

## РАДИАЦИОННАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 591.18:591.51:57.084.1:599.8:539.1.047

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ПОДГОТОВКЕ И ПРОВЕДЕНИЮ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТОВ ОБЛУЧЕНИЯ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ НИЗШИХ ПРИМАТОВ

© 2020 г. И. В. Бондарь<sup>1,\*</sup>, Л. Н. Васильева<sup>1</sup>, Л. В. Терещенко<sup>2</sup>, И. Д. Шамсиев<sup>1,2</sup>,  
В. Н. Анисимов<sup>2</sup>, Г. В. Мицын<sup>3</sup>, А. В. Латанов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

<sup>3</sup> Медико-технический комплекс Объединенного института ядерных исследований, Дубна, Россия

\*E-mail: bondar@ihna.ru

Поступила в редакцию 17.05.2019 г.

После доработки 28.11.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

Низшие приматы являются удобным объектом для моделирования ключевых составляющих операторской деятельности человека, поскольку они обладают всеми необходимыми поведенческими компонентами, свойственными человеку-оператору, выполняющему сложную работу по управлению внешними устройствами. Развитие рук обеспечивает обезьянам возможность манипулирования объектами внешнего мира. В ходе эволюции мозга низших приматов у них появились специализированные области, в которых обрабатывается информация о внешнем мире и осуществляется координация глаз–рука. При воздействии экстремальных факторов внешней среды (например, ионизирующей радиации) в первую очередь могут страдать когнитивные процессы, что однозначно будет осложнять работу человека-оператора. Оценка критических факторов, тяжести поражения и течения процесса восстановления утраченных функций возможна в контролируемых экспериментах на макаках. В данной работе описываются экспериментальные подходы, направленные на 1) подготовку животного к проведению экспериментов по оценке глазодвигательной активности, 2) обеспечение накопления контрольных данных по временным характеристикам и точности саккадических движений глаз и 3) проведение локального облучения мозга. Все принципиальные методические подходы были апробированы в реальных экспериментах на двух животных.

**Ключевые слова:** низшие приматы, когнитивные функции, локальное облучение ткани мозга, глазодвигательная активность, оценка параметров поведения

**DOI:** 10.31857/S0869803120040049

Сложная операторская деятельность человека предполагает распознавание разнообразных сенсорных сигналов, активацию памяти и осуществление сложных моторных программ. В такую деятельность вовлечены распределенные по всему мозгу нейронные сети, которые обеспечивают его значительные когнитивные ресурсы. Воздействие экстремальных условий среды (например, радиационное воздействие в ходе длительного нахождения в космическом пространстве) может в первую очередь сказываться на когнитивной сфере работы оператора. Удобным модельным объектом для оценки рисков радиационного воздействия являются низшие приматы, в экспериментах на которых можно проводить изучение когнитивных функций и их нарушений.

Развитие рук позволяет приматам активно взаимодействовать с непосредственным окружением.

Майкл Грациано [1] считает, что защита поверхности тела от повреждения представляет собой набор специальных функций, которые контролируются мозгом. В частности, для успешного избегания контакта с потенциально опасными предметами в окружающей среде необходим постоянный мониторинг ситуации во время локомоции. У приматов появляется возможность активно блокировать с помощью рук приближающиеся опасные объекты и защищать такие важные части тела, как лицо. Успешность защитных действий с помощью рук напрямую зависит от координации с направлением взора.

В ходе эволюции у низших приматов наблюдается значительное развитие теменной коры [2], что связано с изменениями рук и появлением сложной манипулятивной деятельности, предполагающей координирование глазодвигательной и

соматической моторной активности. Системы нейронных сетей, обеспечившие эту способность, являются предпосылками сетей, реализующих базисные компоненты операторской деятельности у человека, и поэтому могут использоваться в качестве модельных объектов для ее изучения.

В качестве поведенческих тестов на приматах, которые требуют анализа сенсорной информации, активации памяти и осуществления моторных реакций, могут быть использованы глазодвигательные задачи. Контроль за движениями глаз осуществляется на нескольких иерархических уровнях: ствол мозга, мозжечок и кора больших полушарий. Надежным показателем нормального функционирования системы программирования саккад может служить время реакции, которое складывается из времени обработки сенсорного сигнала и времени подготовки моторной команды [3, 4]. У тренированных обезьян латентности саккад в среднем составляют порядка 200 мс. Увеличение латентности будет свидетельствовать об изменении функционального состояния областей мозга, вовлеченных в процесс подготовки саккад.

Абсолютное большинство нейрофизиологических экспериментов с приматами проводят при неподвижном положении головы животного. Точные методы изучения активности мозга бодрствующих приматов и воздействия на него предполагают также доступ к поверхности головы и глазам. Традиционно проблема жесткой фиксации решалась с помощью имплантации фиксатора в череп животного и последующего прикрепления его к внешней установке [5, 6]; существуют также и более современные варианты жесткой фиксации головы [7]. Однако такие способы сопряжены с дополнительными рисками из-за операции, вызываемых ею воспалительных процессов и изнашивания фиксатора. Попытки создать менее инвазивные системы все еще предполагали оперативное вмешательство, а также или постоянное ношение животным, или достаточно жесткую и морфологически неадаптированную фиксацию. Использование 3D-печати и 3D-визуализации для увеличения степени анатомического соответствия, описанное в литературе, ограничивалось созданием реплик поверхности черепа или головы обезьян для последующего использования более старых методов – формовки [8] или подгонки импланта [7]. Увеличение доступности этих технологий позволило использовать результаты визуализации с использованием компьютерной томографии (КТ) для создания модели и печати фиксирующей установки на 3D-принтере, и наша работа представляет собой первое исследование с использованием этого метода.

