

KRAJOWA KOMISJA ETYCZNA
DO SPRAW DOŚWIADCZEŃ NA ZWIERZĘTACH

z s. Ministerstwo Edukacji i Nauki
ul. Wspólna 1/3, 00-529 Warszawa

UCHWAŁA nr 15/2023

Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach
z dnia 24 marca 2023 roku

Na podstawie art. 33 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. o *ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych* (Dz.U. z 2023 r. poz. 465, dalej „ustawa”), uchwala się, co następuje:

§ 1

W dniu 16 grudnia 2022 roku Krajowa Komisja Etyczna do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach (KKE) podjęła uchwałę nr 52/2022, w której test Porsolta (test wymuszonego pływania, Forced Swimming Test, FST) uznany został za procedurę dopuszczalną jedynie w oparciu o uzasadnienie naukowe należycie wykazujące brak możliwości zastąpienia jej procedurą bardziej adekwatną do badanych zjawisk. Jej użyteczność znacząco ogranicza także brak w pełni wystandaryzowanej, jednolitej metody jej przeprowadzania.

§ 2

Z powyższych względów, doniosłe znaczenie dla dopuszczalności takiej procedury ma ustalenie podstawowych standardów planowania i realizacji testu Porsolta podnoszących jej wiarygodność i porównywalność wyników oraz obniżające ryzyko i dotkliwość dla wykorzystywanych w niej zwierząt.

§ 3

Biorąc to pod uwagę KKE ustala **opisane w załączniku do niniejszej uchwały dobre praktyki w zakresie planowania, oceny i dopuszczalności testu Porsolta**, których respektowanie powinno stanowić jeden z warunków uznania go za procedurę spełniającą zasadę udoskonalenia. Odstępstwa od określonego w dobrych praktykach sposobu jej zaplanowania i realizacji wymagają przedstawienia odpowiedniego uzasadnienia naukowego.

§ 4

Niniejszą uchwałę udostępnia się do wiadomości lokalnych komisji etycznych do spraw doświadczeń na zwierzętach i zespołów ds. dobrostanu oraz publikuje się w Biuletynie Informacji Publicznej na stronie podmiotowej ministra właściwego do spraw szkolnictwa wyższego i nauki oraz na stronie internetowej KKE.

§ 5

Uchwała wchodzi w życie z dniem powzięcia.

prof. dr hab. Tomasz Pietrzykowski
Przewodniczący
Krajowej Komisji Etycznej
do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach

Zalecenia ogólne:

W celu wyeliminowania wpływu ewentualnych zaburzeń lokomotorycznych na wyniki eksperymentu, przed wykonaniem testu Porsolta zaleca się każdorazowe wykonanie testu aktywności lokomotorycznej dla badanej substancji.

Jako, iż rytm okołodobowy może mieć wpływ na wyniki uzyskiwane w teście Porsolta, zaleca się wykonywanie testu o tych samych porach doby.

Zaleca się, aby wiek i masa ciała zwierząt wykorzystywanych do testu Porsolta w ramach określonego doświadczenia lub cyklu doświadczeń były porównywalne, gdyż zarówno wiek, jak i masa ciała zwierzęcia, mogą wpływać na wyniki testu.

Ponieważ integralną częścią testu Porsolta jest zanurzenie zwierząt w wodzie, każdorazowo po wyjęciu zwierzęcia z wody zaleca się wysuszenie go przed włożeniem do klatki domowej. Zaleca się umieszczanie zwierząt na ok. 30 minut w klatce wyścielonej grubą warstwą suchej ligniny, a następnie zbliżenie klatki ze zwierzęciem do źródła energii (np. blisko ustawiony grzejnik lub koc grzewczy).

