

6. Diskussion

6.1. Methodik

Die Anzahl der Probanden und die Frequenz der Ultraschalluntersuchungen bzw. invasiven Probengewinnung waren, wie oftmals in der Zoo- und Wildtierforschung, dadurch limitiert, daß insgesamt nur eine geringe Anzahl von Individuen zur Verfügung stand und eine häufigere chemische Immobilisation der Tiere nicht vertretbar war. Endgültige, statistisch abgesicherte Ergebnisse können daher nur bedingt präsentiert werden. Trotzdem konnten mit Hilfe der angewendeten Methoden viele Erkenntnisse über die Fortpflanzungsphysiologie von Bären und Möglichkeiten einer postkonzeptionellen Reproduktionskontrolle gewonnen werden.

6.1.1. Endokrinologie

Erstmals wurde ein nicht-invasives Monitoring von Progesteronkonzentrationen in den Faeces von Bären über einen Zeitraum von mehreren Monaten durchgeführt. Es konnten so für jedes Individuum wesentlich mehr Daten zusammengetragen werden, als dies bei anderen endokrinologischen Studien, bei denen zur Gewinnung von Blutproben die Bären immobilisiert werden mußten, möglich war.

Die Bestimmung von Progesteronkonzentrationen in Faeces von Bären mittels Enzymimmunoassays ist gut geeignet, das Fortpflanzungsgeschehen im Jahresverlauf zu verfolgen. Es können nicht nur die Progesteronprofile einzelner Bären dargestellt und die Verläufe verglichen werden, sondern auch die Absolutwerte der untersuchten Tiere liegen in vergleichbaren Größenordnungen.

Beim Vergleich von Progesteronwerten in Serum und Faeces zeigt sich, daß Konzentrationsänderungen deutlicher in den aus den Faeces ermittelten Progesteronprofilen verfolgt werden können. So lassen sich die Progesteronkonzentrationen während der embryonalen Diapause weiter differenzieren, und der Konzentrationsanstieg zur Implantation fällt wesentlich deutlicher aus als in den Serumkonzentrationen. Offenbar werden Konzentrationsänderungen von Progesteronmetaboliten in Faeces durch Änderungen in der Metabolisierung des Progesterons noch potenziert.

6.1.2. Ultrasonographie

Die transrektale Adaptersonographie hat sich als Hilfsmittel sowohl bei der Erforschung reproduktionsphysiologischer Grundlagen als auch bei der Entwicklung und Anwendung von Verfahren des Reproduktionsmanagements wie der Beurteilung des Reproduktionsstatus, der

künstlicher Besamung oder der Reproduktionskontrolle bei vielen Tierarten bewährt (HILDEBRANDT und GÖRITZ, 1995; GÖRITZ, 1996).

Auch bei Bären gelingt mittels transrektaler Adaptersonographie die Darstellung des gesamten inneren Genitaltraktes mit Ausnahme der Eileiter. Funktionskörper auf den Ovarien und unterschiedlich weit fortgeschrittene Trächtigkeitsstadien, beginnend mit Blastozysten im periimplantativen Zeitraum, konnten ebenso wie pathologische Veränderungen der Genitalorgane detektiert werden. So ließen sich Reproduktionsstatus und -fähigkeit der untersuchten Bären zuverlässig beurteilen und somit auch der Behandlungserfolg der eingesetzten Verfahren zur Geburtenkontrolle kontrollieren und verifizierbar dokumentieren.

6.1.3. Pharmakologie

Mit Hilfe des kompetitiven Rezeptorassays konnten auch niedrige Serum-Konzentrationen von J956 zuverlässig bestimmt werden. Insbesondere für die pharmakologischen Untersuchungen wäre eine größere Anzahl Probanden und eine frequentere Gewinnung von Serumproben wünschenswert gewesen. Leider konnten Verlaufsuntersuchungen nur an einer einzigen Schwarzbärin durchgeführt werden. Sie können daher nicht a priori als repräsentativ angesehen werden. Außerdem sind sie vorsichtig zu interpretieren, weil sie nicht zwangsläufig auf alle Arten aus der Familie der *Ursidae* übertragbar sein müssen. Durch die Bestimmung von J956-Konzentrationen im Serum behandelter Braunbären und die Ergebnisse der klinischen Studie konnten die gewonnenen Erkenntnisse jedoch grundsätzlich bestätigt werden.

Die hohe Erwartungshaltung der beteiligten Tiergärten und der damit einhergehende Erfolgsdruck hatten Einfluß auf den Versuchsaufbau der klinischen Studie. Nach anfänglichen Mißerfolgen wurde das Antigestagen mit Ethinylestradiol kombiniert. Diese Kombination war zwar effektiv, half aber nicht, den tatsächlich wirksamen Bestandteil zu determinieren. Dies gelang erst nach getrennter Anwendung der beiden Präparate.