Значительной проблемой долговременных космических полетов является комплексное радиационное воздействие, одна из составляющих частей которого – поражение тканей организма высокоэнергетическими тяжелыми частицами [9]. Следует отметить, что в отличие от ионизирующих электромагнитных волн (например, рентгеновского или  $\gamma$ -излучения) прохождение частиц, например, через ткани головного мозга может вызывать значительные изменения в функционировании нейронов, что будет приводить к критическим изменениям когнитивных функций человека-оператора. А.И. Григорьев и соавт. считают: “Принципиально важно установить, будут ли действительно возникать нарушения высших интегративных функций мозга, и если будут, то при каких конкретных дозах и видах тяжелых заряженных частиц” [10]. Моделирование базовых элементов операторской деятельности, включающих когнитивные компоненты, при воздействии факторов космического полета, в частности, радиации, возможно в экспериментах на приматах [11, 12].

Изучение эффектов тяжелых заряженных частиц на функции мозга возможно при использовании технологий, которые применяются в трехмерной конформной терапии с помощью пучка протонов [13]. Эта уникальная технология позволяет сформировать дозное распределение таким образом, что его форма будет максимально совпадать с конфигурацией мишени. В случае экспериментов на низших приматах становится возможным использование локального пучка протонов для воздействия на определенные структуры головного мозга, что позволит отделить эффекты поражения специализированных нейронных сетей от вызванных радиацией изменений во всем мозге.

В связи с вышесказанным для данной методической работы нами была поставлена цель разработать подходы для осуществления локализованного радиационного воздействия на мозг макака с целью оценки влияния протонов и других тяжелых заряженных частиц на когнитивные функции. Для достижения данной цели было необходимо отладить методику видеорегистрации глазных движений и оценки параметров саккад, а также разработать мероприятия по подготовке животного к локальному облучению пучками протонов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

### *Обработка мероприятий для проведения локального облучения мозга*

Процесс подготовки и проведения трехмерной конформной протонной лучевой терапии, разработанной и проводимой в Медико-техническом комплексе ЛЯП ОИЯИ, описан детально в пуб-

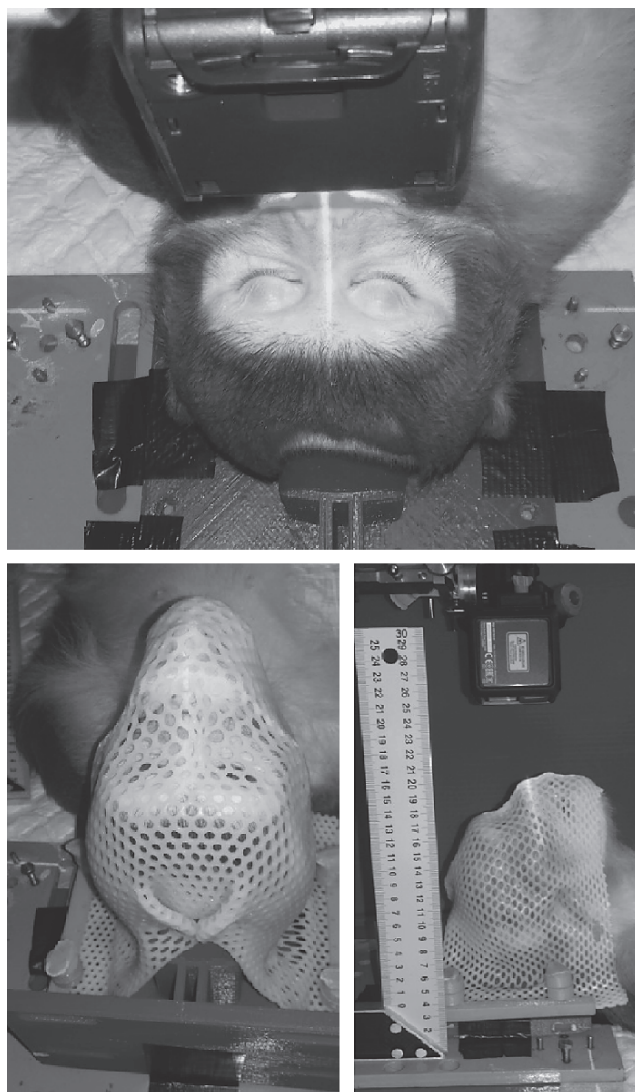
ликации А.В. Агапова и соавт. [13]. Позволим себе кратко остановиться на описании данной методики.

Развитие технологий в области медицинской диагностики сделало возможным трехмерное компьютерное планирование и проведение облучения строго локализованных мишеней, при котором максимум формируемого дозного распределения точно соответствует конфигурации цели. Важной особенностью данного подхода является резкий спад дозы радиации за границами мишени.

Во время подготовки к проведению облучения протонами проводятся следующие мероприятия:

- подготавливается индивидуальная надежная фиксация области, которая подвергается облучению;
- осуществляется визуализация (с помощью рентгеновского и магнитно-резонансного томографического исследования) области, на которую будет оказано воздействие, что необходимо для введения томографических срезов в программу планирования;
- проводится трехмерное компьютерное планирование облучения;
- изготавливаются индивидуальные устройства формирования пучка: фигурные коллиматоры и компенсирующие болюсы;
- проводится облучение с рентгеновской верификацией положения мишени относительно пучка.

