

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Endokrinologische Untersuchungen

#### 5.1.1. Serum-Progesteronkonzentrationen

##### 5.1.1.1. Unbehandelte Bären

Zur Paarungszeit im Frühjahr (Tab. 9) lagen bei drei untersuchten Tieren die Progesteronkonzentrationen unterhalb oder nahe an der Nachweisgrenze des eingesetzten Testsystems, während der für die Bärin „Olga“ ermittelte Progesteronwert im Juni bereits in der gleichen Größenordnung wie der im folgenden September gemessene Wert lag. Diese Bärin war bereits im April gedeckt worden.

Im September/Okttober (Tab. 10), während der embryonalen Diapause gravider Tiere, wurden unabhängig vom Reproduktionsstatus Progesteronkonzentrationen von durchschnittlich  $3,92 \pm 1,67$  ng/ml gemessen.

Im November/Dezember (Tab. 11) waren die Konzentrationen bei tragenden Bärinnen mit implantierten Foeten, aber auch bei nicht tragenden Tieren signifikant erhöht (im Mittel  $7,96 \pm 2,45$  ng/ml).

Die Progesteronkonzentrationen der Bärin „Conny“ wurden in den Mittelwerten nicht berücksichtigt, da sie sowohl im September als auch im November unterhalb der Nachweisgrenze des verwendeten Testsystems lagen und die Bärin in Übereinstimmung mit den ultrasonographischen Befunden als azyklisch eingestuft wurde.

**Tab. 9** Serum-Progesteronkonzentrationen von Bären im Frühjahr.

<b>Tier</b>	<b>Datum</b>	<b>Progesteron (ng/ml)</b>
Suhl 3	06.05.98	0,6
Panja	17.06.97	< 0,1
Vroni	17.06.97	< 0,1
Olga	17.06.97	3,9

**Tab.10** Serum-Progesteronkonzentrationen im September/Oktober.

<b>Tier</b>	<b>Datum</b>	<b>Reproduktionsstatus</b>	<b>Progesteron (ng/ml)</b>
Bianca	09.09.97	gravid, Keimruhe	7,1
Mascha	09.09.97		5,8
Olga	23.09.97		4,0
Vroni	23.09.97		3,4
Panja	23.09.97		4,3
Suhl 1	10.09.97	nicht gravid	2,28
Suhl 2	10.09.97		1,95
Conny	10.09.97		< 0,1
Tjoma	10.09.97		3,6
Gisela	10.09.97		3,9
Olga	22.10.98	unbekannt	1,3
Panja	22.10.98		5,9
Bianca	20.10.98		5,6
Inca	03.09.98		4,6
Gisela	20.10.98		4,0
Mascha	22.10.98		1,2

**Tab. 11** Serum-Progesteronkonzentrationen im November/Dezember.

<b>Tier</b>	<b>Datum</b>	<b>Reproduktionsstatus</b>	<b>Progesteron (ng/ml)</b>
Suhl 1	27.11.97	nicht gravid	9,8
Suhl 2	27.11.97		7,9
Conny	03.12.97		<0,1
Tjoma	03.12.97		9,4
Gisela	03.12.97		9,4
Mascha	02.12.97	gravid, Implantation erfolgt	13,8
Olga	24.11.97		6,4
Vroni	24.11.97		8
Panja	24.11.97		8,6
Helle	13.11.98		4,1
Dunkle	13.11.98		5,7
Alte	13.11.98		7,1
Brauni	01.12.98		5,3

### 5.1.1.2. Behandelte Bären

Die Serum-Progesteronkonzentrationen von einem großen Teil der behandelten Bären sind in Tab. 12 aufgeführt. Soweit möglich, sind sie den vor Behandlung ermittelten Konzentrationen gegenübergestellt.

Die Konzentrationen der Bären, die mit einer parenteralen Gabe von J956 bzw. J956 und EE<sub>2</sub> vor Implantation behandelt wurden, ohne daraufhin Nachwuchs zu haben, ließen den normalerweise im Spätherbst zu beobachtenden Anstieg vermissen bzw. sanken sogar auf ein basales Niveau ab („Olga“).

Die Konzentrationen im Serum von Bären, denen nur Ethinylestradiol verabreicht wurde, waren uneinheitlich. Neben Konzentrationen, die in einer im Herbst zu erwartenden Größenordnung lagen, wurden sowohl sehr niedrige als auch extrem hohe Konzentrationen bestimmt.

Bei drei nach Implantation behandelten Bären waren die Progesteronkonzentrationen zum Behandlungszeitpunkt erwartungsgemäß hoch; ca. vier Wochen nach der Behandlung war nur noch eine sehr geringe Progesteronkonzentration im Serum nachweisbar.

**Tab. 12** Serum-Progesteronkonzentrationen behandelter Bären .

Reproduktionsstatus	Behandelt mit	Tier	Vor Behandlung	Progesteron (ng/ml)	Nach Behandlung	Progesteron (ng/ml)
unbekannt	EE <sub>2</sub>	Gisela	20.10.98	4	02.12.98	4,7
		Mascha	22.10.98	0,2	02.12.98	0,42
		Gisela	-	-	02.12.99	25,2
		Mascha	-	-	29.11.99	0,35
		Brauni	-	-	02.12.99	20
		Helle	-	-	30.11.99	6,1
		Alte	-	-	30.11.99	14,8
	J956	Olga	22.10.98	1,3	16.12.98	<0,1
		Panja	22.10.98	5,9	16.12.98	4,2
	J956/EE <sub>2</sub>	Bianca	20.10.98	5,6	03.12.98	4,6
		Inca	03.09.98	4,6	02.12.98	4,3
Tragend, Implantation erfolgt	J956/EE <sub>2</sub>	Helle	13.11.98	4,1	12.12.98	0,65
		Dunkle	13.11.98	5,7	12.12.98	0,7
		Alte	13.11.98	7,1	12.12.98	0,78

## 5.1.2. Progesteronkonzentrationen im Kot

### 5.1.2.1 Unbehandelte Bären

Die Progesteronprofile nicht gravider Tiere (n=5; Abb. 10) unterscheiden sich von denen gravider Tiere (n=6; Abb. 9) nur durch die größere Variationsbreite des Zeitpunktes des Konzentrationsanstiegs im Herbst und ihren unregelmäßigeren Verlauf, nicht aber in der Größenordnung ermittelter Konzentrationen. Nur die Progesteronkonzentrationen der Bärin „Conny“ lagen auch im Kot über das ganze Jahr deutlich unterhalb der zu Beginn der Diapause gemessenen Werte anderer Bären.

Die ermittelten Konzentrationen bei den kontinuierlich über das ganze Jahr verfolgten Bären lagen im Gegensatz zu der bei einem Bären ermittelten Serumkonzentration in den ersten Monaten (Mai bis August) der Keimruhe bzw. Pseudogravidität in einer vergleichbaren Größenordnung wie in der nicht reproduktiven Phase (Januar bis April) ( $125,3 \pm 94,1 \text{ ng/g}$ ). Erst im August/September kam es zu einer langsamen Zunahme der Progesteronsynthese, bevor die Konzentrationen dann einige Tage vor der (hypothetischen) Implantation stark anstiegen und nach der Implantation schließlich ca. 40-fach höhere Werte (gemessene Maximalwerte  $5200 \pm 1993 \text{ ng/g}$ ) als im Frühjahr/Sommer erreichten. Bei allen graviden Tieren mußte die Proben-sammlung Ende November/Anfang Dezember aufgrund der Winterruhe eingestellt werden, so daß sich der weitere Verlauf der Progesteronprofile bis zur Geburt nicht verfolgen ließ.