Die vorliegende Studie umfaßt die Ergebnisse aus sechs aufeinanderfolgenden Jahren. Da aus Gründen des Zootmanagements die Notwendigkeit bestand, fast alle Bären kontinuierlich in diesen Jahren zu behandeln, lassen sich Aussagen zur Reversibilität der angewendeten Verfahren bislang nur bedingt treffen.

Da keine ausreichend hohe Anzahl an unbehandelten, potentiell tragenden Kontrolltieren zur Verfügung stand, wurden die früheren Zuchtergebnisse der behandelten Bären zum Vergleich herangezogen.

6.2. Fortpflanzungsphysiologie des Bären

6.2.1. Östrus

Bei allen untersuchten Bären stimmen die Beobachtungen zur Paarungszeit mit den Angaben in der Literatur überein. Die Paarungsbereitschaft bei den in dieser Studie berücksichtigten Braunbärinnen erstreckte sich von April bis Juli und dauerte beim einzelnen Individuum von zwei bis drei Tagen bis zu mehreren Wochen an. Während einige Bären von Jahr zu Jahr immer zum etwa gleichen Zeitpunkt brünstig wurden, war bei anderen die Variationsbreite wesentlich größer und betrug bis zu zwei Monate.

Demnach ist der Östrus bei Bären in Zeitpunkt und Dauer relativ variabel. Zwei oder mehr deutlich getrennte Brunstperioden innerhalb eines Jahres wurden bei keinem Bären beobachtet.

Bei vier von fünf untersuchten Bären, die keinen Kontakt zu männlichen Tieren hatten, konnten Gelbkörper dargestellt und ihre Aktivität endokrinologisch nachgewiesen werden. Im Anschluß an die Ovulation entwickelten sie eine Pseudogravidität (s.u.). Eine induzierte Ovulation kann daher bei diesen vier Tieren ebenso wie eine zweite Brunst innerhalb eines Jahres ausgeschlossen werden.

Diese Ergebnisse sind deutliche Indizien, daß (Braun-)Bären spontan ovulieren und monöstrisch sind. Dies widerspricht jedoch den von mehreren Autoren übereinstimmend beschriebenen wiederholten Brunstperioden. Zur Klärung dieses Widerspruchs müssen weitere Beobachtungen und Untersuchungen an einer größeren Anzahl von Individuen durchgeführt werden. Hilfreich könnten ultrasonographische Untersuchungen und Östrogen- bzw. LH-Bestimmungen während der Paarungszeit sein.

6.2.2. Keimruhe

Die Entwicklung von der befruchteten Eizelle bis zur Blastozyste kann ultrasonographisch nicht verfolgt werden. Erst im periimplantativen Zeitraum können die aus der Zona pellucida geschlüpften Blastozysten, die jetzt einen Durchmesser von 2-3 mm erreicht haben, eindeutig ultrasonographisch abgegrenzt werden.

Bei einer Bärin („Olga“) wurde bereits im Juni (ca. zwei Monate nach der Brunst) ein gegenüber den während des Diöstrus ermittelten basalen Konzentrationen deutlich erhöhter Progesteronwert gemessen, der schon zu diesem Zeitpunkt den bei allen graviden Bären bestimmten Serumkonzentration während der Diapause im September/Okttober entspricht. Dies stimmt mit den Untersuchungen anderer Autoren überein (FORESMAN und Daniel, 1983; HELLGREN et al., 1990; TSUBOTA et al., 1998) und untermauert die Vermutung, daß Progesteron auch

während der gesamten embryonalen Diapause für die Aufrechterhaltung der Gravidität essentiell ist.

Allerdings unterscheiden sich die aus dem Faeces ermittelten Progesteronprofile zu Beginn der Keimruhe erheblich von den in eigenen Untersuchungen gemessenen und in der Literatur angegebenen Serumkonzentrationen. Zu einem allmählichen Anstieg der über den Kot ausgeschiedenen Gestagenmetaboliten während der Diapause kam es erst im August/September, ein deutlicher Anstieg war erst im Oktober, wenige Wochen vor der Implantation, zu verzeichnen.

