

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт физиологии им. И.П. Павлова (ИФ РАН)

СОП № 19

№ версии:

Начало действия: 30.11.14

**СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА**  
**по паспортизации обезьян по показателям когнитивных функций в зависимости от функционального состояния.**

Составлено: н.с. лаб. регуляции функций нейронов мозга Беляков А.В.

Утверждено: зам.директора ИФ РАН Рыбникова Е.А.



1. ЦЕЛЬ:

1.1. СОП описывает порядок выполнения процедур для паспортизации обезьян по показателям когнитивных функций в зависимости от функционального состояния.

2. ОПОРНЫЕ СОП:

2.1. Подготовка макак к процедурам паспортизации состоит из ряда последовательных процедур и учитывает требования следующих Стандартных операционных процедур:

2.1.1. СОП «Поение обезьян».

2.1.2. СОП «Кормление обезьян».

2.1.3. СОП «Пересадка обезьяны из клетки в клетку».

2.1.4. СОП «Использование ультрафиолетового бактерицидного облучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в помещении».

2.1.5. СОП «Подготовке макак к процедурам паспортизации»

## 1. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ СОП И ОТВЕТСТВЕННОСТЬ:

1.1. СОП предназначен для лаборантов и рабочих по уходу за лабораторными обезьянами.

1.2. СОП предназначен для научных сотрудников, осуществляющих процедуры по приучению обезьян к условиям лабораторного содержания и оперативной деятельности.

## 2. ОБЪЕКТ ПРИМЕНЕНИЯ СОП:

2.1. В процедурах используются клинически здоровые макаки-резусы обоего пола с массой тела от 3кг, прошедшие СОП «Подготовка макак к процедурам паспортизации». Перед выполнением СОП масса тела животных определяется с использованием напольных весов ВЛР/20 или аналогичных (погрешность измерений  $\pm 1\%$ ).

## 3. ПАСПОРТИЗАЦИЯ ОБЕЗЬЯН ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ.

3.1. Функциональные состояния, как изменяемый критерий для проведения паспортизации.

3.1.1. Утомляемость. В соответствии с СОП «Подготовка макак к процедурам паспортизации» животное приучается находиться в рабочем состоянии в течение 1 часа, при этом этот период можно условно разделить на первый и второй этапы, с возможным снижением работоспособности обезьяны во вторые полчаса.

3.1.2. Тревожность. Во время пребывания в лаборатории, в течение реализации СОП по подготовки к паспортизации и СОП по паспортизации у животного может проявляться стресс-реакция гипоталамо-гипофизарной-адреноловой системы (ГГАС), что может быть выявлено в изменении уровня свободного кортизола в суточной моче животного, изменении частоты сердечных сокращений, суточной двигательной активности.

3.1.3. Постгипоксическое состояние. Регистрация изменений когнитивных функций в ответ на индукцию пролонгированного постгипоксического функционального ответа организма.

## 3.2. Содержание обезьяны и описание установки

3.2.1. Доступ к питью, кормление; дезинфекция, вентиляция помещения и уборка клетки, сбор анализов суточной мочи пр. во время проведения СОП осуществляется аналогично СОП «Подготовка макак к процедурам паспортизации» (см. соответствующий п. 5.3.)

3.2.2. Для тестирования обезьяны используется приматологическая установка в соответствии с п.5.5.1. СОП «Подготовка макак к процедурам паспортизации».

5.3. Переместить обезьяну из клетки вивария в лабораторную клетку в соответствии с СОП «Пересадка обезьяны из клетки в клетку» и п.5.2., СОП «Подготовке макак к процедурам паспортизации».

5.4. Проверить готовность обезьяны к реализации настоящего СОП. Обезьяна должна уметь пользоваться трубкой питьевого подкрепления, адекватно реагировать на движение заслонки, уметь дотрагиваться до экрана в течение непродолжительного времени (5 секунд) после появления на нем тестового изображения. Обыскивание

кормушек, где во время подготовки к паспортизации находилось пищевое подкрепление, не должно являться значимой мотивацией в работе на этом этапе.