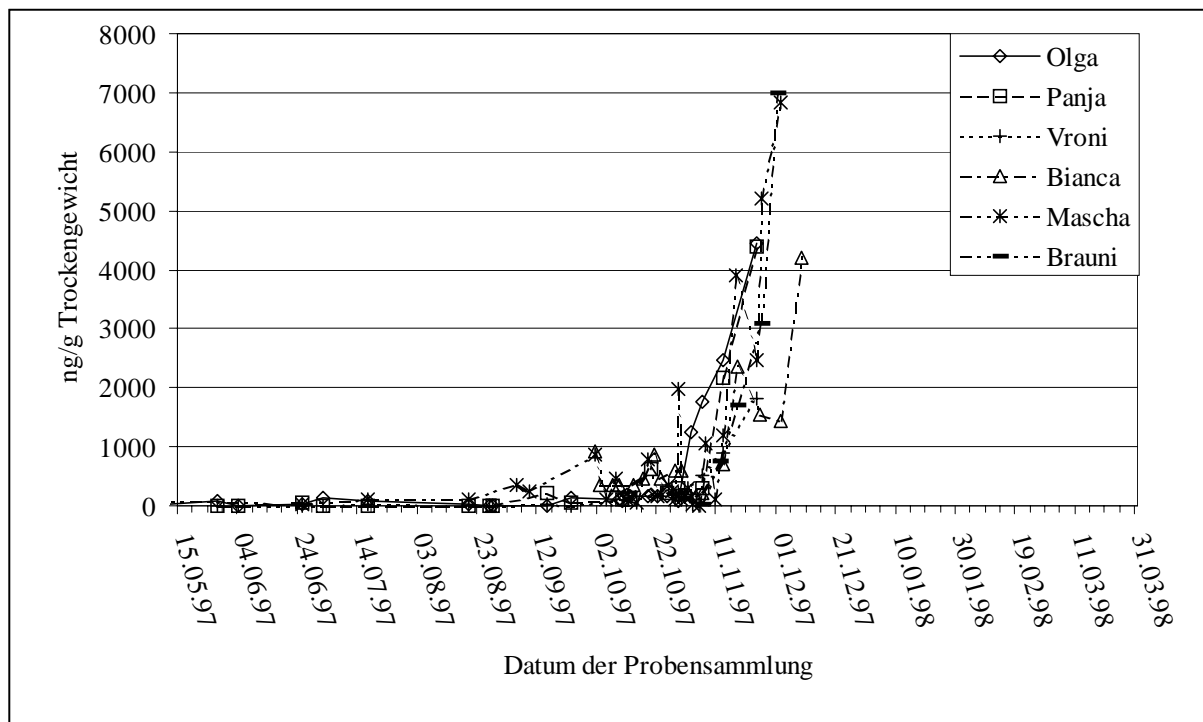
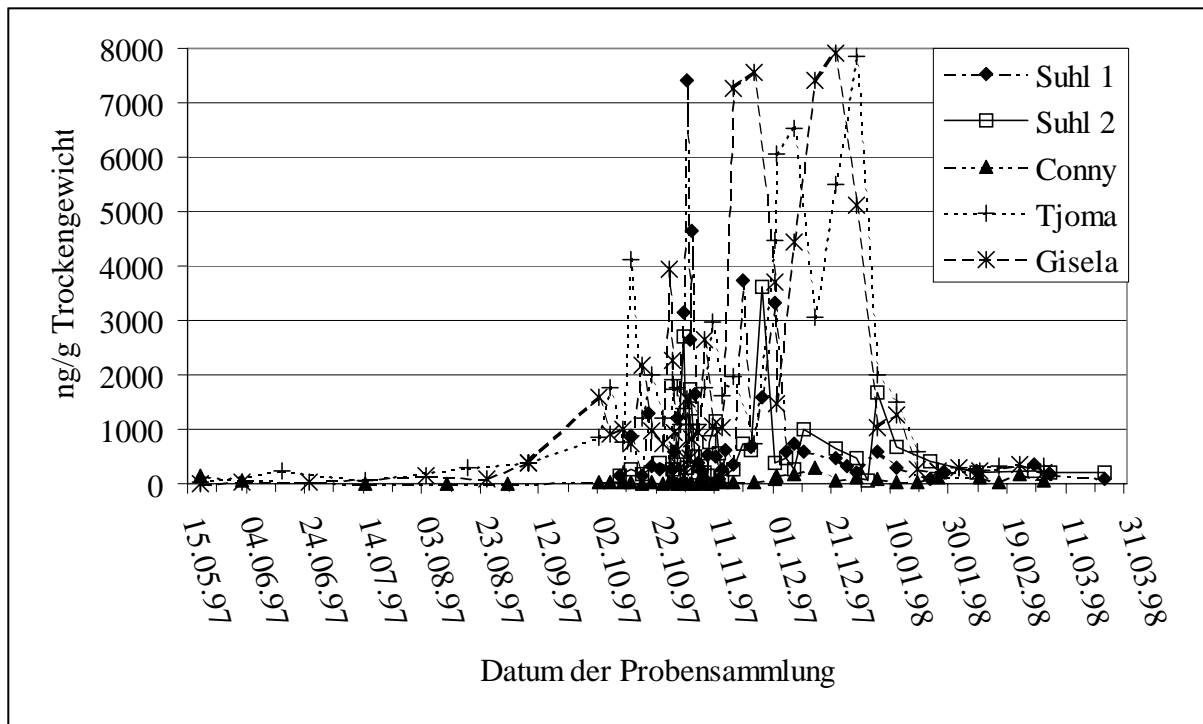


Abb. 9 Progesteronprofile gravider Bären.



**Abb. 10** Progesteronprofile nicht gravider Bären.

### 5.1.2.2. Behandelte Bären

Von einigen Tieren wurden nach der Behandlung kontinuierlich Kotproben gesammelt.

Bei der Brillenbärin „Inca“ kam es unmittelbar im Anschluß an die erste Behandlung mit der Kombination von J956 und EE<sub>2</sub> (3. September) zu einem steilen Anstieg der Progesteronkonzentration, die aber ebenso so schnell wieder absank. Im Anschluß an die zweite (16. Oktober) und dritte (30. November) Behandlung war ein solcher Peak nicht zu beobachten (Abb. 11).

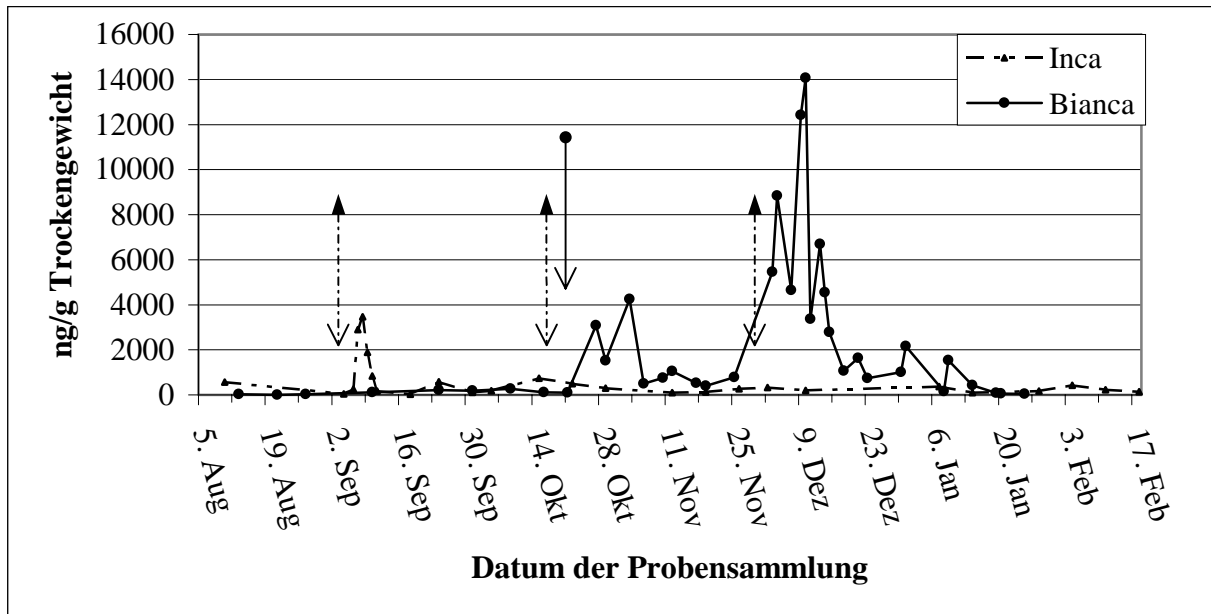
Die Braunbärin „Bianca“ wurde unmittelbar nach einem Anstieg der Progesteronkonzentration behandelt (ebenfalls mit J956 und EE<sub>2</sub>). Ca. zwei Wochen im Anschluß an die Behandlung kam es zu einem Abfall der Progesteronsynthese auf einen nahezu basalen Level. Ca. vier Wochen nach der Behandlung stiegen die Progesteronwerte erneut steil an, um dann acht Wochen nach ihrem initialen Anstieg endgültig abzusinken (Abb.11). Dies entsprach der post-implantativen Trächtigkeitsdauer.

Ein Anstieg der Progesteronwerte war auch zum Zeitpunkt der Behandlung der Kragenbärin „Gisela“ mit EE<sub>2</sub> zu verzeichnen. Sie erreichten jedoch ein wesentlich niedrigeres Niveau als bei „Bianca“ und sanken schon wenige Tage nach der Applikation wieder auf einen nahezu basalen Level ab.

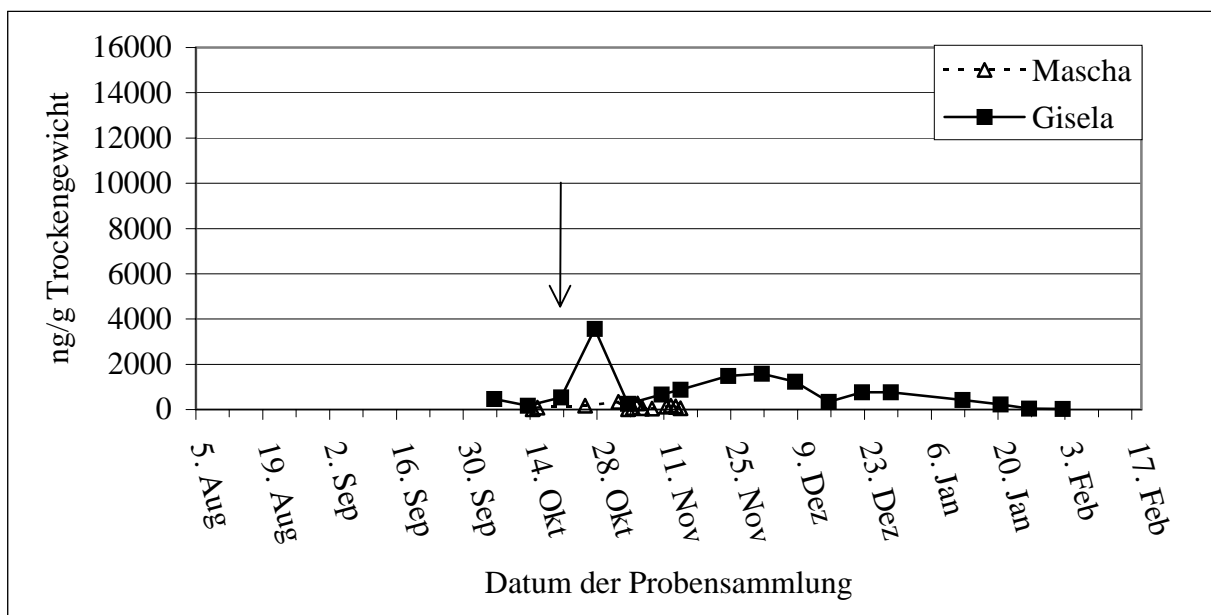
Bei der Braunbärin „Mascha“ blieben die Progesteronkonzentrationen über den nur kurzen Zeitraum der Probensammlung konstant niedrig (Abb. 12). Sie waren auch vor der Behandlung deutlich niedriger als die sonst während der Diapause ermittelten Konzentrationen.

