

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Braun

**HORMONELLE KASTRATION  
BEIM WEIBLICHEN KANINCHEN  
MIT DEM GNRH-AGONISTEN DESLORELIN**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von  
Anja Michaela Geyer  
aus Neuburg an der Donau

2015

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Holm Zerbe

Tag der Promotion: 31.01.2015

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	1
Abbildungsverzeichnis .....	2
Tabellenverzeichnis .....	3
1. Einleitung .....	4
2. Literaturübersicht .....	5
2.1. Allgemeines .....	5
2.1.1. Anatomische Grundlagen Reproduktionstrakt Kaninchen .....	5
2.1.2. Histologische Merkmale Genitaltrakt Kaninchen .....	6
2.2. Sexualzyklus beim weiblichen Kaninchen .....	8
2.2.1. Sexualsteroidproduktion, Corpus luteum .....	9
2.2.2. Physiologie der Ovulation .....	10
2.2.3. Hormonverläufe beim Kaninchen .....	12
2.2.3.1. Außerhalb von Gravidität und Pseudogravidität .....	12
2.2.3.1. Pseudogravidität .....	12
2.2.3.2. Gravidität .....	14
2.3. Beeinflussung der Sexualfunktion .....	16
2.3.1. Induktion der Ovulation .....	16
2.3.2. Erkrankungen des Reproduktionstrakts und Kastration .....	16
2.3.2.1. Endometriale Hyperplasie .....	16
2.3.2.2. Uterines Adenokarzinom .....	17
2.3.2.3. Weitere Metropathien .....	18
2.3.2.4. Vaginaltumore .....	19
2.3.2.5. Gesäugeerkrankungen .....	19
2.3.2.6. Chirurgische Kastration .....	20
2.3.2.6.1. Operationstechnik .....	20
2.3.2.6.2. Risiken .....	20
2.4. Gonadotropin releasing Hormon (GnRH) .....	21
2.4.1. Chemische Struktur, Physiologie und Funktion .....	21
2.4.2. GnRH-Rezeptoren und Signalkaskade .....	24
2.4.3. Beeinflussung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse .....	24
2.4.3.1. GnRH-Agonisten .....	24
2.4.3.2. GnRH-Antagonisten .....	25
2.4.3.3. GnRH-Vakzinen .....	26
2.5. Bisherige Anwendung von GnRH - Langzeitagonisten bei verschie- denen Spezies .....	27
2.5.1. Hund .....	27
2.5.1.1. Rüde .....	27

2.5.1.2. Hündin .....	29
2.5.2. Katze.....	30
2.5.3. Heimtiere .....	32
2.5.3.1. Frettchen.....	32
2.5.3.2. Ratte .....	35
2.5.3.3. Meerschweinchen.....	35
2.5.4. Pferd .....	36
2.5.5. Schwein .....	36
2.5.6. Wiederkäuer .....	37
2.5.7. Wildtiere.....	39
2.5.8. Vögel .....	40
2.5.9. Reptilien .....	41
2.5.10. Mensch .....	41
2.6. Anwendung beim Kaninchen .....	43
2.7. GnRH-Antagonisten.....	44
2.8. GnRH-Vakzinen.....	45
3. Material und Methoden .....	47
3.1. Tierversuch und Tiere .....	47
3.2. Haltung und Fütterung .....	48
3.3. Zeitlicher Ablauf .....	49
3.4. Methoden.....	50
3.4.1. Klinische Untersuchung inklusive Gewichtsbestimmung.....	50
3.4.2. Gynäkologische Untersuchung .....	50
3.4.3. Implantation des GnRH-Analogons .....	50
3.4.4. Ovulationsinduktion .....	51
3.4.5. Gewinnung, Aufbereitung und Lagerung der Blutproben .....	51
3.4.6. Laboruntersuchungen .....	52
3.4.6.1. Blutbild und Serumparameter .....	52
3.4.6.2. Bestimmung der Progesteronkonzentration .....	52
3.4.7. Entfernung des Implantats.....	53
3.5. statistische Auswertung.....	54
4. Ergebnisse .....	55
4.1. Allgemeine klinische Untersuchung .....	55
4.1.1. Gruppe 1 .....	55
4.1.2. Gruppe 2 .....	55
4.2. Gewichtsentwicklung .....	56
4.3. Gynäkologische Untersuchung .....	57