5.5. Обучить обезьяну работе с заданиями на оценку пространственной кратковременной памяти (ПКП).

5.5.1. Описание теста для оценки ПКП. Тест для оценки ПКП заключается в следующем. Обезьяне на двух подвижных планшетах или на двух частях сенсорного ИК экрана в течение 2-3 секунд предъявляется два черно-белых изображения, отличающиеся друг от друга одним признаком. В течение этого времени у обезьяны нет возможности дотронуться до экрана, так как прозрачная заслонка поднята, отделяя экраны от обезьяны. Важно чтобы ранее, в задаче без задержки, обезьяна уже работала с этой парой изображений, выявила ключевой признак и поняла какое из двух изображений является подкрепляемым. После того как изображения погасли, отмеряется еще один интервал времени (задержка), после чего заслонка опускается, и у обезьяны появляется возможность дотронуться до экранов, вспомнив в каком месте было продемонстрировано подкрепляемое изображение. При правильном выборе обезьяна получает питьевое и звуковое подкрепление, в случае неверного ответа воспроизводится звук отрицательного подкрепления.

5.5.2. На двух планшетах или двух частях сенсорного экрана предъявлять обезьяне пару изображений, отличающихся одним признаком. Изображения предъявляются на 2-3 секунды, у обезьяны в этот момент есть возможность выбрать одно из них, дотронувшись до него лапой. Выбор одного из двух изображений всегда подкрепляется питьем (5-7 капель из мундштука системы питьевого подкрепления). После показа и выбора обезьяной изображения, прозрачная заслонка поднимается, чтобы обозначить паузу между показами изображений, и опускается в момент следующего показа. Эта фаза обучения повторяется до тех пор, пока доля правильных не зафиксируется на устойчивом уровне выше 85% от общего числа показов. После этого обезьяне меняют пару изображений (используется другой ключевой признак). Как правило, в день обезьяна обучается распознавать 1-2 новых признака, в общей сумме 4-6 признаков

5.5.3. Повторять процедуру из пункта 5.5.2., отличающуюся тем, что в момент начала показа пары изображений не сразу опускать прозрачную заслонку, а делать это за 1 секунду до окончания показа пары изображений. Постепенно уменьшить расхождение во времени между концом показа и опусканием до 0 секунд. Этот этап обучения может занимать 1-3 дня в зависимости от когнитивного статуса обезьяны и ее функционального состояния.

5.5.4. Повторять процедуру из пункта 5.5.3., постепенно увеличивая величину задержки от 0 до 4 секунд, ориентируясь на когнитивный статус и функциональное состояние обезьяны. Переход на следующую величину задержки осуществлять после того как доля правильных ответов при отсроченной возможности выбора фиксируется на устойчивом уровне выше 60% от общего числа показов (в течение 40 показов). На этом этапе количество питьевого подкрепления уменьшается до 4-5 капель за один правильный ответ.

5.5.5. При достижении достаточной доли правильных ответов на задержке 4 секунды предъявлять обезьяне другую известную ей пару изображений (как правило, на следующий день).

5.5.6. Параллельно с выполнением процедур п. 5.5.2.-5.5.5. контролировать появление у обезьяны стратегии «ответа в одно окно», в результате которого животное получает

подкрепление ровно в 50% случаев и привыкает довольствоваться этим. В этом случае временно повышать вероятность появления изображения с ключевым признаком на другом экране/ другой части экрана (в случае использования сенсорного ИК монитора).

5.5.7. Регистрировать ответы обезьяны в течение 1 часа, делая перерывы в работе на 2 минуты каждые 15 минут.

5.6. Обучить обезьяну работе с заданиями на оценку образной кратковременной памяти (ОКП) в режиме работы выбор с задержкой изображения отличного от образца (в иностранной литературе DNMS).