Die im Kot der nach Implantation behandelten Bären bestimmten Progesteronkonzentrationen waren bereits zum Zeitpunkt der Behandlung deutlich erhöht, stiegen im Anschluß an die Behandlung noch einige Tage weiter an, um dann stark abzufallen und ca. vier Wochen nach der Behandlung einen basalen Level zu erreichen (Abb. 13).

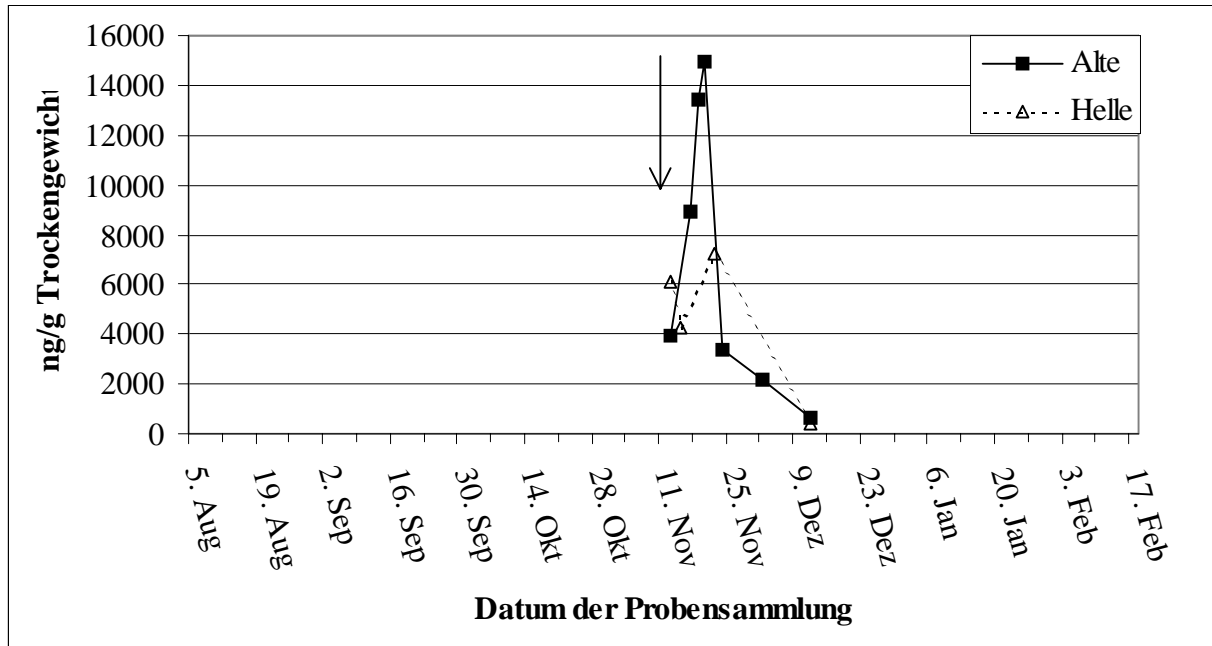
Sämtliche ermittelten Progesteronkonzentrationen in den Faeces sind in Anhang 1 aufgeführt.



**Abb. 11** Progesteronprofile zweier Bären, die vor Implantation mit J956/EE<sub>2</sub> behandelt wurden. Die Braunbärin „Bianca“ wurde einmal, die Brillenbärin „Inca“ dreimal behandelt. Die Behandlungszeitpunkte sind mit Pfeilen markiert („Inca“  $\uparrow$ , „Bianca“  $\downarrow$ ).



**Abb. 12** Progesteronprofile zweier Bären, die mit EE<sub>2</sub> vor Implantation behandelt ( $\downarrow$ ) wurden.



**Abb. 13** Progesteronprofile zweier Bären, die nach Implantation mit J956/EE<sub>2</sub> behandelt (↓) wurden.

## 5.2. Ultrasonographische Untersuchungen

Die Befunde für die einzelnen Bärinnen sind detailliert im Anhang 2 aufgeführt. Auf die Ergebnisse der Kontrolluntersuchungen behandelter Tiere wird weiter unten eingegangen (s. Kapitel 5.3.2.).

### 5.2.1. Östrus

Drei Bären konnten kurz vor bzw. während des Östrus (6. Mai bzw. 17. Juni) untersucht werden. Sie wiesen auf beiden Ovarien jeweils zwei bis fünf Follikel von 3 bis 6 mm Durchmesser, aber keine Corpora lutea auf (Abb. 15a). Eine vierte Bärin, die ebenfalls am 17. Juni untersucht wurde, war bereits zwei Monate zuvor zum letzten Mal gedeckt worden. Auf ihren Ovarien konnte jeweils ein Corpus luteum dargestellt werden.

Im Erscheinungsbild von Vagina, Cervix und Uterus konnten keine Unterschiede zu den unten beschriebenen Befunden der während der Keimruhe untersuchten Tiere festgestellt werden.

### 5.2.2. Während der Diapause

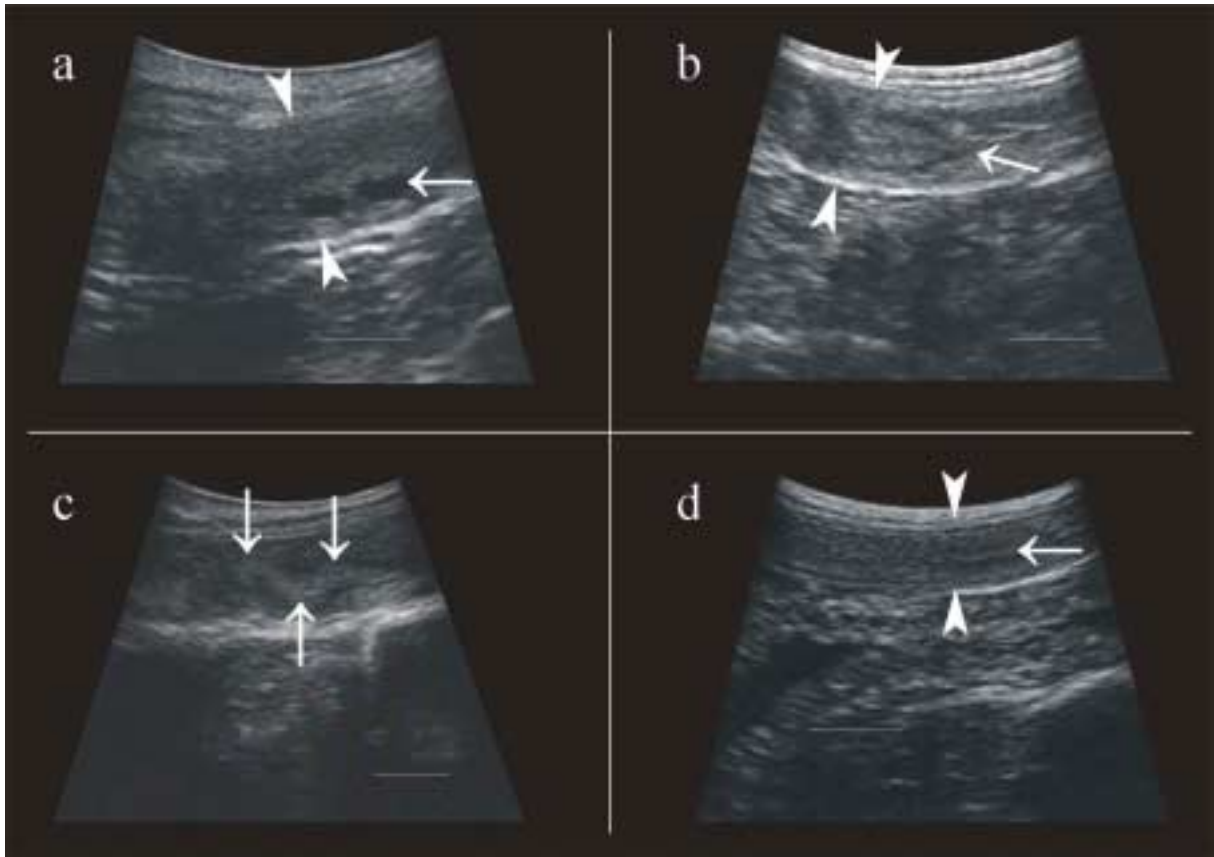
Die hier dargestellten Befunde wurden alle im September oder Oktober erhoben.

Die **Vagina** befand sich vollständig in der Beckenhöhle. Sie stellte sich als hypoechogene Struktur dar, in deren Mitte die übereinander liegenden Schleimhautoberflächen als dünne hyperechogene Linie sichtbar waren (Abb. 14a). Der mittlere Durchmesser bei den untersuchten Bären war  $7,87 \pm 0,96$  mm. Bei einer Bärin wurden schon vor der ersten Behandlung Zysten in der Vaginalwand (Abb. 14a) detektiert, die sich nicht mehr zurückbildeten, aber keinen Einfluß auf die Fertilität des Tieres hatten.

Die **Cervix uteri** (Abb. 14c) war durch den gewundenen Verlauf des Zervikalkanals charakterisiert. Die Portio vaginalis uteri (Abb. 14b) konnte ebenso deutlich dargestellt werden wie der Übergang des kranialen Endes der Cervix in den Uteruskörper. Der mittlere Durchmesser der Cervix betrug  $10,26 \pm 1,87$  mm .