6.2.3. Implantation, postimplantative Phase und Geburt

Die Implantation fand bei den untersuchten Braunbären zwischen Ende Oktober und Ende November statt und variierte somit um ca. einen Monat. Die Auswertung aller reproduktionsphysiologischen Daten der in dieser Studie berücksichtigten Braunbären (Tab. 1) zeigt, daß die Zeitpunkte von Geburt (zwischen 27. November und 21. Januar) und somit auch Implantation sogar um fast zwei Monate variierten. Allerdings unterschieden sie sich bei ein und demselben Tier nur um maximal 32 Tage, durchschnittlich nur um 20,2 Tage. Die in der Literatur angegebene Variationsbreite ist sogar noch größer, da Geburten bei Braunbären bis in den März hinein dokumentiert sind (LINDEMANN, 1954; DITTRICH und EINSIEDEL, 1961). Diese Daten zeigen, daß das Implantationsfenster bei Bären nicht so streng von der Tageslichtlänge oder anderen äußeren Faktoren determiniert zu werden scheint, wie dies etwa bei einigen Robbenarten (TEMTE und TEMTE, 1993; YORK und SCHEFFER, 1997) der Fall ist. Hierfür spricht auch, daß sich bei Bären, die im selben Gehege, also unter identischen Umweltbedingungen gehalten wurden („Olga“, „Vroni“, „Panja“), die Implantationszeitpunkte um bis zu 18 Tage unterschieden.

Nach Auswertung eigener Ergebnisse und einer Vielzahl von in der Literatur angegebenen Geburtsterminen ist der frühest mögliche Implantationszeitpunkt bei Braunbären Anfang Oktober. Die große Mehrheit der Geburten findet jedoch nicht vor Mitte Dezember statt, so daß nur in Ausnahmefällen mit einer Implantation vor Mitte Oktober zu rechnen ist.

Auf eine Abhängigkeit des Implantationszeitpunktes und der Geburt von der Paarungszeit (frühe Paarungszeit → frühe Implantation und Geburt bzw. umgekehrt) konnten keine Hinweise gefunden werden.

Berücksichtigt man die sonographisch ermittelten Implantationszeitpunkte, so zeigt es sich, daß bereits einige Tage vor der Implantation die Progesteronkonzentrationen stark ansteigen. Die höhere Aktivität der Gelbkörper zeigt sich auch im ultrasonographischen Erscheinungsbild. Nach der Implantation erscheinen die Gelbkörper sonographisch größer und hypoechogener als vor der Implantation. Dies stimmt mit den Untersuchungen von WIMSATT (1963) überein, wonach vor der Implantation kleine Luteinzellen, nach der Implantation große, vakuolisierte Luteinzellen dominieren. Dieser Anstieg der Progesteronkonzentration ist offenbar

für die Implantation essentiell, denn es konnte gezeigt werden, daß durch eine kompetitive Verdrängung von Progesteron mit dem Antigestagen J956 eine Implantation verhindert werden kann (s. Kapitel 6.3.3.1.2). Ob andererseits bei Bären die Applikation von Progesteron während der Keimruhe diese zu beenden vermag, ist nicht bekannt. Bei einigen Arten aus der Familie der *Mustelidae* mißlang der Versuch, durch eine exogene Gestagenzufuhr die Keimruhe zu verkürzen (MEAD, 1981; MEAD et al, 1981). Über den Auslöser für die Aktivierung der Gelbkörper und den Anstieg der Progesteronkonzentration sowie dessen hormonelle Regulation kann weiterhin nur spekuliert werden. Da bei allen tragenden Tieren die Proben-sammlung aufgrund der Winterruhe im Dezember eingestellt wurde, können über den weiteren Verlauf der Progesteronprofile keine sicheren Aussagen gemacht werden. Vermutlich beginnt die langsame Regression der Gelbkörper ähnlich wie bei Caniden bereits nach dem ersten Trächtigkeitstrimester und ist somit unabhängig von der Anwesenheit foetaler Strukturen. Die Anzahl von ultrasonographisch aufgefundenen Früchten und Gelbkörpern stimmt mit der Anzahl tatsächlich geborener Jungen weitestgehend überein. Diese Ergebnisse zeigen zum einen, daß die transrektale Adaptersonographie ein zuverlässiges und objektives Werkzeug zur Untersuchung der Ovarien und somit des Reproduktionsstatus von Bären ist. Zum anderen kann aber auch geschlußfolgert werden, (1) daß bei den untersuchten Bären keine akzessorischen Gelbkörper gebildet wurden, (2) daß es bei den untersuchten Bären keine Fruchtresorptionen während der Diapause gegeben hat und (3) daß bei den sechs Bären, bei denen die Trächtigkeit nicht artifiziell abgebrochen wurde, auch postimplantativ kein Fruchttod zu verzeichnen war.