5.6.1. Описание теста для оценки ОКП. Тест для оценки ОКП заключается в следующем. Обезьяне на двух подвижных планшетах или в центре сенсорного ИК экрана в течение 3 секунд предъявляется одно цветное изображение из базы растровых изображений (5000 шт.). В течение этого времени у обезьяны нет возможности дотронуться до экрана, так как прозрачная заслонка поднята, отделяя экраны от обезьяны. Через 3 секунды изображения/ изображение в центре (в случае использования ИК монитора) отмеряется еще один интервал времени (задержка), после чего заслонка опускается. В этот момент на экранах/экране появляется два изображения, одно из которых только что предъявлялось, а второе - новое, которое ранее обезьяна не видела. Выбор нового изображения подкрепляется питьем из мундштука системы питьевого подкрепления и звуковым сигналом, известным обезьяне как похвала, в случае неверного ответа воспроизводится звук отрицательного подкрепления. Диапазон задержек варьируется в зависимости от обезьяны и выбирается табулировано в диапазоне от 0 до 32 секунд (0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32 секунд).

5.6.2. Обезьяне на двух подвижных планшетах или в центре сенсорного ИК экрана в течение 3 секунд предъявляется одно цветное изображение из базы растровых изображений (5000 шт.). Продолжительность предъявления увеличено до 5-6 секунд, задержка осуществляемая в соответствии с п.5.6.1. равно 0, то есть в случае использования двух планшетов одно из изображений не гаснет, а второе сменяется новым изображением. Обезьяна должна выбрать новое изображение, в случае чего она получает питьевоe подкрепление (5-7 капель из мундштука системы питьевого подкрепления) и звуковое подкрепление, в случае неверного ответа воспроизводится звук отрицательного подкрепления.

5.6.3. При достижении обезьяной доли правильных ответов на устойчивом уровне выше 85% от общего числа показов ( в течение 40 показов), постепенно увеличивать величину задержки. Перед переходом на новую величину задержки аналогично п 5.5.4. добиваться достижения 60% доли правильных ответов, в случае не достижения обезьяной этого уровня не продолжать увеличение задержек. Не вводить более 3 новых задержек в день. Общая продолжительность этого этапа варьируется в зависимости от когнитивного статуса обезьяны и ее функционального состояния.

5.6.4. Параллельно с выполнением процедур п. 5.6.2.-5.6.3. контролировать появление у обезьяны стратегии «ответа в одно окно», в результате которого животное получает подкрепление ровно в 50% случаев и привыкает довольствоваться этим. В этом случае временно повышать вероятность появления новых изображений на другом экране/ другой части экрана (в случае использования сенсорного ИК монитора).

5.6.5. Регистрировать ответы обезьяны в течение 1 часа, делая перерывы в работе на 2 минуты каждые 15 минут.

5.7. Для консолидации приобретенного навыка переместить обезьяну в виварий в соответствии с СОП «Пересадка обезьяны из клетки в клетку» и п.5.2., п. 5.7. СОП «Подготовка макак к процедурам паспортизации» сроком на 2-4 недели или сделать соответствующий перерыв в работе в случае более продолжительного содержания животного в лабораторной клетке.

5.8. Переместить обезьяну из клетки вивария в лабораторную клетку в соответствии с СОП «Пересадка обезьяны из клетки в клетку» и п.5.2., СОП «Подготовке макак к процедурам паспортизации».

5.9. Провести тестирование обезьяны в режиме ПКП в соответствии с п. 5.5. настоящего СОП.

5.9.1. Тестирование проводить в одно и то же время в диапазоне с 9:30 до 11:00 в течение 1 часа, используя одну пару изображений в день в течение 3-4 дней.

5.9.2. Чередование задержек. Осуществлять чередование серий показов с одной задержкой в порядке от 0 до 4 секунд в течение четырех раз в пределах часа: по две серии из 10 показов на каждой задержке первые и вторые полчаса работы.