Das ultrasonographische Erscheinungsbild des **Uteruskörpers** glich dem der **Uterushörner**. Hyperechogenes Parametrium, hypoechogenes Myometrium und mittelechogenes Endometrium waren voneinander abgrenzbar. Die unregelmäßige, hyperechogene dünne Mittellinie wurde von den übereinanderliegenden Schleimhäuten gebildet. Unter Schwenken des Ultraschallkopfes konnten die Uterushörner in ihrem gesamten Verlauf teils im Längs-, teils im Querschnitt verfolgt werden (Abb. 14d). Der Durchmesser der Uteruskörper betrug im Mittel  $5,76 \pm 1,01$  mm.

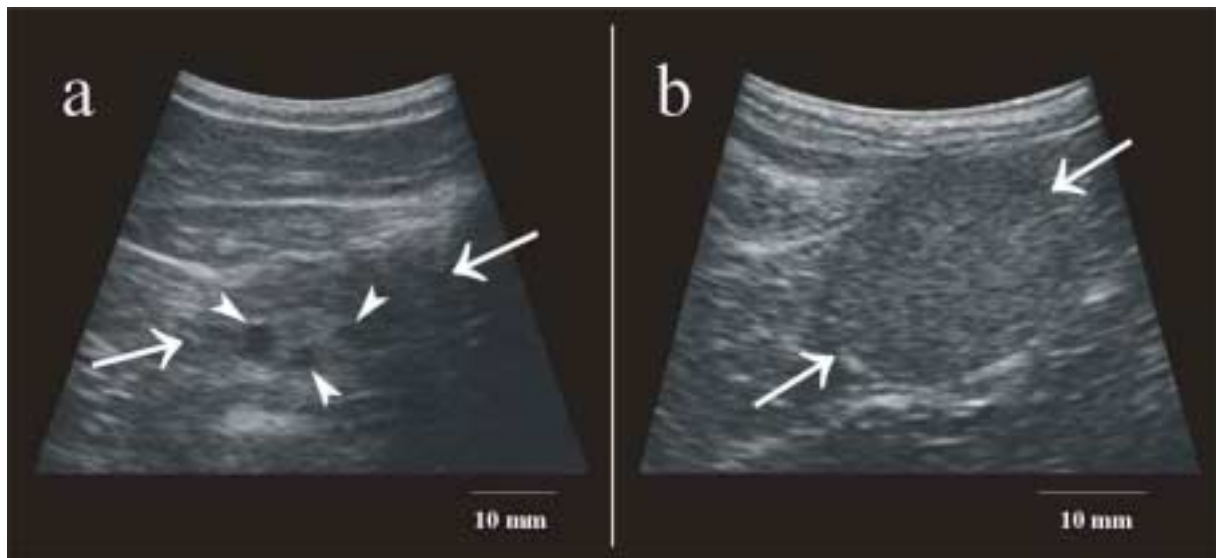




**Abb. 14** Ultrasonographische Darstellung von (a) der Vagina (➤➤) mit Zysten (↑), (b) der Portio vaginalis cervicis (➤➤) mit dem zapfenförmig in die Vagina ragenden äußeren Muttermund (↑), (c) der sich als gewundener Kanal darstellenden Cervix (↑) und (d) dem Uterus (➤) mit deutlichem Mittelecho (↑).

Verfolgte man die Uterushörner bis zum kranialen Ende, gelangte man zu den **Ovarien** (Abb. 15 und 18). Diese waren im Mittel  $23,39 \pm 3,53 \times 16,34 \pm 2,2$  mm groß. Das Stroma zeigte eine Mischung aus hypo- und hyperechogenen Zonen. Follikel stellten sich als kreisrunde, anechogene Strukturen dar. Sie fanden sich nicht nur kurz vor oder während der Brunst im Frühjahr, sondern auch im Herbst neben aktiven Gelbkörpern. Die Corpora lutea (C.II.) erschienen rund und homogen, im Vergleich zum Stroma hypoechogen, oftmals zeigten sie ein deutliches Mittelecho (Abb. 18). Ihr mittlerer Durchmesser betrug im September/ Oktober  $7,95 \pm 1,29$  mm.

Das ultrasonographische Erscheinungsbild des Genitaltraktes gravider Bären während der Diapause glich zu diesem Zeitpunkt dem von vier der fünf untersuchten nicht graviden Tiere. Gelbkörper ließen sich auch in diesen vier Bären darstellen. Die Ovarien der fünften Bärin („Conny“) erschienen hingegen durchgehend homogen und inaktiv (Abb. 15b).



**Abb. 15** (a) Ovar (↑) mit Follikeln (➤) im Mai, (b) inaktives Ovar (↑).

### 5.2.3. Nach Implantation

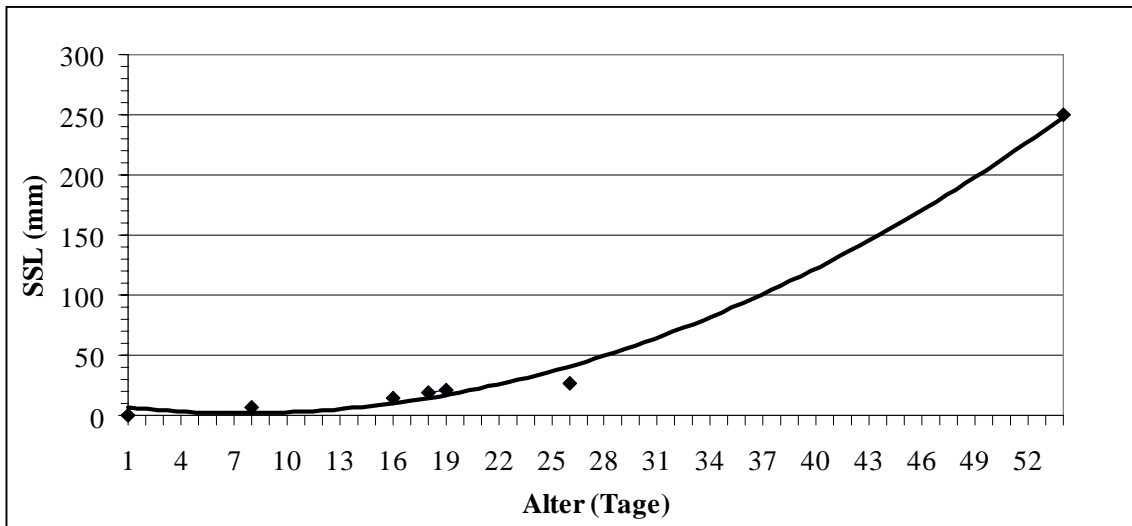
Erst unmittelbar vor der Implantation der Embryonen wurde eine ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnose möglich. Im Verlauf dieser Studien wurden elf tragende Bären untersucht. Es konnten unterschiedliche Trächtigkeitsstadien von einer 2,6 mm großen späten Blastozyste bis zu Föten mit einer SSL-Länge von 45 mm dargestellt werden (Abb. 17a-e).

Erstmals gelang bei zwei Bären („Vroni“ und „Alte“) die ultrasonographische Darstellung von Fruchtanlagen im periimplantativen Zeitraum.

Bei der Braunbärin „Vroni“ wurden am 24. November Blastozysten mit einem Durchmesser von 3,7 mm im Uterus aufgefunden. Unter der Annahme, daß deren Implantation unmittelbar bevorstand, und unter Berücksichtigung des Geburtstermins (17. Januar) kann bei dieser Bärin auf eine post-implantative Entwicklungsdauer von ca. 54-56 Tagen rückgeschlossen werden.

Legt man diesen Wert zu Grunde, kann für die Bären mit bekanntem Geburtstermin retrospektiv der Implantationszeitpunkt und damit auch das Alter (in Tagen nach Implantation) der Früchte zum Zeitpunkt der Ultraschalluntersuchung annähernd bestimmt werden. Man erhält so eine Korrelation zwischen Alter und Scheitel-Steiß-Länge der Früchte (Abb. 16), so daß auch das Alter und der Implantationszeitpunkt von Früchten mit unbekanntem Geburtstermin (Trächtigkeitsabbruch) annähernd bestimmt werden können (Tab. 13).

Die Vitalität der Früchte konnte anhand des Herzschlages, der bereits bei 7 mm langen Embryonen deutlich zu erkennen war, beurteilt werden. Die discoide Placenta erschien als hyperechogene Verdickung im Endometrium. Durch sorgfältiges Abfahren des Uterus mit dem Schallkopf konnte die Anzahl der Früchte ermittelt werden. Sie betrug durchschnittlich 2,33 (n=12), die durchschnittliche Anzahl der sonographisch aufgefundenen Corpora lutea 2,11 (n=9; Tab. 13).



**Abb. 16** Anhand der ultrasonographisch ermittelten Daten interpolierte Wachstumskurve der Bären von der Implantation bis zur Geburt. Vorausgesetzt wird eine postimplantative Entwicklungsdauer von 54 Tagen und eine mittlere Geburtsgröße (SSL) von 250 mm (STROGANOV, 1969).