Все эти мероприятия были проведены нами в экспериментах на обезьянах. В первую очередь нами была изготовлена конструкция для закрепления головы животного. Она состояла из двух частей: распечатанного на 3D-принтере подголовника, с помощью которого было возможно позиционирование в положении, близком к общепринятому стереотаксическому, а также индивидуальной маски из термопластика. Для ее создания животное анестезировали (Золетил, 1 мг/кг; Медитин, 2 мг/кг). Использование данного протокола анестезии обеспечивало глубокий наркоз в течение 2–3 ч. Голову животного укладывали на напечатанный анатомический подголовник, а ее соответствие стереотаксической системе координат контролировали лазерным уровнем (рис. 1). Разогретый в теплой воде (около 75°C) пластик помещали на морду животного и плотно прижимали к голове до застывания, добиваясь максимального анатомического соответствия маски. Во время последующего использования маску крепили к основанию конструкции с помощью пластиковых винтов. Полученная система фиксации обеспечивала стереотаксическое крепление головы обезьяны в вертикальном и горизонтальном положении.



**Рис. 1.** Процедура подготовки фиксирующей маски на основе термопластика. Анестезированное животное располагали на спине под лазерным уровнем, который задавал референтные линии для близкого к стереотаксическому позиционированию головы. Разогретый в горячей воде пластик размещали на морде животного таким образом, чтобы обеспечить максимальное прилегание его к голове. В процессе затвердевания пластика неизменность положения головы контролировали с помощью лазерного уровня.

**Fig. 1.** The procedure for preparing a fixing mask made off thermoplastics. The anesthetized animal was placed on its back under the laser level, which set the reference lines to achieve close to stereotactic positioning of the head. The plastic heated in hot water was placed on the face of the animal in such a way as to ensure its maximum fit to the head. During plastic hardening, the constancy of the head position was monitored using a laser level.

Компьютерное томографическое исследование (КТ) проводили на спиральном рентгеновском томографе в ветеринарной клинике “Био-контроль” (<https://www.biocontrol.ru>). Для визуализации черепа и мозга использовали томограф



**Рис. 2.** Результаты компьютерной томографии. Стрелкой и кругом обозначена локализация теменной коры, которую предполагалось подвергнуть облучению пучком протонов.

**Fig. 2.** Computer tomography results. The arrow and circle indicate the localization of the parietal cortex, which was supposed to be irradiated with a proton beam.

PHILIPS Brilliance CT (PHILIPS, Нидерланды). Животное анестезировали (Золетил, 1 мг/кг; Медитин, 2 мг/кг), фиксировали голову с помощью устройства для крепления головы с маской из термопластика и располагали в аппарате в положении лежа. Контроль за состоянием животного проводили с помощью регистрации кардиограммы и плевизмограммы. Данные томографии (рис. 2) в цифровом виде вводили в трехмерную компьютерную систему планирования облучения. На рис. 2 показана область мозга, которую планировали подвергнуть воздействию пучком протонов. Для первых экспериментов по облучению было принято решение ограничить воздействие на теменную область, которая у макак вовлечена в формирование моторных программ координации движений рук и глаз.

#### *Конструкция для ограничения движений головы животного во время глазодвигательной задачи*

На первом этапе создания анатомически адаптированной системы фиксации было необходимо получить точную модель головы обезьяны. Для построения трехмерной модели головы были использованы результаты компьютерной томографии, проведенной с целью планирования воздействия пучком протонов на теменную область мозга. По результатам КТ с помощью специальной программы (Slicer v4.8.1) была получена трехмерная модель головы обезьяны, которую использовали для дальнейшей работы.

В качестве конструкции фиксации животного во время глазодвигательной задачи был выбран “шлем”, состоящий из ограничивающих движения головы половин. 3D-печать позволила сделать его эргономичным и соответствующим анатомической структуре головы (рис. 3). Моделирование и подготовку к печати проводили с помощью программы SketchUp. Две боковые части шлема закрепляются и перемещаются друг относительно друга с помощью пары алюминиевых направляющих над верхней поверхностью черепа и за затылком. Это минимизирует дискомфорт для животного, а также улучшает прочность и мобильность конструкции. Части шлема внутри выложены мягкими пластинами с целью уменьшения давления пластика на кожу. Шлем также был адаптирован для регистрации ЭЭГ: затылочная и теменная части шлема были удалены на уровне модели и заменены эластичными резиновыми жгутами, к которым можно крепить электроэнцефалографические электроды. После размещения на голове животного шлем фиксируется во внешней системе фиксации, которая установлена на приматологическом кресле.

#### *Регистрация движений глаз животного с помощью видеоокулографического метода*

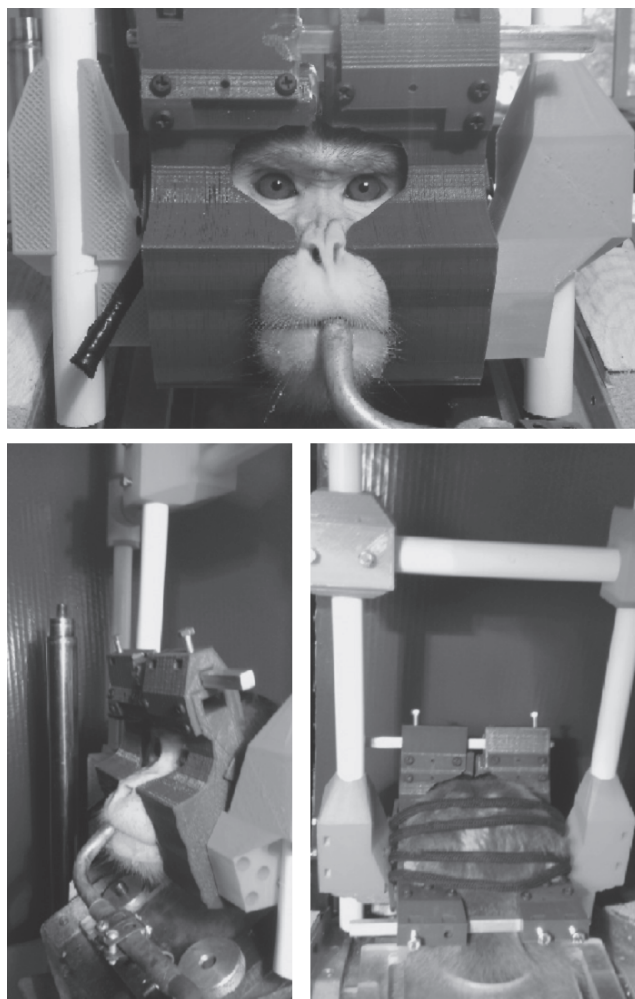
В рамках исследования производили запись положения одного глаза обезьяны на видео (200 или 500 кадров/с) с помощью ИК-камеры Fast-Video-250 (НПО “Астек”, Россия) во время вы-