5.9.3. Тестирование сопровождать видеорегистрацией общей двигательной активности и компенсаторных реакций обезьяны, связанных с постепенной утомляемостью (Функциональное состояние. Критерий №1).

5.10. Провести тестирование обезьяны в режиме ОКП в соответствии с п. 5.6. настоящего СОП.

5.10.1. Тестирование проводить в одно и то же время в диапазоне с 9:30 до 11:00 в течение 1 часа, в течение 3-4 дней.

5.10.2. Чередование задержек. Осуществлять чередование серий показов с одной задержкой (по 10 показов в серии) в порядке от 0 до 32 секунд (или менее, в зависимости от когнитивного статуса обезьяны) в первые и вторые полчаса работы.

5.10.3. Тестирование сопровождать видеорегистрацией общей двигательной активности и компенсаторных реакций обезьяны, связанных с постепенной утомляемостью (Функциональное состояние. Критерий №1).

5.11. Надеть на обезьяну жилетку с закрепленным под ней прибором холтеровского мониторинга (Физиобелт или аналогичный). Процедура выполняется в соответствии с п. 5.6. СОП «Подготовке макак к процедурам паспортизации».

5.11.1.1. Посредством использования прижимки лабораторной клетки сделать обезьяне укол смеси препаратов Золетил 100мг и Рометар 2%. Концентрация и соотношение выбираются индивидуально исходя из длительности последующей процедуры сроком 30 минут, возраста и веса животного и базируется на ветеринарных рекомендациях использования этих препаратов (0,1-0,2мл Золетила и 0,1-0,2мл Рометара). Укол делается внутримышечно в область ягодичных мышц.

5.11.1.2. Забрав наркотизированную обезьяну из клетки, надеть на нее приматологическую жилетку, расположив под ней аппарат суточного мониторинга с подключенными нагрудными датчиками.

5.11.1.3. При первых респираторных и кардиологических признаках пробуждения поместить обезьяну в клетку, контролируя ее состояние.

5.11.1.4. В течении текущего дня регистрировать состояние и поведение обезьяны, и ее попытки снять жилетку или достать аппарат.

5.11. Провести обезьяне серию воздействий умеренной гипобарической гипоксией в соответствии с СОП «Воздействие умеренной гипобарической гипоксией на приматов». Воздействие производится в гипобарической камере проточного типа и сопровождается дистанционной регистрацией пульса и ЧСС при помощи датчика на теле животного. (Функциональное состояние. Критерий №2).

5.12. Снять с обезьяны жилетку и прибор суточного мониторинга. Процедура выполняется в соответствии с п. 5.6. СОП «Подготовке макак к процедурам паспортизации».

5.13. Провести повторное тестирование обезьяны в режиме ПКП (3дня) на фоне индуцированного постгипоксического состояния. Процедура производится в соответствии с п.5.9. настоящего СОП. (Функциональное состояние. Критерий №3).

5.14. Провести повторное тестирование обезьяны в режиме ОКП (3дня) на фоне индуцированного постгипоксического состояния в соответствии с п.5.9. настоящего СОП. (Функциональное состояние. Критерий №3).

5.15. Ведение протокола. В течение пребывания обезьяны в лабораторном корпусе (в клетке или в приматологическом кресле) за животным ведется ежедневное наблюдение, формируется протокол, отражающий общее состояние, доверие/агрессивность по отношению к обслуживающему персоналу, аппетит, количество выпитой жидкости и собранной мочи (Функциональное состояние. Критерий №2), фиксируется работоспособность и результаты экспериментов. Ведется электронный протокол с последующей распечаткой материалов в случае необходимости и видеопротокол состояния обезьяны для последующего анализа общей двигательной активности и когнитивной деятельности.

5.16. Переместить обезьяну в виварий в соответствии с СОП «Пересадка обезьяны из клетки в клетку» и п.5.2., п. 5.7. СОП «Подготовка макак к процедурам паспортизации».