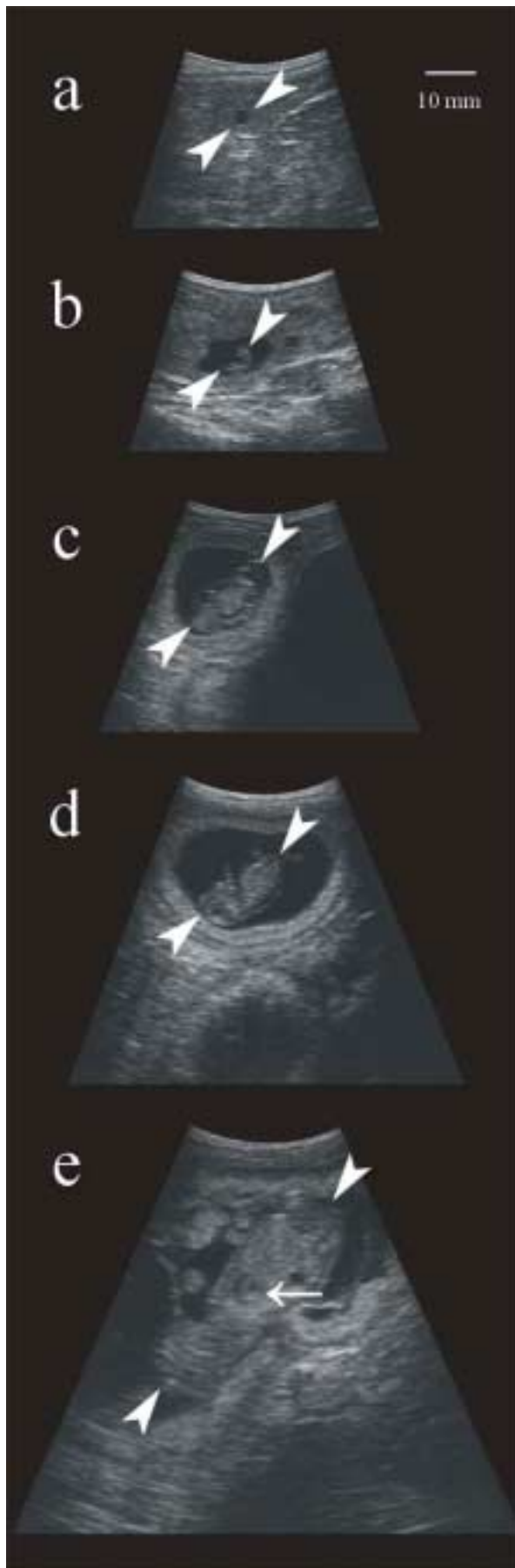
**Tab. 13** Reproduktionsphysiologische Daten von 12 ultrasonographisch untersuchten, graviden Bären unter Annahme einer post-implantativen Entwicklungsdauer von 54 Tagen.

Tier	Datum	Anzahl detektierter		SSL (mm)	Alter (Tage nach Implantation)	Implantation	Geburt
		C.ll.	Foeten				
Bianca	04.12.95	? <sup>1)</sup>	2	15	16	18.11.95	11.01.96
Perle	04.12.95	? <sup>1)</sup>	3	21	19	15.11.95	08.01.96
Mascha	05.12.95	? <sup>1)</sup>	2	27	26	9.11.95	02.01.96
Bianca	09.09.97	2	2	- <sup>2)</sup>		19.11.97	14.01.98
Panja	24.11.97	2	2	7	8	16.11.97	-
Olga	24.11.97	2	2	19	18	06.11.97	30.12.97
Vroni	24.11.97	2	2	3,7 <sup>3)</sup>	0	24.11.97	17.01.98
Mascha	02.12.97	2	2	12	12	18.11.97	-
Dunkle	13.11.98	2	3	14	14	28.10.98	-
Helle	13.11.98	2	2	8	9	02.11.98	-
Alte	13.11.98	3	≥ 2	2,6 <sup>3)</sup>	-2	15.11.98	-
Brauni	01.12.98	2	4	45	29	02.11.98	-

<sup>1)</sup> nicht ermittelt

<sup>2)</sup> nur vor Implantation untersucht

<sup>3)</sup> Durchmesser der Blastozysten



**Abb. 17** Sonographische Darstellung unterschiedlicher Trächtigkeitsstadien (➤).

a) Blastozyste im periimplantativen Zeitraum,  $\varnothing=3,7$  mm.

b) Embryo, ca. Tag 8 post implantationem, SSL 7 mm. Herzschlag detektierbar.

c) Foetus, ca. Tag 14 post implantationem, SSL 14 mm.

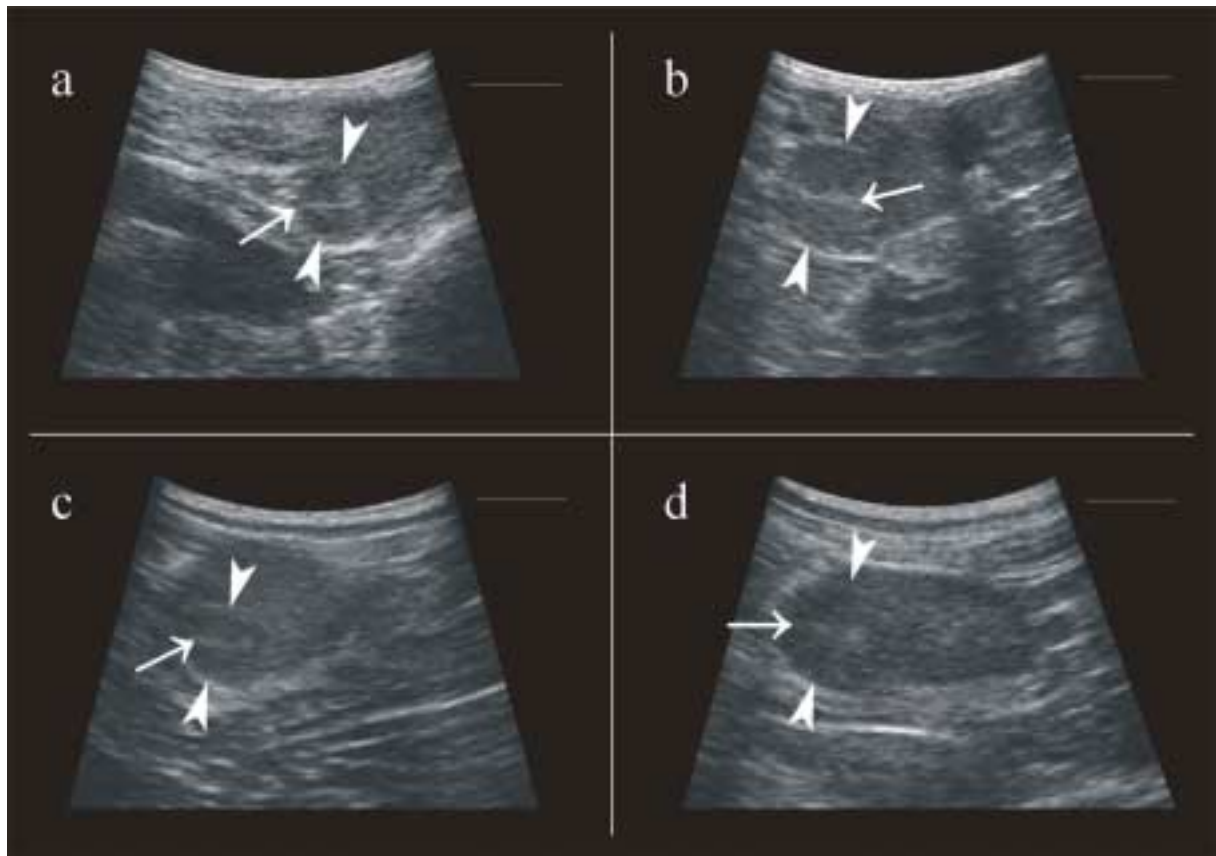
d) Foetus, ca. Tag 18 post implantationem, SSL 19 mm.

e) Foetus, ca. Tag 29 post implantationem, SSL 45 mm, Organe deutlich differenzierbar (z.B. Herz ↑).

Das ultrasonographische Erscheinungsbild des Genitaltraktes nicht gravider Bären glich mit Ausnahme der fehlenden Fruchtanlagen weiterhin dem gravider Tiere.

Die aus den Ergebnissen aller im Spätherbst durchgeführten Untersuchungen berechneten mittleren Durchmesser sowohl von Vagina ( $8,51 \pm 1,19$  mm) als auch Cervix ( $11,95 \pm 2,09$  mm) und Corpus uteri ( $7,28 \pm 0,88$  mm) waren Ende November/Anfang Dezember signifikant ( $p=0,05$ ) größer als im September/Oktober .

Die Gelbkörper erschienen sowohl bei graviden als auch bei nicht graviden Tieren im November/Dezember hypoechogener als im September/Oktober (Abb. 18). Die Größenzunahme im November/Dezember auf  $8,98 \pm 1,49$  mm war signifikant ( $p=0,05$ ).



**Abb. 18** Gegenüberstellung der jeweils selben Gelbkörper (➤) bei einem nicht graviden (a, b) und einem graviden Bären (c, d). Auf der linken Seite das Erscheinungsbild im September, auf der rechten Seite das Erscheinungsbild Ende November. Deutlich erscheint das hypoechogene Mittellecho (⤴).

### 5.3. Pharmakologische Untersuchungen

#### 5.3.1. Bioverfügbarkeit und Halbwertszeit von J956

Nach oraler Applikation konnten übereinstimmend in beiden Versuchsreihen nur geringe Konzentrationen des Antigestagens im Serum nachgewiesen werden (Tab. 14).

Tab. 15 zeigt, daß sich durch intramuskuläre Injektion einer alkoholisch-ölgigen Lösung trotz der höheren Dosierung (10 mg/kg KG) keine wesentlich höhere Serum-Konzentration als nach oraler Applikation erzielen läßt. Eine entsprechende Konzentration wird allerdings nach Injektion über einen deutlich längeren Zeitraum aufrecht erhalten. Die Konzentration lag an Tag 1 mit 13,63 ng/ml relativ hoch, pendelte sich dann aber bei einem Wert von 5,15 + 1,02 ein. An Tag 30 war ein deutlicher Abfall des Serumspiegels zu verzeichnen; an Tag 60 war kein J956 mehr im Serum nachweisbar.