Zalecenia szczegółowe w zakresie przeprowadzania testu Porsolta na szczurach:

1. Naczynia, w których wykonywany jest test Porsolta powinny być wykonane ze szkła, i mieć wymiary zbliżone do następujących: 35-45 cm wysokości, średnica: 18-25 cm.
2. Wysokość słupa wody powinna wynosić 25 cm lub więcej. 25 cm wysokości słupa wody stanowi minimalny wymiar dla szczurów o masie 200-250 gram. Dla większych szczurów słup wody może być wyższy, gdyż zwierzę w trakcie testu nie powinno dotykać ogonem ani łapami dna naczynia.
3. Temperatura wody w granicach 23-25°C.
4. Przebieg eksperymentu:

- pierwszego dnia wykonuje się tzw. pretest - szczury umieszcza się pojedynczo w cylindrach na okres 15 minut, po czym wyjmuje i suszy w sposób określony w zaleceniach ogólnych;

- po upływie przynajmniej 24 godzin od pretestu przeprowadza się test właściwy; okres pomiędzy pretestem a testem właściwym może być dłuższy, jeżeli jest to merytorycznie uzasadnione;

- w trakcie testu właściwego zwierzę zostaje ponownie umieszczone w cylindrze na okres 5 minut; w tym czasie można dokonać pomiaru następujących parametrów:

- (1) bezruch – gdy szczur biernie unosi się w wodzie;
- (2) pływanie — gdy szczur pływa, wykonując aktywne ruchy oraz
- (3) wspinanie się — gdy szczur wykonuje aktywne ruchy do i z wody za pomocą przednich łap

Powyższy schemat postępowania eksperymentalnego, tzn. pretest i test właściwy, są integralną częścią procedury. Przeprowadzenie pretestu warunkuje wiarygodny wynik testu Porsolta u szczurów.

5. Schemat podań związków powinien być odpowiednio dostosowany do celu konkretnego eksperymentu.

Literatura:

- 1: Pałucha-Poniewiera A, Podkowa K, Pilc A. Role of AMPA receptor stimulation and TrkB signaling in the antidepressant-like effect of ketamine co-administered with a group II mGlu receptor antagonist, LY341495, in the forced swim test in rats. *Behav Pharmacol.* 2019 Sep;30(6):471-477. doi: 10.1097/FBP.0000000000000471. Erratum in: *Behav Pharmacol.* 2020 Feb;31(1):108.PMID: 30724804.
- 2: Podkowa K, Pochwat B, Brański P, Pilc A, Pałucha-Poniewiera A. Group II mGlu receptor antagonist LY341495 enhances the antidepressant-like effects of ketamine in the forced swim test in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2016 Aug;233(15-16):2901-14. doi: 10.1007/s00213-016-4325-7. Epub 2016 Jun 11. PMID: 27286960; PMCID: PMC4933730.
- 3: Pałucha-Poniewiera A, Szewczyk B, Pilc A. Activation of the mTOR signaling pathway in the antidepressant-like activity of the mGlu5 antagonist MTEP and the mGlu7 agonist AMN082 in the FST in rats. *Neuropharmacology.* 2014 Jul;82:59-68. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.03.001. Epub 2014 Mar 12. PMID: 24631968.
- 4: Pałucha-Poniewiera A, Pilc A. A selective mGlu7 receptor antagonist MMPIP reversed antidepressant-like effects of AMN082 in rats. *Behav Brain Res.* 2013 Feb 1;238:109-12. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.004. Epub 2012 Oct 17. PMID: 23085340.
- 5: Zaniewska M, Nikiforuk A, Głowacka U, Brygider S, Wesołowska J, Litwa E, Maćkowiak M. Chronic Lorcaserin Treatment Reverses the Nicotine Withdrawal-Induced Disruptions to Behavior and Maturation in Developing Neurons in the Hippocampus of Rats. *Int J Mol Sci.* 2021 Jan 16;22(2):868. doi: 10.3390/ijms22020868. PMID: 33467149; PMCID: PMC7831001.
- 6: Jastrzębska-Więsek M, Partyka A, Rychtyk J, Śniecikowska J, Kołaczkowski M, Wesołowska A, Varney MA, Newman-Tancredi A. Activity of Serotonin 5-HT_{1A} Receptor Biased Agonists in Rat: Anxiolytic and Antidepressant-like properties. *ACS Chem Neurosci.* 2018 May 16;9(5):1040-1050. doi: 10.1021/acchemneuro.7b00443. Epub 2018 Jan 11. PMID: 29266914.