полнения зрительно-моторной задачи. Видеорегистрацию осуществляли в условиях ИК-подсветки глаза с использованием матрицы из 28 ИК-светодиодов (L-53SF6C,  $\lambda_{\text{пик}} = 860 \text{ нм}$ ), расположенных радиально для равномерного освещения. Положение центра зрачка выделяли на каждом кадре с использованием оригинальной программы FastVideoLab, и для выделения глазодвигательных событий (фиксаций и саккад) был разработан оригинальный алгоритм [14]. Одновременно с помощью двух сигнальных светодиодов, размещенных в кадре видеокамеры, определяли время появления зрительных стимулов: фиксационной точки и периферического стимула для синхронизации с программой зрительной стимуляции. В экспериментах обезьяны совершали зрительно-вызванные саккады с использованием временной схемы с одношажным смещением стимула. Последовательность событий была следующей: предъявление центрального фиксационного стимула – предъявление периферического (фактически его смещение на периферию поля зрения) – изменение яркости периферического стимула – реакция животного нажатием на рычаг – получение подкрепления [15]. Фиксация на центральном стимуле достигалась возможным (в части проб) изменением его яркости, в ответ на которое животное также должно было отвечать нажатием на рычаг. Периферические стимулы предъявляли в трех угловых положениях справа и слева, в двух угловых положениях сверху и снизу от фиксационной точки и по одной в углах экрана. Их последовательность задавали в псевдослучайном порядке. В среднем в ходе одного эксперимента каждое положение периферической цели повторяли по 20 раз. Обработку видеоданных проводили в офлайн-режиме: определяли положение зрачка в каждом кадре и времена включения светодиодов; выбирали успешные попытки и для них сохраняли положения глаза. Период выделения экспериментальных данных составлял 200 мс до предъявления центральной фиксационной точки и 1500 мс после включения периферического стимула. Из этих данных для каждой саккады к периферическому стимулу рассчитывали ее латентность и амплитуду.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Пилотный эксперимент по локальному облучению теменной коры макаки*

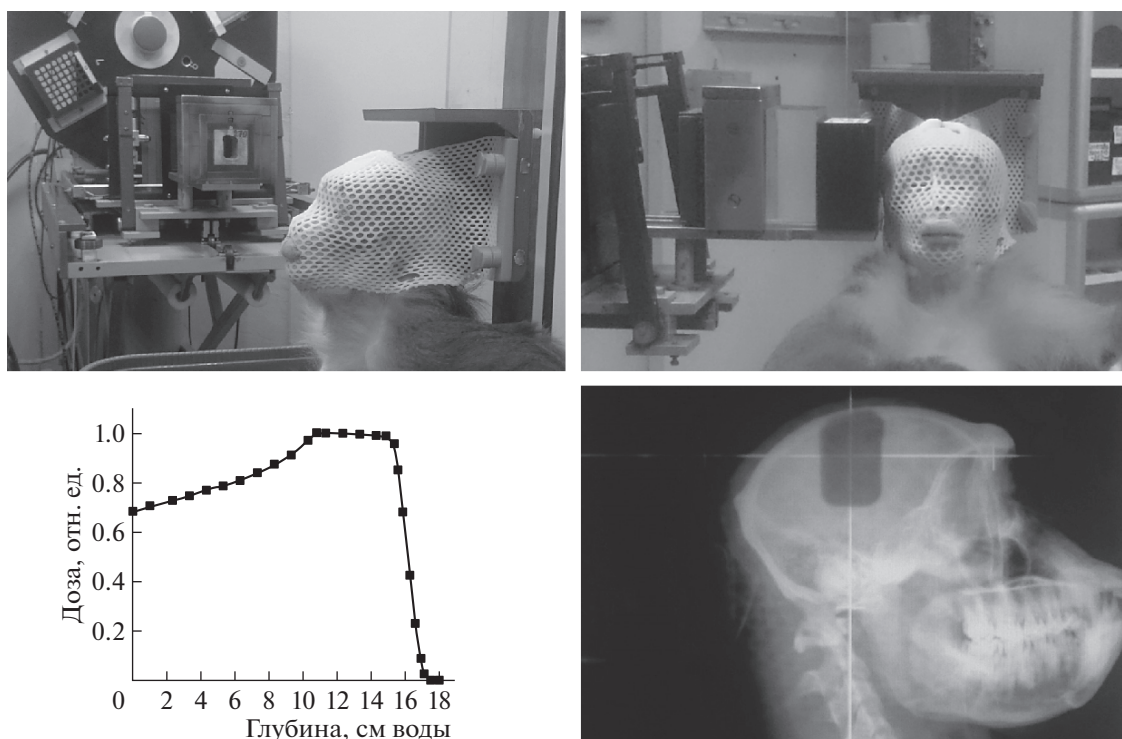
При проведении облучения теменной коры с помощью пучка протонов животное фиксировали в специальном устройстве в положении сидя (рис. 4). Для верификации положения облучаемой мишени относительно пучка использовали рентгеновский излучатель, установленный на оси протонного пучка на расстоянии 1.8 м от терапев-



**Рис. 3.** Положение животного в маске для ограничения движений головы во время экспериментального тестирования функции глазодвигательной системы. Шлем состоит из двух половинок, который зажимают голову животного. Автоматическую подачу подкрепления – фруктового сока – осуществляли через поилку, закрепленную максимально близко ко рту животного. За счет отсутствия задней части шлема становится возможным потенциальное использование данного устройства для неинвазивной регистрации электроэнцефалографии.