Dieses Ergebnis wird durch die ermittelten Serumkonzentrationen bei behandelten Bären (Tab. 16) bestätigt. Die Werte lagen bei vier dieser Bären in einer vergleichbaren Größenordnung; nur die Bärin „Olga“ wies auch nach 21 Tagen noch einen deutlich höheren Serumspiegel auf.

**Tab. 14** Ermittelte Serum-Konzentrationen nach oraler Applikation (**fett**: Versuchsreihe 1997; **dünn**: Versuchsreihe 1996).

	<b>Tag 1</b>	<b>Tag 2</b>	<b>Tag 3</b>	<b>Tag 4</b>
<b>Blutprobe 8.00</b>	–	n. d.	<b>1,28 ng/ml</b> 1,20 ng/ml	<b>3,20 ng/ml</b> 4,24 ng/ml
<b>Antigestagen-Gabe 10.00</b>	<b>100 mg</b> 100 mg	<b>100 mg</b> 100 mg	<b>500 mg</b> 500 mg	--- <sup>1)</sup> 500 mg
<b>Blutprobe 16.00</b>	n. d.	<b>2,40 ng/ml</b> 2,40 ng/ml)	<b>6,76 ng/ml</b> 8,16 ng/ml)	<b>1,80 ng/ml</b> 7,96 ng/ml

<sup>1)</sup>Aufnahme wurde verweigert

**Tab. 15** Ermittelte und auf eine Wiederfindungsrate von 76,7% hochgerechnete Serum-Konzentrationen nach intramuskulärer Applikation von 10 mg/kg KM.

Tag nach Injektion	gemessene J956-Konzentration (ng/ml)	hochgerechnete J956-Konzentration (ng/ml)
1	13,63	17,42
2	6,81	8,88
3	5,02	6,54
4	3,96	5,16
7	4,00	5,22
9	5,11	6,66
11	6,02	7,85
30	2,76	3,60
60	0,00	0,00

**Tab. 16** Ermittelte und auf eine Wiederfindungsrate von 76,7% hochgerechnete Serum-Konzentrationen von J956 bei behandelten Bären (Dosierung 10 mg/kg KM i.m.)

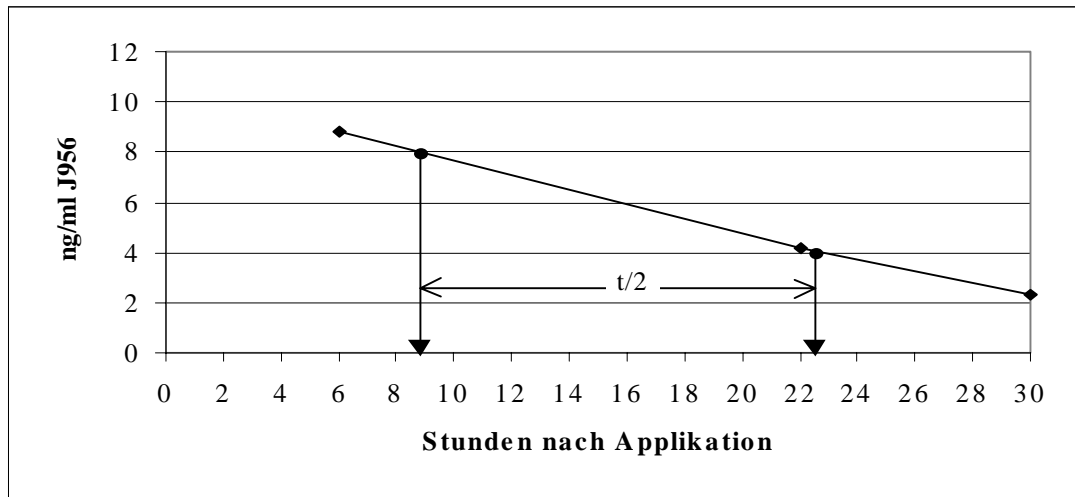
Tier	behandelt am	Blutprobe am	Zeitraum (Tage)	gemessene J956-Konzentration (ng/ml)	hochgerechnete J956-Konzentration (ng/ml)
Bianca	27.11.98	03.12.98	6	9,08	11,84
Inca	30.11.98	02.12.98	2	6,90	9,00
Olga	25.11.98	16.12.98	21	30,08	39,22
Helle	13.11.98	12.12.98	29	4,04	5,27
Dunkle	13.11.98	12.12.98	29	4,48	5,84

In Abb. 19 und 20 sind die Konzentrations-Zeit-Verläufe nach oraler und parenteraler Applikation graphisch dargestellt, um die Flächen unter den Konzentrationskurven (area under the concentration curve, AUC) und somit die Bioverfügbarkeiten miteinander vergleichen zu können.

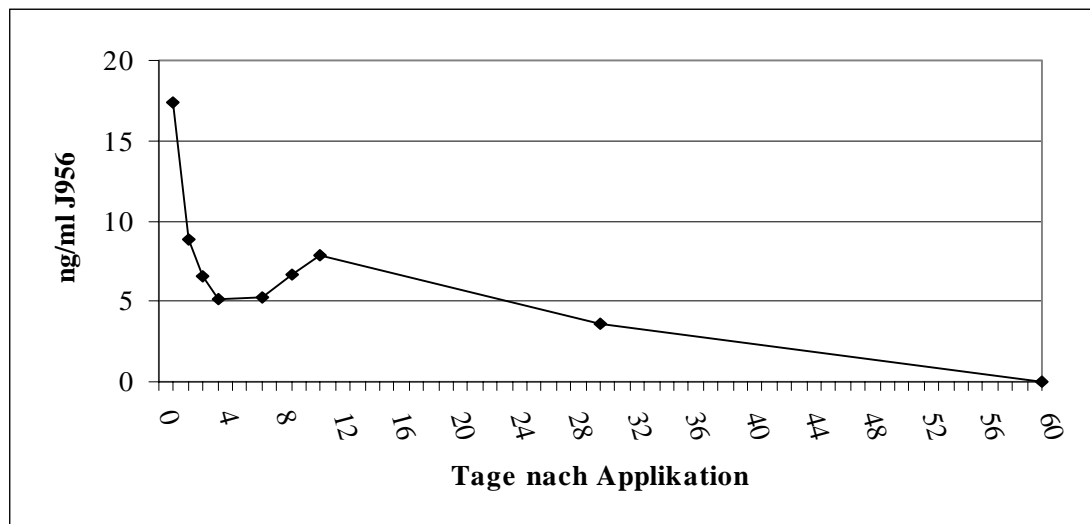
Zur Darstellung des Verlaufs nach oraler Applikation wurde die Gabe von 500 mg in der zweiten Versuchsreihe zu Grunde gelegt, da nur im Anschluß an diese drei Serumkonzentrationen ermittelt werden konnten. Eingesetzt wurden jeweils die für eine mittlere Wiederfindungsrate von 76,7% hochgerechneten Serum-Konzentrationen; zu beachten sind die unter-

schiedlichen Einheiten der x-Achse (Stunden bzw. Tage).

Außerdem kann anhand der Konzentrationskurve nach oraler Applikation die Halbwertszeit, d.h. die Zeit, in der eine Ausgangskonzentration auf die Hälfte abgefallen ist, von J956 abgelesen werden. Sie beträgt ca. 14 Stunden.



**Abb. 19** Verlauf der Konzentration von J956 im Serum nach oraler Applikation. Die Pfeile markieren das Zeitintervall, in dem die Konzentration von 8 auf 4 ng/ml abgefallen ist, also die Halbwertszeit ( $t/2$ ).



**Abb. 20** Verlauf der Konzentration von J956 im Serum nach intramuskulärer Applikation.



### 5.3.2. Behandlungsergebnisse

Alle behandelten Tiere waren jeweils in dem der Behandlung vorausgegangenen Frühjahr gedeckt worden; auf den Ovarien wurden ultrasonographisch Gelbkörper als Hinweis auf eine erfolgte Ovulation detektiert. Außer einer jungen Bärin hatten alle Tiere schon Nachwuchs gehabt (Tab. 1). Alle Behandlungsergebnisse sind in Tab. 17 zusammengefaßt.

#### 5.3.2.1. Applikation vor Implantation

##### 5.3.2.1.1. Orale Applikation von J956 und EE<sub>2</sub>

Die beiden Bären, die mit 1 mg/kg J956 und 100 µg/kg KM behandelt werden sollten, nahmen jeweils nur eine Einzeldosis auf. „Bianca“ erbrach einige Stunden nach der Applikation, und beide Tiere fühlten sich nach Angaben der Pfleger über einige Tage unwohl (Apathie, Futtermittelverweigerung). Ein Tier („Mascha“) wurde parenteral nachbehandelt (s. Kapitel 5.3.2.1.2.). Die nicht noch einmal behandelte Bärin „Bianca“ hatte keinen Nachwuchs.

Die vier Einzeldosen von 2 mg/kg J956 und 10 µg/kg EE<sub>2</sub> konnten an jeden der vier Bären verfüttert werden. Bei den ultrasonographischen Kontrolluntersuchungen am 24. November bzw. 2. Dezember erwiesen sich jedoch alle Tiere als tragend. Die Früchte dreier Tiere erschienen normal entwickelt und lebendig (deutlicher Herzschlag detektierbar). In einem Bären wurden späte Blastozystenstadien aufgefunden (Abb. 16a), über deren Lebensfähigkeit keine Aussagen möglich waren. Dieser Bär brachte jedoch wie ein weiterer Bär vollständig entwickelte Junge zur Welt, während die beiden anderen Tiere durch eine parenterale Applikation einer J956/EE<sub>2</sub>-Kombination nachbehandelt wurden (s. Kapitel 5.3.2.2.).

