<0,001).

Подібні результати одержані й при порівнянні динаміки показника сенсомоторної інтеграції згідно з тестом VERT (рис. 4). Водночас різниця між контрольною групою та групою плацебо-контролю виявилася несуттєвою (p=0,338 за Bonferroni, p=0,296 за Scheffe). Найбільша різниця між дослідною групою №1 і №2 відзначалася на

14 (62,3±1, і 71,7±1, відповідно при p<0,001) і 28 добу (79,1±1,3 і 90,3±1,1, відповідно, при p<0,001).

Вивчення функціональних і поведінкових наслідків при експериментальній розробці нових методів лікування ішемічного інсульту відіграє провідну роль в оцінці їх ефективності [10,11]. Серійне дослідження динаміки неврологічних порушень in vivo у різні терміни після моделювання ФЦІ вважається найбільш доцільним для оцінки ефективності тканинної трансплантації, яка спрямована на стимуляцію ендogenous нейрорепаративних процесів, зокрема ангиогенезу [5,8]. Механізми дії різних засобів і методів тканинної терапії при ФЦІ слід розглядати з позицій їх диференційованого впливу на просторово-часові параметри репаративних процесів в ураженій зоні [1,9]. Одержані нами дані свідчать про більш виражений і швидкий регрес неврологічного дефіциту у шурів із ОСМА при трансплантації тканини кісткового мозку порівняно з трансплантацією ЕНТ.

Дані численних досліджень із трансплантації МСК кісткового мозку на моделях ФЦІ свідчать про нерівномірну активацію регенеративних процесів в ділянці церебральної ішемії [3,7]. Не існує достатніх доказів анатомічної інтеграції та повноцінного заміщення загинувших клітин за рахунок диференціації МСК у функціонально повноцінні нейрони [4]. Найбільш обґрунтованою гіпотезою є секреція МСК трофічних чинників внаслідок взаємодії з мікрооточенням мозку реципієнта [3,4]. Інтерлейкіни та різноманітні фактори росту сприяють міграції імплантованих МСК, виживанню нейронів, аксональній регенерації та утворенню нових судин, а також можуть активувати нейро- і гліогенез у субентрикулярній зоні та субгранулярному шарі гіпокампа [7,9]. Окрім МСК, безпосередню роль у нейросудинній репарації після ФЦІ бере негемопоетична строма кісткового мозку. У відповідь на ішемію або цитокінову стимуляцію збільшується мітотична активність стромальних прогеніторів і ендотеліальних прогеніторних клітин кісткового

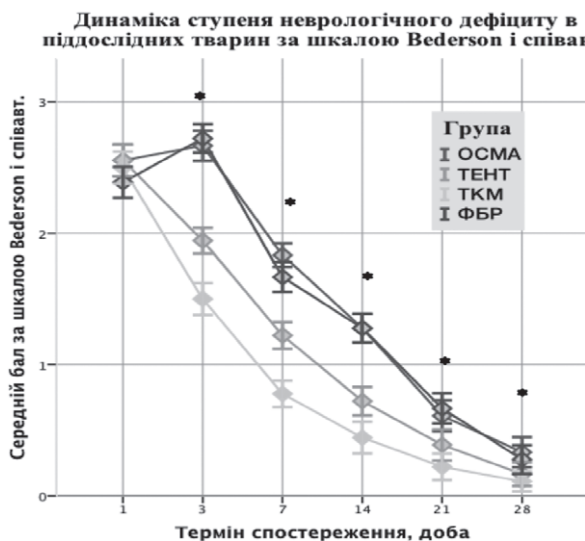


Рис. 1. Вплив тканинної трансплантації на зміну показника неврологічного дефіциту за шкалою Bederson і співавт.

**Примітки:** ОСМА – група “контроль” (перманентна оклюзія правої середньої мозкової артерії), ТЕНТ – група “дослід” №1 (перманентна оклюзія правої середньої мозкової артерії + інтрацеребральна трансплантація ембріональної нервової тканини), ТКМ – група “дослід” №2 (перманентна оклюзія правої середньої мозкової артерії + інтрацеребральна трансплантація кісткового мозку), ФБР – група “дослід” №3 (перманентна оклюзія правої середньої мозкової артерії + інтрацеребральна інфузія 0,9% фосфат-буферного розчину натрію хлориду). \* – статистично достовірні відмінності між групами “контроль” і “дослід” №3, з одного боку, і “дослід” №1 і “дослід” №2, з іншого, а також між групами “дослід” №1 і “дослід” №2 (p<0,001).