**Fig. 3.** The position of the animal during experimental testing of the function of the oculomotor system. Special helmet is limiting head movements. The helmet consists of two halves, which clamp the head of the animal. The automatic supply of reinforcements – fruit juice – was carried out through a drinking tube fixed as close as possible to the animal's mouth. Due to the absence of the back of the helmet, it is potentially possible to use this device for non-invasive registration of electroencephalography.

тического кресла и цифровой рентгеновский детектор, устанавливаемый непосредственно за головой животного. Коррекцию положения животного относительно пучка протонов меняли дистанционно за счет перемещения кресла, на



**Рис. 4.** Подготовка животного к облучению. Животное находилось в установке в сидячем положении. Голову анестезированной обезьяны надежно фиксировали с помощью индивидуальной маски из термопластика. Такое крепление головы позволяет максимально придвинуть болус и коллиматор, задающие форму профиля облучения. Точное позиционирование животного относительно центра пучка осуществляли с помощью рентгеновских снимков. Область облучения показана на рентгенографии с помощью затемнения.

**Fig. 4.** Preparing the animal for radiation. The animal was in a sitting position. The head of the anesthetized monkey was securely fixed using an individual thermoplastic mask. Such a head mount allows the bolus and collimator, defining the shape of the irradiation profile. The exact positioning of the animal relative to the center of the beam was carried out using x-rays. The irradiation area is shown on the x-ray picture as dimmed area.

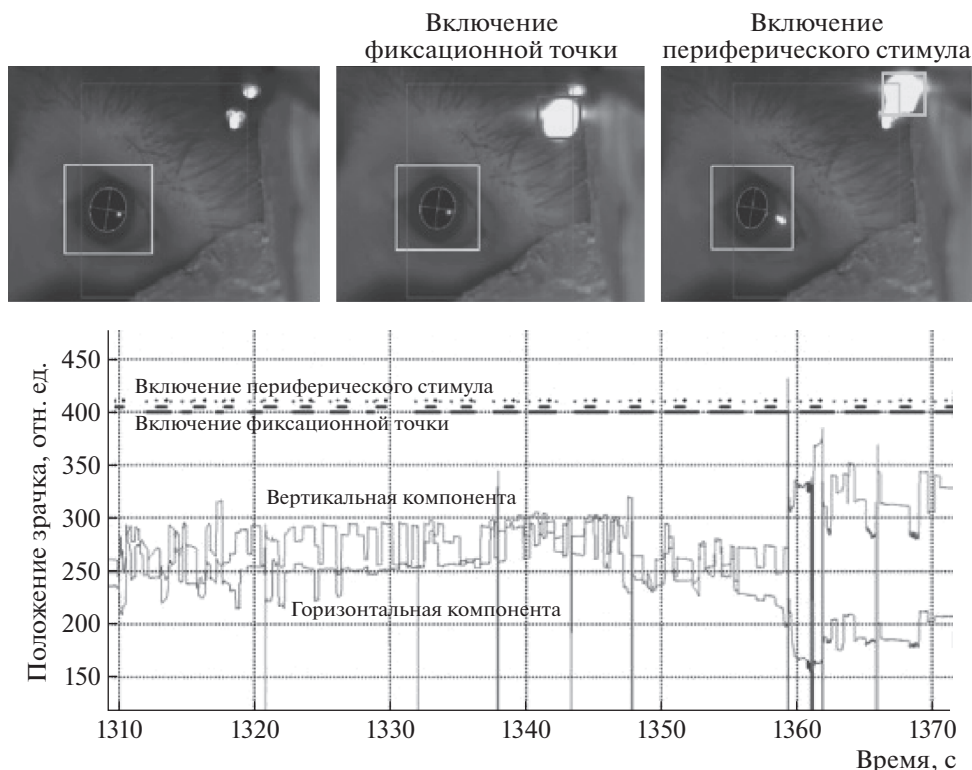
котором и была закреплена фиксирующая голову конструкция с маской из термопластика (рис. 4).

Во время подготовительного этапа проводили планирование облучения на основе топометрической информации, полученной при компьютерной томографии. Трехмерный массив данных в цифровом виде вводили в специальную программу планирования. На каждом аксиальном срезе оператор очерчивал границы мишени облучения, которая в нашем случае представляла собой часть теменной области коры с координатами: AP = -5 и 5 мм (передняя и задняя границы соответственно); DV = 10 и 25 мм (нижняя и верхняя границы). Для определения границ использовали атлас мозга обезьяны [16]. Суммарная доза на мишень с двух направлений была выбрана равной 3 Гр.