5.2.4. Pseudogravidität

Wie bereits erwähnt, zeigen die ultrasonographischen und endokrinologischen Ergebnisse, daß spontane Ovulationen und die Bildung von Gelbkörpern auch bei Tieren stattfinden, die keinen Kontakt zu männlichen Artgenossen gehabt haben. Die Bärin „Conny“, die als einzige nicht ovuliert hatte, wird aufgrund der ganzjährig sehr niedrigen Progesteronkonzentrationen und des inaktiven Erscheinungsbildes der Ovarien als azyklisch erachtet, wobei allerdings nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, daß angebildete Follikel atresierten (in Folge einer ausgebliebenen induzierten Ovulation?), da eine Untersuchung nur im Herbst möglich war.

Die Progesteronprofile pseudogravider Bären ähneln denen gravider Tiere im Jahresverlauf. Auch bei pseudograviden Bären kommt es im Herbst zu einer Aktivierung der Gelbkörper, die sich im Ultraschallbild als Vergrößerung und Auflockerung der Textur, im Progesteronprofil als deutlicher Konzentrationsanstieg zeigt. Zeitpunkt und Verlauf dieses Konzentrationsanstiegs pseudogravider Bären sind aber offenbar variabler als bei graviden Bären. Dieses Ergebnis stimmt mit den Beobachtungen von HELLGREN et al. (1990) beim amerikanischen

Schwarzbären und SMITH und McDONALD (1974, *Canis familiaris*) bzw. BONNIN et al. (1978, *Vulpes vulpes*) bei Caniden überein. Dennoch dürfte die endokrine Regulation von Aktivierung und Regression der Corpora lutea pseudogaviditatis der bei graviden Bären entsprechen. Die von anderen Autoren beschriebenen, konstant niedrigen Progesteronkonzentrationen nicht gravider Bären sind vermutlich zu einem großen Teil auf eine Laktationsanöstrie zurückzuführen und stehen daher nicht im Widerspruch zu dem Auftreten einer Pseudogavidität bei nicht laktierenden Tieren.

Anhand der Progesteronprofile sind pseudogravide und gravide Tiere über den gesamten Trächtigkeitsverlauf nicht eindeutig zu unterscheiden. Auch das ultrasonographische Erscheinungsbild pseudogravider Bären gleicht dem gravider Bären bis zur Implantation, so daß eine Unterscheidung gravider und pseudogravider Bären vor der Implantation bislang weder endokrinologisch noch ultrasonographisch möglich ist.

Über den biologischen Nutzen der Pseudogavidität kann man nur spekulieren. SCHAMS et al. (1980) vermuten, daß die Progesteronsynthese unabhängig von der Gravidität aufrecht erhalten werden muß, da die ruhenden Blastozysten ihrerseits dem Uterus keine Trächtigkeit signalisieren können.

6.3. Neue Möglichkeiten der Reproduktionskontrolle bei Bären

Aus den zuvor beschriebenen Ergebnissen lassen sich einige relevante Erkenntnisse für die Untersuchung eines Antigestagen-/Östrogen-Einsatzes zum Trächtigkeitsabbruch bei Bären ableiten:

- Es konnte bestätigt werden, daß die Progesteronkonzentrationen im Serum bereits während der gesamten Keimruhe deutlich erhöht sind. Progesteron scheint demnach auch in diesem Stadium zur Aufrechterhaltung der Trächtigkeit notwendig zu sein, so daß ein Trächtigkeitsabbruch während der Keimruhe mit einem Progesteron-Antagonisten sinnvoll erscheint.
- Eine Trächtigkeitsdiagnose ist vor der Implantation bei Bären weder ultrasonographisch noch endokrinologisch möglich. Es müssen daher alle Bärinnen, die gedeckt worden sind, behandelt werden. Außerdem kann nicht mit endgültiger Sicherheit ausgewertet werden, ob bei Bären, die vor der Implantation behandelt wurden und die keinen Nachwuchs hatten, die Behandlung erfolgreich war oder aber diese Tiere von vornherein nicht tragend (pseudogavid) waren.
- Zwar ist anhand der Progesteronprofile keine Trächtigkeitsdiagnose zu stellen, es kann aber der Anstieg der Progesteronkonzentrationen verfolgt werden, vor dem eine Implantation ausgeschlossen werden kann.
- Um einen Trächtigkeitsabbruch sicher vor der Implantation auszulösen, kann vor der Behandlung eine transrektale ultrasonographische Untersuchung durchgeführt werden, oder

es werden regelmäßig Progesteronkonzentrationen im Kot bestimmt und die Behandlung durchgeführt, sobald die Konzentrationen steil ansteigen.