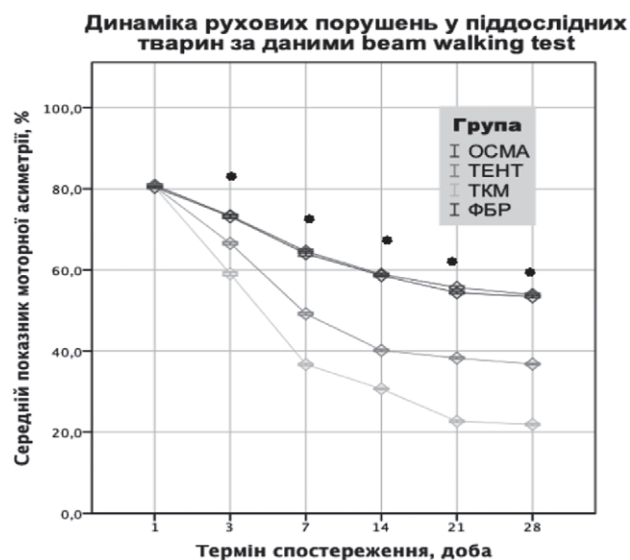


Рис. 2. Вплив тканинної трансплантації на зміну показника моторної асиметрії за даними beam walking test.

Умовні позначення – ті ж самі, що й на рис. 1.

мозку, які запускають процес неоваскуляризації у вогнищі запалення [12]. Швидший регрес неврологічного дефіциту у піддослідних під впливом ТКМ порівняно з ТЕНТ може бути пов'язаний із переважною активацією утворення нових синаптичних зв'язків за рахунок потужної трофічної підтримки та ангиогенезу [6,9].

Слід зазначити, що ступінь відновлення моторної функції значно переважав результати тестування сенсорних порушень. Це пояснюється дослідниками більш вибіркоким впливом МСК на рухові центри нової кори та смугастого тіла або нижчим порогом відновлення рухової функції [12]. Важливу роль у цьому відіграє міграція МСК із місця трансплантації (смугасте тіло) до кори іпси- та контралатеральної півкулі [9].

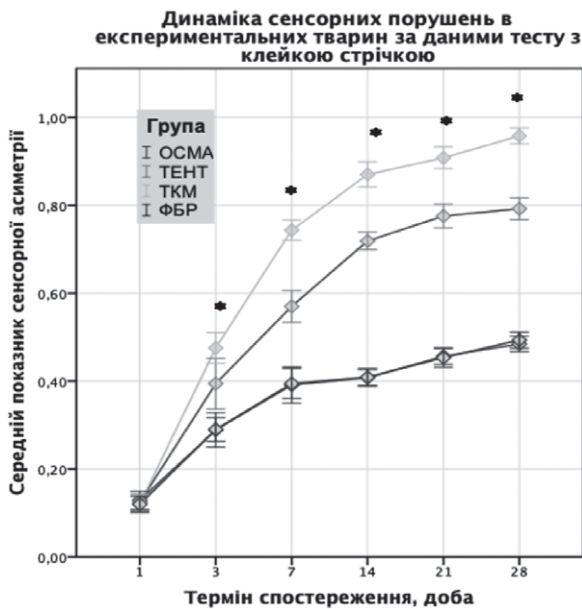


Рис. 3. Вплив тканинної трансплантації на зміну показника сенсорної асиметрії за даними тесту з клейкою стрічкою.

Умовні позначення – ті ж самі, що й на рис.1.

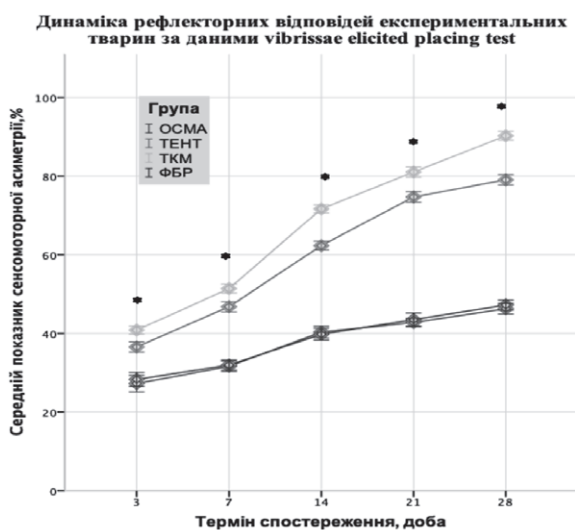


Рис. 4. Вплив тканинної трансплантації на зміну показника сенсомоторної інтеграції за даними vibrissae-elicited placing test.