Функция “beam’s-eye-view” (вид со стороны пучка), которая имеется в программе планирования, и симулированные из КТ срезов цифровые рентгенограммы для каждого направления облучения позволяли смоделировать поперечную форму пучка. Облучение проводили с двух встречных сагиттальных направлений. Во время процедуры

облучения пучок протонов формировали с помощью индивидуального коллиматора из сплава Вуда. Конформность дозного распределения протонного пучка по глубине и форме мишени придавали с помощью так называемых болусов — замедлителей сложной формы, которые учитывали гетерогенную структуру тканей, расположенных на пути пучка. В мастерских Медико-технического комплекса ОИЯИ для животного были изготовлены по два индивидуальных фигурных коллиматора и болуса, форма которых была рассчитана по программе планирования. На рис. 4 представлена апертура одного из коллиматоров.

Перед началом сеанса облучения в экспериментальное помещение выводили терапевтический протонный пучок и проводили его дозиметрию. Измеряли профиль пучка, его глубинно-дозное распределение, мощность дозы. Эти параметры контролировали непосредственно во время облучения животного. Использовался стандартный терапевтический пучок с энергией около 155 МэВ с максимальным поперечным размером 8 × 8 см с расширенным пиком Брэгга. Мощность



**Рис. 5.** Видеоокулографический метод регистрации движений глаз. На верхнем ряду кадров видеозахвата показано выделение зрачка, который очерчен эллипсом. Кроме того, показаны последовательные моменты включения светодиодов, которые соответствовали появлению в поле зрения животного центрального и периферического стимулов. В результате анализа видеосигнала были получены данные о положении зрачка (вертикальная и горизонтальная компонента), а также времена включения зрительных целей.

**Fig. 5.** Videooculographic method for recording eye movements. The upper row of video capture frames shows the pupil highlighted by an ellipse. In addition, successive flashes of LEDs are shown, which correspond to the appearance of central and peripheral stimuli in the field of view of the animal. After offline analysis of the video signal data were obtained on the position of the pupil (vertical and horizontal components), as well as the times of switching on the visual targets.

дозы составляла около 1 Гр/мин. Глубинно-дозное распределение пучка приведено на рис. 4.

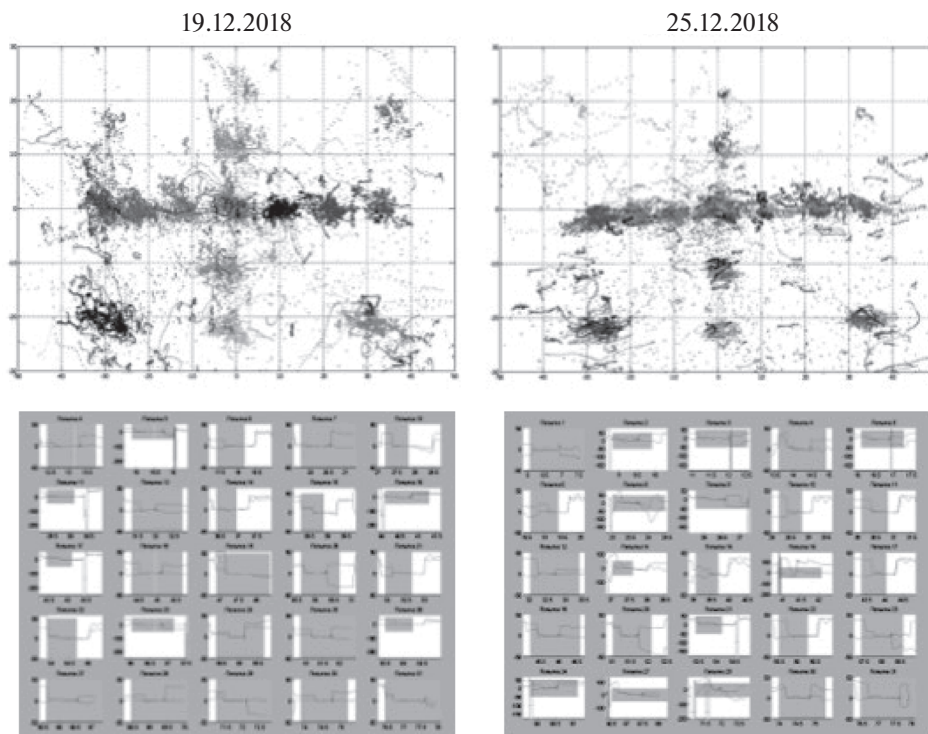
Непосредственно перед облучением животного изготавливали верификационный рентгеновский снимок, который одновременно с противоположного направления экспонировали протонным пучком низкой интенсивности. В результате на снимке было отчетливо видно положение протонного пучка относительно анатомических структур черепа (рис. 4). Если это положение не совпадало с точностью 1 мм с тем, которое было рассчитано по программе планирования, производилась коррекция положения кресла относительно пучка. Сразу после этого проводили облучение протонным пучком.

#### *Тестирование системы крепления головы в реальных экспериментах*

Наша система крепления головы для КТ позволила получить стереотаксически точные снимки, которые затем были использованы для создания анатомически адаптированного шлема.

К концу периода адаптации у обезьяны не наблюдалось никаких механических повреждений, вызванных использованием шлема. После начала использования новой системы обезьяна продолжила выполнять задание и правильно отвечать на соответствующие стимулы.

В процессе офлайн-анализа в первую очередь выделяли положение зрачка для каждого кадра видеозаписи, которую производили во время одного эксперимента. Пример участка такой записи показан на рис. 5. Светлой серой линией отображено изменение горизонтальной координаты центра зрачка в относительных единицах (пиксели кадра), а темной – вертикальной. С помощью специального алгоритма анализа изображения определяли времена появления центрального и периферического стимула. Они показаны линиями точек. Для каждой успешной попытки (правильное движение рычага) выделяли часть записи совместно с временами включения центрального и периферического стимулов. Амплитуды саккад определяли относительно фонового



**Рис. 6.** Анализ движений глаз. Показаны вычисленные относительно центральной точки положения глаза в успешных попытках для двух дней регистрации. На нижних графиках демонстрируются исходные данные (развитие саккады во времени), которые были использованы также для определения латентных периодов глазодвигательных реакций.