##### 5.3.2.1.2. Parenterale Applikation von J956

Beide Braunbären, die mit einer Dosis von 1 mg/kg behandelt worden waren, hatten normal entwickelten Nachwuchs.

Die übrigen sechs Bären, denen 10 mg/kg (zwei Tiere) bzw. 7,5 mg/kg (vier Tiere) appliziert worden waren, waren bei der Kontrolluntersuchung hingegen nicht tragend. Eine Gravidität der Braunbärin „Panja“ erschien allerdings ohnehin fraglich, da ihr Uterus pathologische Veränderungen aufwies, die mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den im Vorjahr nach Implantation durchgeführten Trächtigkeitsabbruch zurückzuführen waren (s. Kapitel 5.3.2.2.).

Alle Bären wurden in der folgenden Zuchtsaison erneut gedeckt.

### 5.3.2.1.3. Parenterale Applikation von EE<sub>2</sub>

Acht der neun nur mit Ethinylestradiol behandelten Bären wurden im Spätherbst ultrasonographisch untersucht. Die Trächtigkeitsdiagnose war bei diesen Bären negativ. Auch der neunte, nicht untersuchte Bär hatte keinen Nachwuchs.

Die Kragenbärin „Gisela“, in zwei aufeinanderfolgenden Jahren mit EE<sub>2</sub> behandelt, verhielt sich im zweiten Jahr im Anschluß an die Applikation über 14 Tage apathisch und verweigerte jegliche Futteraufnahme. In ihrem Uterus zeigte sich zwar eine geringfügige Flüssigkeitsansammlung, der Verdacht auf eine Pyometra bestätigte sich bei der ultrasonographischen Kontrolluntersuchung jedoch nicht.

Eine leichte Flüssigkeitsansammlung wurde auch im Uteruslumen der Bärin „Alte“ aufgefunden.

Bei der Braunbärin „Brauni“, bei der im Vorjahr ein Trächtigkeitsabbruch nach Implantation durchgeführt worden war, erschien eine Trächtigkeit allein aufgrund der vorliegenden Uterusveränderungen (s. Kapitel 5.3.2.2.) unwahrscheinlich.

Bei den Bärinnen „Mascha“ (zweimal), „Helle“, „Inca“ und „Bianca“ (keine Kontrolluntersuchung) wurden keine Nebenwirkungen beobachtet. Brunsterscheinungen bzw. Paarungen unmittelbar im Anschluß an die Applikation traten bei keinem Bären auf.

### 5.3.2.1.4. Parenterale Applikation von J956 und EE<sub>2</sub>

Keines der drei Tiere dieser Gruppe hatte Nachwuchs, wobei unklar bleibt, ob bei der Bärin „Mascha“ nicht schon die orale Applikation von 1 mg/kg J956 und 100 µg/kg EE<sub>2</sub> zu einem Trächtigkeitsabbruch führte.

Bei der Brillenbärin wurden im Anschluß an die ersten beiden Behandlungen Brunstsymptome in Form von wiederholten Paarungen mit dem Männchen beobachtet. Nach Halbierung der EE<sub>2</sub>-Dosis bei der dritten Applikation trat diese Erscheinung nicht mehr auf.

### 5.3.2.2. Applikation nach Implantation

Bei den sechs behandelten Bären war die Trächtigkeit zum Behandlungszeitpunkt unterschiedlich weit fortgeschritten. Bei allen sechs Bären wurden in dem dem Trächtigkeitsabbruch folgenden Frühjahr Paarungen beobachtet, so daß sie daraufhin erneut behandelt wurden.

Bei der Bärin „Alte“ wurden Blastozysten mit einem Durchmesser von 2,5 mm aufgefunden; die Behandlung erfolgte hier also noch im periimplantativen Zeitraum. Vier Wochen nach der

Behandlung glich das ultrasonographisch Erscheinungsbild ihres Uterus dem nicht-gravider Tiere.

In den Uteri der beiden Bären „Helle“ und „Dunkle“ wurden Früchte mit einer SSL von 8 bzw. 14 mm aufgefunden. Bei der ultrasonographischen Kontrolluntersuchung vier Wochen später konnten bei ihnen noch die Plazentationsnarben als umschriebene Verdickungen im Endometrium dargestellt werden (Abb. 21). Ein Jahr nach Behandlung waren keine Anzeichen eines Trächtigkeitsabbruchs mehr zu erkennen.

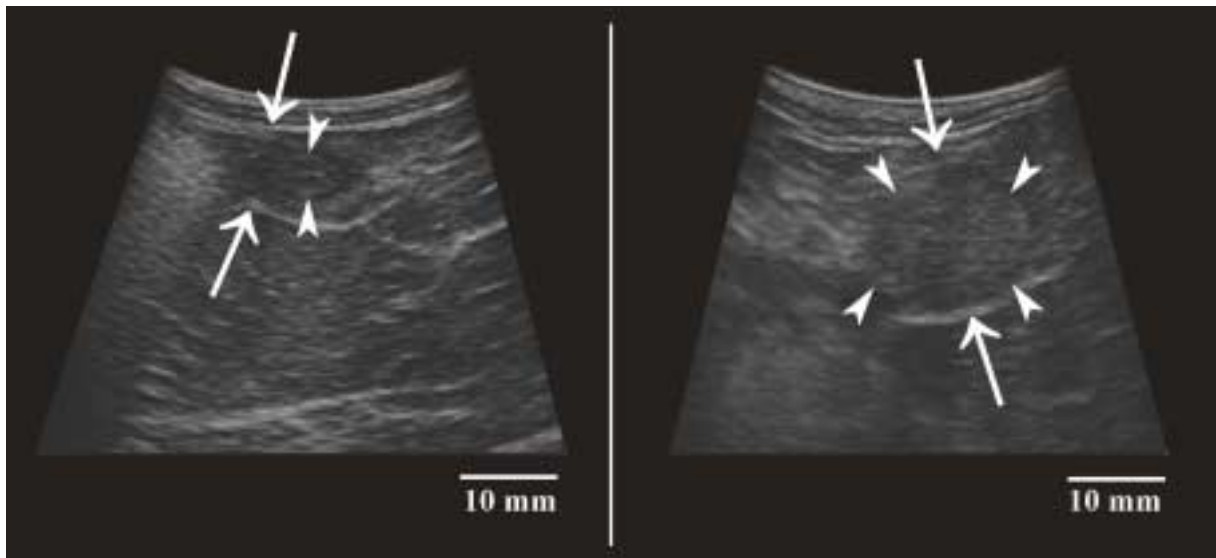
Die Corpora lutea dieser drei Tiere erschienen nach der Behandlung kleiner und hyperechogener.

Die drei übrigen Tiere konnten erst im folgenden Herbst erneut ultrasonographisch untersucht werden.

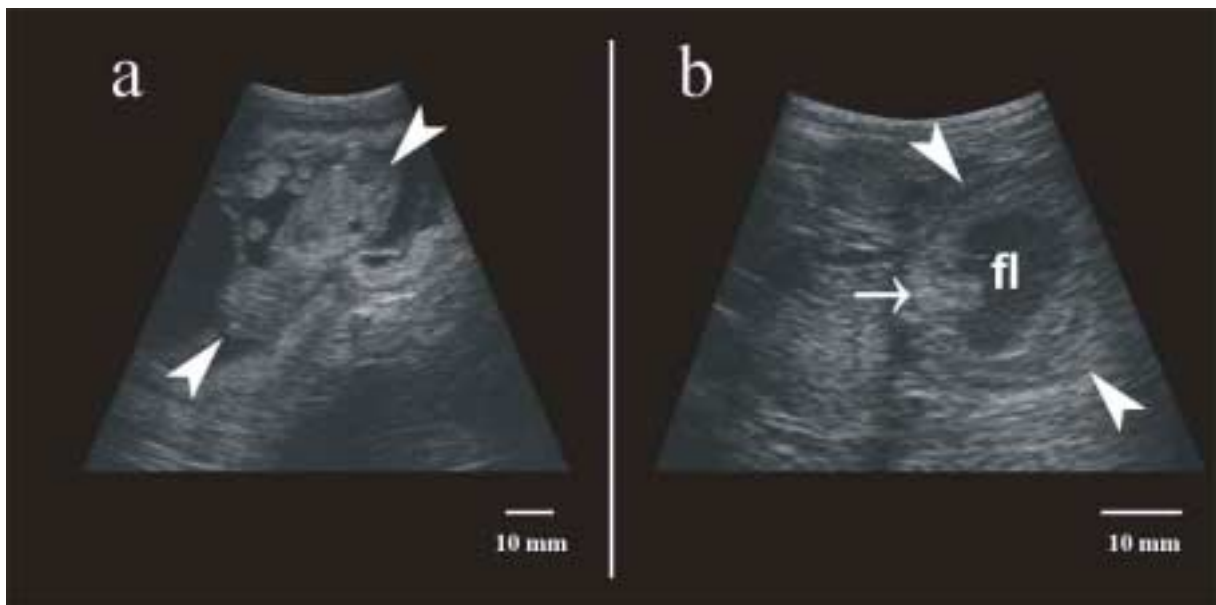
Bei „Mascha“ waren zum Zeitpunkt der Behandlung zwei 12 mm große Embryonen implantiert. Wenige Tage im Anschluß an die Behandlung zeigte sie ein Belegen der Vulva (Ausfluß?). Ca. elf Monate nach Behandlung war ihr Uterus vollständig zurückgebildet und erschien unauffällig.