Умовні позначення – ті ж самі, що й на рис.1.

**Висновки.** Інтрацеребральна трансплантація ЕНТ і тканини кісткового мозку призводить до регресу неврологічного дефіциту в піддослідних тварин із ОСМА. Позитивний вплив тканинної терапії, вірогідно, зумовлений передусім продукцією трофічних чинників, які сприяють виживанню нейронів, диференціації та міграції ендогенних НСК, аксональній регенерації та формуванню новоутворених судин в перинфарктній зоні. Більш виражений функціональний ефект ТКМ порівняно з ТЕНТ, з найбільшою ймовірністю, спричинений переважною активацією ангиогенезу та синаптогенезу, що призводить до ремоделювання нейронних мереж сенсорної та моторної модальності. Проведення порівняльних досліджень динаміки ендогенних репаративних процесів, зокрема, ангиогенезу, на морфологічному та функціональному рівні при тканинній трансплантації в умовах ФЦІ, дозволять обґрунтувати терміни, способи та засоби клінічного застосування тканини кісткового мозку та ембріональної нервової тканини в пацієнтів із ішемічним інсультом.

Рецензент: академік НАМН України, д.мед.н., професор Цимбалюк В.І.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Волков А.И., Лебедев С.В., Викторов И.В. и др. Влияние трансплантации нейрогенных стволовых клеток на восстановление функций ЦНС у крыс с инсультом в коре мозга // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2010. – №12. – с.64-72.
2. Патент 46029 Україна, МПК А61В17/00. Спосіб прижиттєвого забору клітин кісткового мозку щурів із стеговної кістки / Гридіна Н.Я., Медведєв В.В., Серкіз О.В. [та ін.]; заявник і патентотривласник ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Рогоданаова АМН України". – № 200904829; заявл. 23.02.2009; опубл.10.12.2009, бюл. № 23.
3. Применение мезенхимальных (стромальных) стволовых клеток костного мозга при экспериментальном монофиламентном инсульте у крыс / Скворцова В.И., Губский Л.В., Таирова Р.Т. [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2008. – № 1. – с. 14.
4. Цимбалюк В.І. Модифікована модель експериментального ішемічного інсульту в щурів з використанням монофіламентів із силіконовим покриттям / В.І. Цимбалюк, С.С. Ярмолюк // Український неврологічний журнал. – 2012. – № 4. – с. 97-105.
5. Ярмолюк С.С. Протокол оцінки стійких неврологічних порушень після моделювання фокальної церебральної ішемії в експерименті на щурах / С.С. Ярмолюк, В.І. Цимбалюк, О.І. Троян // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2013. – №1. – с. 26-31.
6. Beck H., Plate K.H. Angiogenesis after cerebral ischemia / H. Beck, K.H. Plate // Acta Neuropathol. – 2009. – V.117. – p. 481–496.
7. Chen J., Chopp M. Intracerebral transplantation of bone marrow with BDNF after MCAo in rat / J. Chen, M. Chopp // Neuropharmacology. – 2000. – V.39. – p.711–716.
8. Human embryonic neural stem cell transplantation increases subventricular zone cell proliferation and promotes peri-infarct angiogenesis after focal cerebral ischemia / P. Zhang, J. Li, Y. Liu [et al.] // Neuropathology. – 2011. – V.31, №4. – p.384–391.
9. Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats / M. Lu, Z. Zhu, M. Chopp [et al.] // Circ. Res. – 2003. – V.92. – p. 692-699.
10. On the importance of long-term functional assessment after stroke to improve translation from bench to bedside / T. Freret, P. Schumann-Bard, M. Boulouard [et al.] // Experimental & Translational Stroke Medicine. – 2011. – V.3, №6. – p. 1-5.
11. Schallert T. Orienting and placing / T. Schallert, M.T. Woodlee // Behavior of the laboratory rat: a handbook with tests. – Oxford: Oxford University Press, 2005. – p. 129-140.
12. Transplanted bone marrow stromal cells migrate, differentiate and improve motor function in rats with experimentally induced cerebral stroke / J.-R.Chen, G.-Y.Cheng, C.-C. Sheu [et al.] // J. Anat. – 2008. – V.213. – p. 249–258.

## ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ТКАНЕВОЙ ТРАСПЛАНТАЦИИ С ЦЕЛЬЮ АКТИВАЦИИ АНГИОГЕНЕЗА НА МОДЕЛИ ФОКАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ У КРЫС

Ярмолюк Е.С.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

**Резюме.** Проанализировано динамику неврологических нарушений у крыс с фокальной церебральной ишемией при разных вариантах тканевой трансплантации, направленной на активацию ангиогенеза в зоне ишемического повреждения мозга. Исследование проведено на 72 белых крысах-самцах, разделенных на 4 группы: "контроль" (n=18, перманентная окклюзия правой средней мозговой артерии – ОСМА), "опыт №1" – аллогенная интрацеребральная трансплантация эмбриональной нервной ткани на 2 сутки после моделирования инсульта (n=18), "опыт №2" – аллогенная интрацеребральная трансплантация суспензии костного мозга на 2 сутки после ОСМА (n=18), "опыт №3" – интрацеребральная инфузия фосфатного буфера на 2 сутки после ОСМА (n=18). Оценку глобального неврологического дефицита, моторных, сенсорных и рефлекторных нарушений проводили с помощью разработанного нами протокола поведенческого тестирования на 1, 3, 7, 14, 21 и 28 сутки после моделирования фокальной церебральной ишемии. В группах "опыт №1" и "опыт №2" наблюдался выраженный регресс неврологического дефицита с 3 (показатель моторной асимметрии: "контроль" – 73,4±1,6, "опыт" №1 – 66,6±1,4, №2 – 59±2, p<0,001) по 28 сутки после окклюзии ("контроль" – 53,9±1,3, "опыт" №1 – 36,8±0,8, №2 – 21,9±1, p<0,001). В то же время существенных различий между группами "контроль" и "опыт №3" не наблюдалось в течение всего периода наблюдения (p=0,083 по Bonferroni и p=0,105 по Scheffe). При этом трансплантация костного мозга оказалась более эффективной, чем эмбриональной нервной ткани, что может быть обусловлено преимущественным ее влиянием на постишемический церебральный ангио- и синаптогенез. Таким образом, функциональное восстановление у крыс после фокальной церебральной ишемии свидетельствует об эффективности тканевой трансплантации в эксперименте и является важной предпосылкой для дальнейших клинических исследований трансплантации костного мозга и эмбриональной нервной ткани у пациентов с ишемическим инсультом.

**Ключевые слова:** неврологический дефицит, окклюзия средней мозговой артерии, постишемический ангиогенез, поведенческое тестирование, суспензия костного мозга, эмбриональная нервная ткань.

## THE DYNAMICS OF FUNCTIONAL IMPAIRMENT IN DIFFERENT VARIANTS OF TISSUE TRANSPLANTATION TO ACTIVATE ANGIOGENESIS ON THE FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA MODEL IN RATS

Ye.S. Yarmolyuk

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

**Summary.** We have analyzed the dynamics of neurological impairment in rats with focal cerebral ischemia under different variants of tissue transplantation aimed at activation of angiogenesis in the zone of brain ischemic lesion. 72 white male rats were used in the research, divided into 4 groups: "control" (n=18, permanent right middle cerebral artery occlusion), "experiment" (n=18 each): "experiment" №1 – intracerebral allogenic embryonic neural tissue grafting, 2 days after MCAO (n=18), №2 – intracerebral allogenic bone marrow grafting, 2 days after MCAO (n=18), №3 – intracerebral phosphate buffer infusion, on the day after occlusion (n=18). Assessment of global neurologic deficit, motor, sensory and reflectory impairment was performed using our protocol for behavioral testing on 1, 3, 7, 14, 21 and 28 day after inducing cerebral ischemia. In groups "experiment" №1 and "experiment" №2 substantial regression of neurologic deficit has been observed from the 3rd (motor asymmetry index: "control" – 73,4±1,6, "experiment" №1 – 66,6±1,4, №2 – 59±2, p<0,001) to the 28th day after occlusion ("control" – 53,9±1,3, "experiment" №1 – 36,8±0,8, №2 – 21,9±1, p<0,001). However no significant differences were observed between groups "control" and "experiment" №3 (p=0,083 according to Bonferroni and p=0,105 according to Scheffe post-hoc tests). Furthermore, bone marrow grafting was proved to be more effective than embryonic neural tissue that could be associated with its influence on postischemic cerebral angio- and synaptogenesis. Thus, functional improvement in rats after focal cerebral ischemia may indicate the efficiency of tissue transplantation under experimental conditions and could be an important prerequisite for further clinical trials of bone marrow and embryonic neural tissue grafting in patients with ischemic stroke.

**Key words:** neurologic deficit, middle cerebral artery occlusion, postischemic angiogenesis, behavioral testing, bone marrow suspension, embryonic neural tissue.