**Fig. 6.** Analysis of eye movements. Shown are the eye position in successful attempts that were calculated relative to the center point. Data for two days of registration is compared. The lower graphs show initial data (saccade development over time), which were also used to calculate latent periods of oculomotor reactions.

уровня, который вычисляли по средним значениям положения зрачка, непосредственно предшествующим появлению периферического стимула. Латентность каждой саккады определяли с помощью программного обеспечения в среде Matlab относительно времени появления периферического стимула.

В выбранных успешных попытках были корректно выделены саккады и определены положения взора (рис. 6). По результатам обработки были воспроизведены движения глаз ко всем положениям периферических стимулов в поле зрения животного. Из этого можно сделать вывод, что предлагаемый способ неинвазивной фиксации головы дает надежные результаты в экспериментах с глазодвигательными задачами и при этом не травматичен для животного.

Как было сказано выше, мы рассчитывали латентности саккад, которые в среднем составили порядка 200 мс. Следует отметить различия между латентностями саккад, выполненных к разным периферическим стимулам. Латентности для саккад вверх оказались несколько выше, что соответствует ранее полученным результатам [3, 6]. И в данном случае с использованием нашего подхода к ограничению движений головы животного мы

смогли получить объективные экспериментальные данные, которые отражают процессы подготовки и выполнения моторных программ.

Из вышесказанного можно сделать вывод о том, что предлагаемая нами система обеспечивает стабильную регистрацию движений глаз, может быть использована для экспериментов на нескольких животных (к моменту написания статьи в ней работали двое животных), является простой в производстве. По результатам экспериментов с ее использованием были точно воспроизведены положения периферических точек, а также рассчитаны параметры саккадических движений, которые в целом соответствуют литературным данным. Надежность полученных результатов сравнима с результатами, полученными нами ранее с использованием самого точного электромагнитного метода регистрации движений глаз с жестким креплением головы животных [3, 5].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения данной методической работы нами были успешно опробованы подходы для осуществления локального радиационного воздействия на мозг макак с целью оценки его



влияния на когнитивные функции. При подготовке облучения была отлажена процедура проведения компьютерной томографии, результаты которой были использованы как для разметки конфигурации протонного пучка, так и для создания специальной конструкции, ограничивающей свободу движений головы животного во время экспериментов по регистрации движений глаз. Во время пилотного эксперимента по облучению теменной коры был отработана методика разметки цели с помощью специального компьютерного обеспечения, а также полностью проведены все мероприятия по воздействию пучка протонов на мозг. Методика видеорегистрации движений глаз и оценки параметров саккад была проверена в многочисленных экспериментах как до проведения облучения, так и после него. Полученный опыт позволяет утверждать, что апробированные нами подходы могут быть использованы для проведения исследования на группе животных, что позволит набрать необходимый статистический материал для выявления эффектов ионизирующего излучения на зрительно-моторные и когнитивные функции.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 17-29-01027-офи\_м.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Graziano M.S., Cooke D.F.* Parieto-frontal interactions, personal space, and defensive behavior // *Neuropsychologia*. 2006. V. 44. № 13. P. 2621–2635.
2. *Kaas J.H., Qi H.X., Stepniewska I.* The evolution of parietal cortex in primates // *Handb. Clin. Neurol.* 2018. V. 151. P. 31–52.
3. *Терещенко Л.В., Кузнецов Ю.Б., Латанов А.В., Шульговский В.В.* Методика хронической электромагнитной регистрации движений глаз и головы у обезьян // *Журн. высш. нервн. деят.* им. И.П. Павлова. 2000. Т. 50. № 5. С. 889–894. [*Tereshchenko L.V., Kuznecov Yu.B., Latanov A.V., Shul'govskij V.V.* Metodika hronicheskoy elektromagnitnoj registracii dvizhenij glaz i golovy u obez'yan // *Zhurn. vysshej nervnoj deyatel'nosti im I.P. Pavlova*. 2000. T. 50. № 5. S. 889–894. (In Russian)]
4. *Fisher B., Boch R.* Modifications of presaccadic activation of neurons in the extrastriate cortex during prolonged training of rhesus monkeys in a visuo-oculomotor task // *Neurosci. Lett.* 1982. V. 30. № 2. P. 127–131.
5. *Терещенко Л.В., Молчанов С.А., Колесникова О.В. и др.* Асимметрия амплитудно-временных свойств целенаправленных саккад у обезьян в зависимости от сложности пространственной схемы зрительной стимуляции // *Журн. высш. нервн. деят.* 2005. Т. 55. № 5. С. 639–646. [*Tereshchenko L.V., Molchanov S.A., Kolesnikova O.V. i dr.* Asimmetriya amplitudno-vremennyh svojstv celenapravlennyh sakkad u obez'yan v
6. *Evarts E.V.* Methods for recording activity of individual neurons in moving animals // *Methods in Medical Research* / Ed. R.F. Rushmer. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers, 1968. P. 241–250.
7. *Lanz F., Lanz X., Scherly A. et al.* Refined methodology for implantation of a head fixation device and chronic recording chambers in non-human primates // *J. Neurosci. Meth.* 2013. V. 219. № 2. P. 262–270.
8. *Slater H., Milne A., Wilson B. et al.* Individually customisable non-invasive head immobilisation system for non-human primates with an option for voluntary engagement // *J. Neurosci. Meth.* 2016. V. 269. P. 46–60.
9. *Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А.* К оценке риска биологического действия галактических тяжелых ионов в условиях межпланетного полета // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2013. Т. 99. № 3. С. 273–280. [*Grigor'ev A.I., Krasavin E.A., Ostrovskij M.A.* K ocenke riska biologicheskogo dejstviya galakticheskikh tyazhelyh ionov v usloviyah mezhplanetnogo poleta // *Ross. fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova*. 2013. T. 99. № 3. S. 273–280. (In Russian)]
10. *Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А.* К вопросу о радиационном барьере при пилотируемых межпланетных полетах // *Вестн. РАН*. 2017. Т. 87. № 1. С. 65–69. [*Grigor'ev A.I., Krasavin E.A., Ostrovskij M.A.* K voprosu o radiacionnom bar'ere pri pilotiruemyh mezhplanetnyh polyotah // *Vestnik rossijskoj akademii nauk*. 2017. T. 87. № 1. S. 65–69. (In Russian)]
11. *Беляева А.Г., Штемберг А.С., Носовский А.М. и др.* Воздействие высокоэнергетических протонов и ионов углерода 12с на когнитивные функции обезьян и содержание моноаминов и их метаболитов в периферической крови // *Нейрохимия*. 2017. Т. 34. № 2. С. 168–176. [*Belyaeva A.G., Shtemberg A.S., Nosovskij A.M. i dr.* Vozdejstvie vysokoenergeticheskikh protonov i ionov ugleroda 12s na kognitivnye funkcii obez'yan i sodержание monoaminov i ih metabolitov v perifericheskoy krovi // *Nejrohimiya*. 2017. T. 34. № 2. S. 168–176. (In Russian)]
12. *Латанов А.В., Терещенко Л.В., Островский М.А.* Влияние краниального облучения протонами высоких энергий на зрительно-моторное поведение обезьян // *Докл. Академии наук*. 2019. Т. 487. № 5. С. 588–591. [*Latanov A.V., Tereshchenko L.V., Ostrovskij M.A.* Influence of Cranial Ir-radiation with High-Energy Protons on the Visuomotor Behavior in Monkeys // *Dokl. Biol. Sci.* 2019. V. 487. P. 95–97. (In Russian) <https://doi.org/10.1134/S0012496619040069>]
13. *Агапов А.В., Гаевский В.Н., Гулидов И.А. и др.* Методика трехмерной конформной протонной лучевой терапии // *Письма в ЭЧАЯ*. 2005. Т. 2. № 6 (129). С. 80–86. [*Agapov A.V., Gaevskij V.N., Gulidov I.A. i dr.* Metodika trekhmernoj konformnoj protonnoj luchevoj terapii // *Pis'ma v ECHAYA*. 2005. T. 2. № 6 (129). S. 80–86. (In Russian)]
14. *Анисимов В.Н., Краснопёров А.В., Серженко Ф.Л., Терещенко Л.В.* Разработка технологии айтрекинга от регистрации видео до наложения треков на