4.4. Laboruntersuchungen .....	57
4.5. Progesteronkonzentration.....	58
4.5.1. Progesteronkonzentration Gruppe 1 .....	58
4.5.1.1. Vor der Behandlung .....	58
4.5.1.2. Progesteronkonzentration zum Zeitpunkt der Implantation.....	58
4.5.1.3. Induzierte Ovulation nach Implantatgabe .....	58
4.5.1.4. Ovulationsinduktion unter Wirkung des GnRH-Analogons .....	58
4.5.1.5. Reversibilität der Implantatwirkung.....	58
4.5.1.6. Übersicht Pseudograviditäten.....	60
4.5.2. Progesteronkonzentration Gruppe 2.....	61
4.5.2.1. Vor der Behandlung .....	61
4.5.2.2. Progesteronkonzentration zum Zeitpunkt der Implantation.....	61
4.5.2.3. Induzierte Ovulation nach Implantatgabe .....	61
4.5.2.4. Ovulationsinduktion unter der Wirkung des GnRH-Analogons .....	62
4.5.2.5. Reversibilität der Implantatwirkung.....	62
4.5.2.6. Übersicht Pseudograviditäten.....	63
4.6. Unerwünschte Nebenwirkungen .....	64
5. Diskussion .....	65
5.1. Praktische Relevanz von GnRH slow-release Implantaten.....	65
5.2. Ovulationsinduktion und Ovulationsinduktionsprotokoll.....	65
5.3. Pubertät und Beeinflussung des Pubertätseintritts durch GnRH-Agonisten.....	66
5.4. Progesteronbestimmung .....	67
5.5. Wirkung des Implantates.....	68
5.6. Reversibilität .....	68
5.7. Zusammenfassung .....	69
6. Zusammenfassung .....	70
7. Summary .....	72
8. Literaturverzeichnis.....	74
9. Danksagung .....	88

## **Abkürzungsverzeichnis**

Follikelstimulierendes Hormon	FSH
Alanin-Aminotransferase	ALT
Gonadotropin releasing Hormon	GnRH
Humanes Choriongonadotropin	hCG
Luteinisierendes Hormon	LH

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1 Pseudograviditäten Gruppe 1 .....	60
Abbildung 2 Pseudograviditäten Gruppe 2 .....	63

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1 Ovulationsinduktion nach Implantatentfernung Gruppe 1 .....	59
Tabelle 2 Ovulationsinduktion nach Implantatentfernung Gruppe 2 .....	62



## 1. Einleitung

Aufgrund des speziellen Zyklus des Kaninchens mit einer induzierbaren Ovulation und daraus resultierenden häufigen und teilweise langanhaltenden Hormoneinflüssen, kommt es bei unkastrierten Tieren häufig zu Erkrankungen des Genitaltraktes. Dem kann bisher nur mittels chirurgischer Kastration vorgebeugt werden. Allerdings besitzt das Kaninchen, wie andere kleine Heimtiere auch, ein relativ hohes Narkoserisiko. Zusätzlich kann die notwendige Laparotomie mit intra- und postoperativen Komplikationen einhergehen. Um diese Probleme zu umgehen, wäre eine weniger invasive Alternative zur chirurgischen Kastration sehr wünschenswert.

Bei einer zunehmenden Anzahl an Tierarten liegen Daten vor, dass eine hormonelle Kastration mittels GnRH-Agonist slow-release Implantaten eine sichere, meist nebenwirkungsfreie Alternative zur herkömmlichen Kastration repräsentiert.

Im Rahmen dieser Studie wurden daher sieben juvenile und sechs geschlechtsreife Tiere mit einem slow-release GnRH-Implantat behandelt, welches nach 273 Tagen wieder entfernt wurde. Die Auswirkungen auf den Zyklus der Tiere, mögliche Nebenwirkungen und die Reversibilität der Behandlung wurden erfasst. Hierfür wurden Progesteronbestimmungen aus regelmäßig entnommenen Serumproben nach dem Versuch einer Ovulationsinduktion mittels intramuskulärer Gabe von Buserelin bestimmt.

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1. Allgemeines**

Das Hauskaninchen gehört zur Ordnung Lagomorpha, zur Familie Leporidae und zur Art *Oryctolagus cuniculus*. Alle Kaninchenrassen und Farbschläge gehen auf Wildkaninchen zurück (Göbel et al, 2005).