- Diese Untersuchungen sind für einen routinemäßigen Einsatz jedoch zu aufwendig. Der Zeitraum, in dem bei einzelnen Individuen mit der Implantation zu rechnen ist, läßt sich bei pluriparen Bären verhältnismäßig eng eingrenzen, da bei einem Individuum die Geburtstermine in der Regel nur um wenige Tage schwanken. Bei nulliparen Tieren und Bären, deren reproduktionsphysiologische Daten unbekannt sind, muß mit der Implantation zum artspezifisch frühest möglichen Implantationszeitpunkt gerechnet werden, so daß Braunbären möglichst bis Anfang, spätestens jedoch bis Mitte Oktober behandelt werden sollten.

6.3.1. Bindungsaffinität von J956 an den endometrialen Progesteronrezeptor

Die relative Bindungsaffinität des Antigestagens J912 wurde von JEWGENOW und MEYER (1998) für zwei Eisbären mit 1,29 bestimmt. Bei J912 handelt es sich um den Vorläufer von J956, der mit diesem chemisch eng verwandt ist, so daß sich beide in ihrer Bindungsaffinität nur geringfügig unterscheiden dürften. Unter der Voraussetzung, daß die Bindungsaffinität an die Progesteronrezeptoren anderer Bärenarten ähnlich ist, läßt sich trotz der geringen Anzahl untersuchter Tiere feststellen, daß die Bindungsaffinität an den Progesteronrezeptor des Bären nur geringfügig höher ist als die des Progesterons. Dies schließt J956 allerdings nicht von der Anwendung bei Bären aus, denn auch die Bindungsaffinität des in der Humanmedizin eingesetzten Mifepristone (RU486) an den humanen Progesteronrezeptor ist nur 2,5fach höher als die des Progesterons (HEIKINHEIMO, 1990).

6.3.2. Halbwertszeit und Bioverfügbarkeit von J956

Die Halbwertszeit von J956 beträgt bei der Schwarzbärin ca. 12-16 Stunden. Um einen ausreichend hohen Plasmaspiegel über mehrere Tage aufrecht zu erhalten, bestehen demnach drei Möglichkeiten: (1) Die einmalige Applikation einer hohen Dosis J956, (2) die wiederholte Applikation niedrigerer J956-Dosen, und (3) die einmalige Anwendung einer Formulierung von J956 mit einer Depotwirkung und kontinuierlichen Freisetzung über mehrere Tage.

Bei dem Vergleich der Bioverfügbarkeit nach oraler und intramuskulärer Applikation (der Fläche unter den dargestellten Konzentrationskurven, AUC) ist zu beachten, daß oral nur die Hälfte der parenteralen Dosis verabreicht wurde und die erzielte Anfangskonzentration bei beiden Applikationsarten unbekannt ist, da die erste Blutprobe erst sechs (oral) bzw. 24 Stunden (parenteral) nach der Applikation gewonnen wurde. Es ist nicht bekannt, wie schnell nach oraler oder intramuskulärer Applikation bei Bären ein maximaler Serumspiegel erreicht wird.

DERAEDT et al. (1985) beschreiben, daß nach oraler Gabe von Mifepristone beim Menschen bereits nach ½ bis 2 Stunden, bei der Ratte bereits nach 15 Minuten maximale Plasmakonzentrationen erreicht werden. Nach intramuskulärer Gabe wird ein Maximalwert bei Rhesusaffen nach wenigen Stunden erzielt.

Trotz der angesprochenen Unzulänglichkeiten ist deutlich erkennbar, daß die Bioverfügbarkeit nach intramuskulärer Applikation um ein Vielfaches größer als nach oraler Applikation ist.

Die Beobachtung, daß J956 nach intramuskulärer Injektion sehr langsam und kontinuierlich über mehrere Wochen freigesetzt wird, stimmt mit Ergebnissen von DERAEDT et al. (1985) an Rhesusaffen überein. Wurde Mifepristone als wäßrige Suspension den Affen i.m. appliziert, kam es zu einer sehr langsamen Freisetzung. Geringe Plasmakonzentrationen konnten noch 38 Tage nach der Injektion nachgewiesen werden. Nach i.m. Injektion einer öligen Lösung kam es hingegen zu einer vollständigen Freisetzung innerhalb eines Tages.

Durch die intramuskuläre Injektion wird also offenbar ein Depot gesetzt, aus dem das schwer lösliche Antigestagen nur langsam freigesetzt wird. Um einen konstanten Plasmaspiegel über mehrere Tage aufrecht zu erhalten, ist diese Form der Applikation somit das Mittel der Wahl.

6.3.3. Klinische Studie

6.3.3.1. Applikation vor Implantation

Die Auswertung der Behandlungsergebnisse dieser Versuchsgruppe gestaltet sich aus den oben angeführten Problemen einer präimplantativen Trächtigkeitsdiagnose schwierig.