- изображение // Айтрекинг в психологической науке и практике / Под ред. В.А. Барабаншикова. М., 2015. С. 24–33. [Anisimov V.N., Krasnopyorov A.V., Serzhenko F.L., Tereshchenko L.V. Razrabotka tekhnologii ajtrekinga ot registracii video do nalozheniya trekov na izobrazhenie // Ajtreking v psihologicheskoy nauke i praktike // Pod red. V.A. Barabanshchikova. M., 2015. S. 24–33. (In Russian)]
15. Бондарь И.В., Васильева Л.Н., Терещенко Л.В. и др. Обучение макак-резусов сложным когнитивным задачам // Журн. высшей нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2018. Т. 68. № 4. С. 459–476. [Bondar' I.V., Vasil'eva L.N., Tereshchenko L.V. i dr. Obuchenie makak-rezусov slozhnym kognitivnym zadacham // Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I.P. Pavlova. 2018. T. 68. № 4. S. 459–476. (In Russian)]
16. Saleem K.S., Logothetis N.K. A Combined MRI and Histology Atlas of the Rhesus Monkey Brain in Stereotaxic Coordinates 2nd Ed. London: Academic Press, 2012. 402 p.

## Experimental Approaches for Preparation and Conduction the Study of the Effects of Radiation to Cognitive Functions of Non-human Primates

I. V. Bondar<sup>a,#</sup>, L. N. Vasilieva<sup>a</sup>, L. V. Tereshchenko<sup>b</sup>, I. D. Shamsiev<sup>a,b</sup>, V. N. Anisimov<sup>b</sup>, G. V. Mytsin<sup>c</sup>, and A. V. Latanov<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>b</sup> Biological Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>c</sup> Medical Technical Complex of the Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

<sup>#</sup>E-mail: bondar@ihna.ru

Non-human primates are a conventional object for modeling the key components of human operator activity, since they have all the necessary behavioral components characteristic of a human operator performing complex work on the management of external devices. Hand development provides monkeys with the ability to manipulate objects from the outside world. During the evolution of the brain of lower primates, they developed specialized areas in which information about the outside world was processed and eye-hand coordination was carried out. When exposed to extreme environmental factors (for example, ionizing radiation), cognitive processes may suffer in the first place, which will definitely complicate the work of a human operator. Evaluation of critical factors, the severity of the lesion and the course of the recovery process of lost functions is possible in controlled experiments on macaques. This paper describes experimental approaches aimed at (1) preparing an animal for conducting experiments to assess oculomotor activity, (2) ensuring the accumulation of control data on temporal characteristics and accuracy of saccadic eye movements and (3) conducting local irradiation of the brain. All fundamental methodological approaches were tested in real experiments on two animals.

**Keywords:** non-human primates, cognitive functions, local irradiation of brain tissue, oculomotor activity, assessment of behavior parameters