Zalecenia szczegółowe w zakresie przeprowadzania testu Porsolta na myszach:

1. Szczepem myszy zalecanym do badania aktywności związków w teście Porsolta są myszy CD-1. W sytuacji planowanego wykorzystania w eksperymencie myszy C57BL/6J zaleca się test zawieszenia za ogon (ang. *Tail Suspension Test*). W przypadku planowania wykorzystania myszy innych szczepów, konieczne jest przedstawienie stosownego uzasadnienia.
2. Wymiary naczynia, w którym wykonuje się test Porsolta na myszach mogą być mniejsze niż w przypadku wykorzystania szczurów. Zalecane wymiary to: 25 cm wysokości, 10 cm średnicy; wysokość słupa wody: min. 10 cm (konieczne jest zapewnienie takich warunków, aby zwierzę ogonem nie dotykało dna).
3. Temperatura wody w granicach 23-25°C.
4. Przebieg eksperymentu:
Mysz wkłada się do naczynia z wodą na 6 minut. Po dwóch minutach swobodnego pływania rozpoczyna się test właściwy, który trwa 4 minuty. W tym czasie mierzony jest czas bezruchu.

Literatura:

1. Rafała-Ulińska A, Poleszak E, Szopa A, Serefko A, Rogowska M, Sowa I, Wójciak M, Muszyńska B, Krakowska A, Gdula-Argasińska J, Kała K, Jasiewicz B, Opoka W, Szewczyk B, Nowak G. Imipramine Influences Body Distribution of Supplemental Zinc Which May Enhance Antidepressant Action. *Nutrients*. 2020 Aug 20;12(9):2529. doi: 10.3390/nu12092529. PMID: 32825449; PMCID: PMC7551732.
2. Wolak M, Siwek A, Szewczyk B, Poleszak E, Bystrowska B, Moniczewski A, Rutkowska A, Młyniec K, Nowak G. Evaluation of the role of NMDA receptor function in antidepressant-like activity. A new study with citalopram and fluoxetine in the forced swim test in mice. *Pharmacol Rep*. 2015 Jun;67(3):490-3. doi: 10.1016/j.pharep.2014.12.003. Epub 2014 Dec 17. PMID: 25933959.
3. Poleszak E, Wośko S, Serefko A, Szopa A, Wlaź A, Szewczyk B, Nowak G, Wlaź P. Effects of ifenprodil on the antidepressant-like activity of NMDA ligands in the forced swim test in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013 Oct 1;46:29-35. doi: 10.1016/j.pnpbp.2013.06.001. Epub 2013 Jun 14. PMID: 23774195.
4. Poleszak E, Wlaź P, Szewczyk B, Wlaź A, Kasperek R, Wróbel A, Nowak G. A complex interaction between glycine/NMDA receptors and serotonergic/noradrenergic antidepressants in the forced swim test in mice. *J Neural Transm (Vienna)*. 2011 Nov;118(11):1535-46. doi: 10.1007/s00702-011-0630-9. Epub 2011 Apr 2. PMID: 21461743; PMCID: PMC3197923.
5. Sałat K, Siwek A, Starowicz G, Librowski T, Nowak G, Drabik U, Gajdosz R, Popik P. Antidepressant-like effects of ketamine, norketamine and dehydronorketamine in forced swim test: Role of activity at NMDA receptor. *Neuropharmacology*. 2015 Dec;99:301-7. doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.07.037. Epub 2015 Aug 1. PMID: 26240948.
6. Sałat K, Podkowa A, Kowalczyk P, Kulig K, Dziubina A, Filipek B, Librowski T. Anticonvulsant active inhibitor of GABA transporter subtype 1, tiagabine, with activity in mouse models of anxiety, pain and depression. *Pharmacol Rep*. 2015 Jun;67(3):465-72. doi: 10.1016/j.pharep.2014.11.003. Epub 2014 Nov 21. PMID: 25933955.