Bei allen Probanden dieser Gruppe handelt es sich jedoch um Bären, die sich zum Zeitpunkt der Behandlung im reproduktionsfähigen Alter (DITTRICH und EINSIEDEL (1961) beobachteten Geburten noch bei 26-jährigen Braunbären) befanden und die regelmäßig im Anschluß an beobachtete Paarungen auch Nachwuchs zur Welt brachten. Da immer in dem den Behandlungen vorausgegangenem Frühjahr Paarungen beobachtet wurden und bei den zum Behandlungszeitpunkt ultrasonographisch untersuchten Tieren Gelbkörper als Zeichen einer erfolgten Ovulation detektiert werden konnten, wurde eine Gravidität in den entsprechenden Jahren als sehr wahrscheinlich angesehen. Allerdings mußte dies retrospektiv aufgrund erhobener Progesteronkonzentrationen und Ultraschallbefunde bei drei Tieren, die über zwei oder mehr Jahre behandelt wurden, in Frage gestellt werden.

6.3.3.1.1. Orale Applikation

Es können nur die Ergebnisse von fünf der sechs Tiere dieser Gruppe ausgewertet werden, da der sechste Bär („Mascha“) ohne ultrasonographische Kontrolle mit einer Injektion der J956/EE₂-Kombination nachbehandelt wurde, nachdem die orale Gabe von drei der vier Einzeldosen nicht geglückt war.

Erfolgreich war einzig die Behandlung der Bärin „Bianca“, obwohl auch ihr nur eine Einzeldosis verabreicht werden konnte. Die übrigen vier Tiere, die jeweils alle vier Einzeldosen aufgenommen hatten, erwiesen sich bei der Kontrolluntersuchung als tragend.

Die orale Gabe von viermal 2 mg/kg J956 und 10 µg/kg EE₂ reichte nicht aus, um eine ausreichend hohe und/oder lange Serumkonzentration zur Implantationsverhütung zu erzielen. Dieses Ergebnis stimmt mit den Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von J956 überein, nach denen nur eine geringe Menge der oral verabreichten J956-Dosis absorbiert wird.

Die orale Gabe von J956 kann demnach nicht empfohlen werden. Zwar ließe sich möglicherweise durch eine Erhöhung der Gesamtdosis, sei es durch Erhöhung der Einzeldosis oder durch Ausdehnung des Behandlungszeitraumes, der gewünschte Effekt erzielen. Bären sind jedoch sehr wählerisch bei der Futteraufnahme, so daß schon die Verabreichung der niedrigen Dosis Schwierigkeiten bereitet und die tatsächliche Aufnahme schwer zu verifizieren ist.

„Bianca“ war nur die halbe Dosis J956, aber eine zehnfach höhere Dosis EE₂ pro Einzeldosis als den übrigen vier Bären gegeben worden, so daß der Behandlungserfolg höchstwahrscheinlich auf den EE₂-Anteil zurückzuführen ist. Die Bärin hatte in der folgenden Zuchtsaison wieder Nachwuchs, womit die Reversibilität dieser Behandlung erwiesen ist.

Eine mögliche Alternative wäre somit die orale Gabe von Ethinylestradiol. Als einzige Nebenwirkung wurde im Anschluß an die Applikation Unwohlsein in Form von Erbrechen und einige Tage anhaltender Apathie beobachtet. Sollten dies die einzigen Nebenwirkungen sein, wären sie sicherlich tolerierbar. Allerdings müßten vor einem routinemäßigem Einsatz weiterführende Untersuchungen an einer größeren Zahl von Probanden angestellt werden, um die Dosis zu minimieren und schwerwiegende Nebenwirkungen sicher auszuschließen.

6.3.3.1.2. Parenterale Applikation

Nach 20 durchgeführten Behandlungen hatten nur die beiden Bären, denen ausschließlich J956 in niedriger Dosierung (1 mg/kg) injiziert worden war, Nachwuchs. Nach den übrigen 18 Behandlungen wurden weder ultrasonographische Anzeichen für eine Implantation noch Geburten beobachtet.

Einschränkend muß jedoch festgestellt werden, daß bei drei Tieren (zwei nur mit EE₂, eins nur mit J956 behandelt), bei denen im Jahr zuvor ein Trächtigungsabbruch nach Implantation durchgeführt worden war, eine Trächtigkeit bzw. erfolgreiche Implantation der Embryonen aufgrund der ultrasonographischen bzw. endokrinologischen Befunde fraglich erschien (s. Kapitel 5.2.2.3), obwohl auch diese drei Bären gedeckt worden waren.