#### **2.1.1. Anatomische Grundlagen Reproduktionstrakt Kaninchen**

Die Ovarien befinden sich im dorsalen Abdomen kaudal der Nieren und haben eine elliptische Form. Sie beinhalten beim adulten Tier viele Follikel in unterschiedlichen Reifungsstadien. Das Ovar ist kaudal durch ein kurzes Band mit dem Mesovar verbunden. Der Eileiter ist lang und von rötlicher Farbe (Harcourt-Brown, Chitty, 2013).

Der Uterus ist als Uterus duplex angelegt. Das bedeutet, dass ein Corpus uteri nicht vorhanden ist. Beide Cervices münden in die Vagina simplex (Bishop, 2002; Göbel, Ewringmann, 2005; Nickel, Schummer et al., 2004; Quesenberry, Carpenter, 2004).

Die Vagina ist ein schlaffes muskuläres Hohlorgan, das sich während dem Urinabsatz mit Harn füllt. In der Mitte der Vagina mündet ventral die Urethra (Harcourt-Brown, Chitty, 2013).

Das Vestibulum vaginae beginnt auf Höhe der Symphysis pelvis (Barberini, Correr et al., 1991).

Das Gesäuge besteht meist aus acht Gesäugekomplexen. Bei manchen Tieren sind bis zu vier zusätzliche Komplexe vorhanden (Quesenberry, Carpenter, 2012).

### **2.1.2. Histologische Merkmale Genitaltrakt Kaninchen**

Das Endometrium des Kaninchens verändert sich im Verlauf der Pseudogravidität. Insgesamt lassen sich sechs verschiedene Phasen voneinander abgrenzen. Während des ersten, 24 Stunden andauernden Stadiums wandern Leukozyten in das Epithel ein. Darauf folgt eine dreitägige Proliferationsphase. In der nun folgenden dritten Phase von identischer Dauer treten Schleimhautfältelung und sekretorische Aktivität auf. Die vierte Phase vom sechsten bis zum achten Tag der Pseudogravidität ist von Zellfusion zu mehrkernigen Zellen geprägt. Im nächsten fünftägigen Stadium sind schlussendlich fast alle Zellen mehrkernig. Davon ausgenommen sind zilierte Zellen, welche vor allem antimesometrial auftreten. In der letzten Phase kommt es zur Degeneration und Abschilferung des Endometriums (Davies, Hoffman, 1973).

Die elektronenmikroskopische Untersuchung des Endometriums neun bis 74 Stunden post Kopulation ergab ebenfalls das Vorliegen unterschiedlicher Zellpopulationen. Zilierte Zellen lagen in dieser Phase einzeln oder in kleinen Gruppen zwischen den sekretorischen Zellen vor. Die Zilien wiesen eine Länge von  $5,5\mu\text{m}$  und einen Durchmesser von  $0,3\mu\text{m}$  auf. Ihre Rolle ist weitgehend unklar. Möglicherweise sind sie nur entwicklungsbedingt vorhanden, alternativ wäre die gleichmäßige Sekretverteilung im Uterus als Funktion vorstellbar. Des Weiteren besitzen die zilierten Zellen Mikrovilli. Die zweite Zellpopulation stellen mutmaßlich sekretorisch aktive Zellen dar. Diese besitzen nur ein oder zwei zentral gelegene Zilien, die mit  $0,2\mu\text{m}$  etwas dünner und mit  $2-3\mu\text{m}$  Länge deutlich kürzer sind als die der zilierten Zellen. Diese Zellen weisen außerdem wenige  $0,2\mu\text{m}$  lange Mikrovilli auf. Wenn sie benachbart zu endometrialen Drüsen liegen, beträgt die Länge der Mikrovilli  $0,5-1\mu\text{m}$ . Zwischen den Zellen sind viele Drüsenöffnungen erkennbar. Die sekretorisch aktiven Zellen verändern sich während dieser Phase sehr stark. Es kommt zur Retraktion der Mikrovilli. Außerdem entstehen durch die apikale Ansammlung von Material progressive große knollige Oberflächenprotrusionen (Motta, Andrews, 1976).

Das Epithel der Zervix geht nahtlos in das Epithel der Vagina über. Es handelt sich um ein einschichtiges Epithel, welches teilweise zilierte Zellen oder Zellen mit Mikrovilli aufweist. Die Zellen mit Mikrovilli besitzen vor allem postkoital sekretorische Aktivität. Das Sekret

kann als Spermienreservoir dienen und möglicherweise deren Überlebensfähigkeit verbessern (Barberini, Correr et al., 1991).

Das Vestibulum vaginae weist ein mehrschichtiges Plattenepithel auf (Barberini, Correr et al., 1991).