Die beiden Embryonen der Bärin „Panja“ waren 15 Tage vor der Behandlung (09.12.) 7 mm, zum Zeitpunkt der Behandlung also über 20 mm groß. Ca. 11 Monate (22.10.) nach dieser Behandlung konnten im Endometrium multiple Zysten ultrasonographisch detektiert werden. Da die Bärin nach Beendigung der zweiten Kontrolluntersuchung (16.12.) in der Narkose starb, konnten diese Befunde am entnommenen Uterus verifiziert werden. Darüber hinaus fanden sich grünlich verfärbte Überreste einer abgestorbenen Frucht im Uterus (Abb. 23).

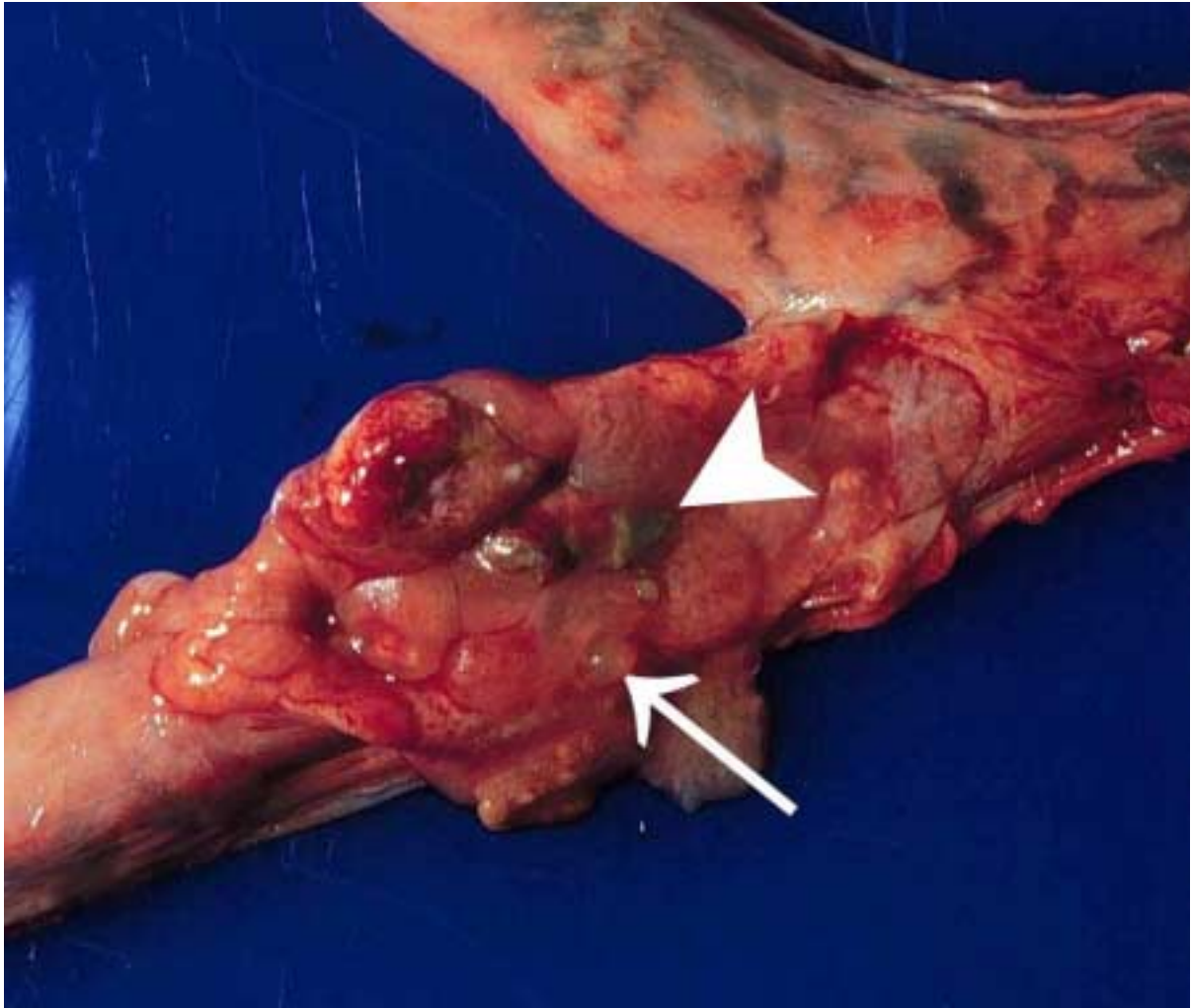
Bei der Braunbärin „Brauni“, als einzige ausschließlich mit J956 behandelt, wurden zum Behandlungszeitpunkt vier lebende Foeten mit einer Scheitel-Steiß-Länge von ca. 45 mm aufgefunden. Wenige Tage nach Injektion zeigte die Bärin blutigen Scheidenausfluß; es wurden keine Jungen geboren. Im folgenden Jahr wurde im Anschluß an eine EE<sub>2</sub>-Behandlung vor Implantation eine Kontrolluntersuchung durchgeführt. Hier zeigten sich im ultrasonographischen Bild 4 kugelige, mit Flüssigkeit gefüllte Hohlräume ( $\varnothing=26$  mm) im Uterus. Einer dieser Hohlräume war mit hyperechogenen Punkten durchsetzt („Schneegestöber“); im Endometrium zeigten sich an den Hohlräumen ca. 12 x 12 mm große, hyperechogene Verdickungen, die als alte Plazentationsstellen gewertet wurden (Abb. 22).



**Abb. 21** (a) Uterus ( $\uparrow$ ) der Bärin „Helle“ vier Wochen nach Trächtigsabbruch. Das Endometrium ( $\blacktriangleright$ ) ist noch deutlich verdickt. Ein Jahr nach Behandlung waren keine Anzeichen eines Trächtigsabbruchs mehr zu erkennen. (b) Der Uterus ( $\uparrow$ ) der Bärin „Dunkle“ ist ebenfalls noch vergrößert, die Plazentationsstellen sind als schwach hyperechogene Verdickungen ( $\blacktriangleright$ ) sichtbar. Die Bärin wurde in den folgenden Jahren nicht mehr untersucht.



**Abb. 22** Uterus der Braunbärin „Brauni“ zum Zeitpunkt der Behandlung (a) und ein Jahr nach Behandlung (b). Der Uterus ist nicht zurückgebildet, die Fruchtkammern ( $\blacktriangleright$ ) sind flüssigkeitsgefüllt. Überreste der Foeten waren nicht zu detektieren, die Plazentationsstellen ( $\uparrow$ ) waren noch deutlich sichtbar.



**Abb. 23** Eröffneter Uterus der Braunbärin „Panja“. Im Uteruslumen sind deutlich die Überreste einer abgestorbenen Frucht (➤) zu erkennen. Außerdem findet sich im Endometrium eine Zyste (↑). Weitere Zysten befanden sich im weiteren Verlauf beider Uterushörner.

**Tab. 17** Tabellarische Zusammenfassung der Behandlungsergebnisse

Gruppe	Tier	Datum	Dosierung		Ergebnis	Nebenwirkungen
			J956 (mg/)	EE <sub>2</sub> (µg/kg)		
J956/EE <sub>2</sub> oral vor Implantation	Mascha	21.10.96	1x 1	1x 100	nachbehandelt	Erbrechen, Futtermverweigerung, Apathie
	Bianca				keine Geburt <sup>1)</sup>	
	Olga	27.-30.10.97	4x 2	4x 10	Geburt	
	Vroni				trächtig, nachbehandelt	
	Panja					
	Mascha					
J956/EE <sub>2</sub> parenteral vor Implantation	Mascha	11.11.96	2,6	5	keine Geburt <sup>1)</sup>	Wiederholte Deckakte nach jeder Behandlung
	Bianca	20.10.98	10	10		
	Inca	03.09., 16.10., 30.11.98	3x 10	2x 10, 1x 5		
J956 parenteral vor Implantation	Mascha	28.09.95	1		Geburt	
	Bianca	29.09.95				
	Olga	22.10.98	10		keine Geburt <sup>1)</sup>	
	Panja					
	Helle	23.10.00	7,5			
	Alte	23.10.00				
	Bianca	19.10.00				
	Mascha					

Tab. 17 (Fortsetzung)

Gruppe	Tier	Datum	Dosierung		Ergebnis	Nebenwirkungen
			J956 (mg/kg)	EE2 (µg/kg)		
EE <sub>2</sub> parenteral <b>vor</b> Implantation	Gisela	20.10.98	-	10	keine Geburt <sup>1)</sup>	
	Mascha	20.10.98				
	Inca	11.10.99				-
	Bianca	20.10.99				Apathie, Futterverweigerung
	Helle	21.10.99				-
	Alte	21.10.99				-
	Brauni	22.10.99				-
	Gisela	21.10.99				Apathie+Futterverweigerung über 14 Tage
	Mascha	20.10.99				Apathie
J956/EE <sub>2</sub> oder J956 parenteral <b>nach</b> Implantation	Brauni	01.12.98			Abort <sup>2)</sup>	Blutiger Scheidenausfluß, unvollständige Resorption bzw. Expulsion der Foeten und ausgebliebene Involution des Uterus 12 Monate nach Behandlung
	Mascha	02.12.97	6,5	10		-
	Panja	09.12.97				Unvollständige Resorption bzw. Expulsion der Foeten, Endometriumszysten
	Helle	13.11.	10	10		
	Dunkle					
	Alte					

<sup>1)</sup> Keine Geburt: Gravidität nicht nachgewiesen

<sup>2)</sup> Abort: Der Behandlung ging positive ultrasonographische Trächtigkeitsuntersuchung voraus