Es können also nur die Ergebnisse von 15 Behandlungen in die Auswertung eingehen. Diese teilen sich folgendermaßen auf: Sieben Tiere wurden nur mit EE₂ in einer Dosierung von 10 µg/kg behandelt, sechs nur mit J956 (10 bzw. 7,5 mg/kg), und zwei Bären wurde eine Kombination von J956 (10 mg/kg) und EE₂ (10 µg/kg) verabreicht.

Die Behandlung mit ausschließlich J956 war ebenso erfolgreich wie die alleinige Verwendung von Ethinylestradiol (immer mit der Einschränkung, daß kein Trächtigkeitsnachweis vor der Behandlung erfolgen konnte). Offensichtlich können sowohl J956 als auch EE₂ alleine die Implantation verhindern. Somit kann davon ausgegangen werden, daß die Verwendung der Kombination beider Wirkstoffe keinen Vorteil gegenüber den Monopräparaten bietet.

Bislang bestand nur bei einer Bärin („Mascha“) die Möglichkeit, die Reversibilität einer Injektion von 2,5 mg/kg J956 und 5 µg/kg EE₂ eindeutig (ultrasonographischer Trächtigkeitsnachweis im folgenden Jahr) nachzuweisen. Alle behandelten Bären wurden jedoch in der folgenden Zuchtsaison wieder gedeckt, so daß der Hormonhaushalt durch die Behandlung nicht gestört wurde. Es konnten ultrasonographisch im Anschluß an die Behandlung auch keine pathologischen Veränderungen der Geschlechtsorgane festgestellt werden. Nebenwirkungen in Form von apathischem Verhalten, Futterverweigerung, Brunstsymptomen oder Erbrechen wurden nur im Anschluß an eine Behandlung mit EE₂ oder EE₂ in Kombination mit J956 beobachtet. Dies entspricht den in der Literatur beschriebenen Nebenwirkungen von Östrogenen [Bruntsymptome (GEHRING, 1989), Unwohlsein und Erbrechen (NEUMANN et al., 1992)].

Alle bis dato erfolgreichen Behandlungen wurden Mitte Oktober durchgeführt. Noch nicht beantwortet ist die Frage, ob ein Trächtigkeitsabbruch zu jedem beliebigen Zeitpunkt während der Keimruhe durchgeführt werden kann, oder die Applikation des Antigestagens tatsächlich kurz vor der Implantation, zum Zeitpunkt des Anstiegs der Progesteronkonzentrationen, zu erfolgen hat.

Die bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, daß durch die Behandlung keine vollständige Luteolyse induziert wird. Auch bei einer Applikation zu einem frühen Zeitpunkt der Diapause ist somit nicht damit zu rechnen, daß die Bärinnen erneut in den Östrus kommen und erfolgreich gedeckt werden.

6.3.3.2. Parenterale Applikation nach Implantation

Durch die parenterale Gabe von J956 (10 mg/kg) oder J956 (10 mg/kg bzw. 6,5 mg/kg) in Kombination mit EE₂ (10 µg/kg) konnte bei allen sechs behandelten Tieren die Trächtigkeit abgebrochen werden. Auch alle Bären dieser Versuchsgruppe wurden nach Angaben des Pflegepersonals in dem dem Trächtigkeitsabbruch folgenden Frühjahr wieder gedeckt. Demnach blieb der hormonelle Zyklus dieser Tiere unbeeinflusst.

Dem widersprechen allerdings die bei „Mascha“ im Oktober und November des folgenden Jahres gemessenen niedrigen Progesteronkonzentrationen in den Faeces. Diese deuten eher darauf hin, daß die Bärin keine aktiven Corpora lutea angebildet und somit nicht ovuliert hatte. Die im Oktober gemessene Serumkonzentration von 1,2 ng/ml Progesteron bringt keinen eindeutigen Aufschluß. Es kann nur spekuliert werden, ob es sich bei dieser Beobachtung um einen (auf die Behandlung zurückzuführenden?) pathologischen Befund handelt, oder aber die gesammelten Kotproben dem männlichen Tier zuzuordnen sind. Dies ist aufgrund der entsprechenden Haltungsbedingungen nicht auszuschließen.

Bei den beiden Bären, bei denen die Trächtigkeit relativ weit fortgeschritten war (SSL > 20 mm, ca. 20 Tage post implantationem), traten erhebliche pathologische Veränderungen der Genitalorgane auf. Eine vollständige Involution des Uterus und Austreibung bzw. Resorption der abgestorbenen Früchte war bei ihnen ausgeblieben. Darüber hinaus wurde bei einem Tier eine zystische Degeneration des Endometriums beobachtet, die mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den Östrogenanteil zurückzuführen ist.

Östrogene sollten daher grundsätzlich nicht mehr nach der erfolgten Implantation verabreicht werden. Die Anwendung von Antigestagenen nach erfolgter Implantation sollte, wenn unumgänglich, sehr vorsichtig und nur bis wenige Tage post implantationem erfolgen. Zu bevorzugen ist in jedem Fall eine Anwendung von Antigestagenen vor der Implantation.

6.3.4. Schlußbetrachtung und Ausblick

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß von der Anwendung von Östrogenen ebenso wie von Antigestagenen nach erfolgter Implantation aufgrund der möglichen Nebenwirkungen (zystische Degeneration des Endometriums, unvollständige Expulsion der Früchte, ausgebliebene Involution des Uterus und Endometritis) abzuraten ist.

Bewährt hat sich die parenterale Applikation (und möglicherweise auch orale Gabe einer hohen Dosis) von Ethinylestradiol vor der Implantation. Obwohl die beobachteten Nebenwirkungen nicht schwerwiegend und somit tolerierbar waren, darf man bei der Anwendung von Östrogenen nicht die für andere Carnivoren beschriebenen schwerwiegenden Nebenwirkungen außer Acht lassen. Östrogene sind stets vorsichtig einzusetzen, und sollten, sofern gute Alternativen zur Verfügung stehen, durch diese ersetzt werden.

Eine solche Alternative kann die Verwendung von Antigestagenen während der Diapause sein. In einer Dosierung von 7,5 bzw. 10 mg/kg KM war die parenterale Applikation bei allen acht Tieren erfolgreich, ohne daß ultrasonographisch irreversible Schädigungen detektiert werden konnten. Das normale Sozial- und Sexualverhalten blieb bei allen Bären erhalten, die Applikation konnte auf einmalige Gabe beschränkt werden und war aus der Distanz möglich. Obwohl der endgültige Nachweis der Reversibilität (bewiesen ist sie bislang lediglich für eine orale Gabe von 1 mg/kg J956/100 µg/kg EE₂ sowie für eine Injektion von 2,5 mg/kg J956 und 5 µg/kg EE₂) insbesondere nach kontinuierlicher Anwendung über mehrere Jahre noch aussteht, erscheint die Verwendung von Antigestagenen für einen Trächtigkeitsabbruch während der Diapause als vielversprechende Methode der Geburtenkontrolle bei Bären.

Der Nachteil einer Antigestagen-Anwendung ist derzeit in der Praktikabilität zu sehen.

Zwar sind mit der Zulassung des Antigestagens RU486 (Mifepristone bzw. Mifegyne) auch die Voraussetzungen für die Anwendung von Antigestagenen in der Veterinärmedizin geschaffen worden. Jedoch stehen für den routinemäßigen Einsatz bei Bären noch keine geeigneten, kommerziell erhältlichen Präparate zur Verfügung. Auch das in dieser Studie verwendete J956 befindet sich erst in der Testphase und ist noch nicht zugelassen.

Da sich die intramuskuläre Injektion von J956 der oralen Applikation deutlich überlegen gezeigt hat, eine Injektion bei Bären aber nur aus der Distanz möglich ist, muß ein möglichst geringes Volumen einer hochkonzentrierten Lösung zur Verfügung stehen. Die Herstellung einer solchen Lösung von J956 gelingt bislang nur kurzfristig unter Erwärmung im Ultraschall-Bad, so daß die Anwendbarkeit bislang nicht nur durch die Verfügbarkeit des Antigestagens an sich, sondern auch die Verfügbarkeit eines solchen Ultraschall-Bads limitiert wird.

Auch die Verwendung des in Frankreich für die parenterale Anwendung bei Hunden zugelassene Antigestagen-Präparat Alizine[®] (Virbac) ist nicht praktikabel, da für eine ausreichend hohe Dosierung das Gesamtvolumen (ca. 50 ml) zu groß für eine Distanzinjektion per Blasrohrpfeil würde.

Um Nebenwirkungen nach einer Langzeitanwendung ausschließen und das Behandlungsregime weiter optimieren zu können, bedürfen folgende Fragen noch einer weiteren Untersuchung:

1. Sind bei einer Anwendung von Antigestagenen oder Östrogenen in mehreren aufeinanderfolgenden Jahren irreversible Nebenwirkungen zu erwarten?
2. Kann der Behandlungszeitpunkt weiter vorverlegt werden, um die Gefahr einer postimplantativen Applikation auszuschließen?
3. Kann die Praktikabilität der Anwendung des Antigestagens erhöht werden (stabile Lösung bzw. Auflösung ohne Ultraschall-Bad), indem beispielsweise ein anderes Lösungsmittel gewählt oder die Dosis verringert wird?