## 2.2. Sexualzyklus beim weiblichen Kaninchen

Das Kaninchen hat einen asaisonalen Reproduktionszyklus (Bakker, Baum, 2000).

Der Östruszyklus ist nicht zeitlich genau definiert. Allerdings liegen Phasen mit erhöhter sexueller Rezeptivität vor (Quesenberry, Carpenter, 2004). Diese Phasen beim nicht tragenden, nicht pseudograviden Kaninchen dauern vier bis sechs Tage (Bakker, Baum, 2000), andere Autoren nennen eine Zeitdauer von sechs bis sieben Tagen (Caillol, 1983). Auch der Wechsel von sieben bis zehn Tagen Deckbereitschaft mit darauffolgenden ein bis zwei Tage andauernden Phasen fehlender Deckbereitschaft sind beschrieben (Easson, 2001).

Die Follikelanbildung und –reifung erfolgt in Wellen. Jede Follikelwelle besteht aus fünf bis zehn Follikeln pro Ovar (Harcourt-Brown, Chitty, 2013).

In den Phasen erhöhter sexueller Rezeptivität ist die Vulva sehr häufig ödematisiert, feucht und bläulich verfärbt. Duldungsbereitschaft signalisiert das weibliche Tier durch Lordose und Präsentation des Perineums bei Aufsprungversuchen des Rammlers. Falls keine Duldungsbereitschaft vorliegt, entfernt es sich und gibt Lautäußerungen von sich (Quesenberry, Carpenter, 2004). Allerdings kann die Rezeptivität auch während einer Scheinträchtigkeit auf niedrigem Level erhalten bleiben, weshalb die Unterscheidung von Diöstrus und Östrus mitunter schwierig sein kann (Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983). Eine Vaginalzytologie kann beim Kaninchen nicht zur Bestimmung des Zyklusstandes benutzt werden (Quesenberry, Carpenter, 2004).

Wenn Ovulationen stattfinden, es allerdings nicht zur Befruchtung der Eizellen kommt, resultiert eine Pseudogravidität. Dies ist beispielsweise durch eine sterile Bedeckung (Rubin, Azrin, 1967) oder gegenseitiges Bespringen auslösbar (Göbel, Ewringmann, 2005). In einer Studie, in der die weiblichen Kaninchen künstlich besamt wurden, führten eine einfache Manipulation, das Einführen eines Besamungskatheters oder eine intramuskuläre Injektion bei 37,5% der Tiere zur Ovulationsinduktion (Rebollar, Dal Bosco et al., 2012).

Die Pseudogravidität dauert beim Kaninchen 17 (Hilliard, Spieß et al., 1968) bis 18 (Quesenberry, Carpenter, 2004) Tage. Sie geht mit physiologischen Veränderungen und Verhaltensänderungen einher, die denen einer echten Trächtigkeit sehr ähnlich sind. Es

kommt zur Ausbildung von Corpora lutea und zur Anbildung der Gesäugeleiste. Gegen Ende der Pseudogravidität können in der Regel Nestbauverhalten unter Verwendung eigener Haare und Deckbereitschaft beobachtet werden (Rubin, Azrin, 1967). Am Ende einer solchen Scheinträchtigkeit kommt es zur Luteolyse, zur Atrophie der endometrialen Drüsen und zum Wiedereintritt eines Östrus (Hilliard, Spieß et al., 1968).

Die Trächtigkeit des Kaninchens dauert 29 bis 33 Tage. Kurz vor der Geburt zeigen die Tiere typisches Nestbauverhalten. Ein Wurf umfasst im Schnitt drei bis acht Jungtiere. Diese werden sechs Wochen lang ein- bis zweimal täglich gesäugt (Göbel, Ewringmann, 2005).

Während der Trächtigkeit wird das Östrusverhalten wahrscheinlich durch Progesteron unterbunden. Ein bis zwei Tage nach der Geburt tritt beim Kaninchen ein Östrus auf, welcher möglicherweise durch Östrogene in der Abwesenheit von Progesteron ausgelöst wird. In diesem Östrus ist bereits wieder eine erfolgreiche Bedeckung möglich. Danach liegt ein Laktationsanöstrus vor, da das Säugeverhalten wahrscheinlich die Gonadotropinsekretion unterdrückt (Beyer et al, 2007).

### **2.2.1. Sexualsteroidproduktion, Corpus luteum**

Das Corpus luteum ist die einzige bisher bekannte Progesteronquelle des trächtigen und des scheinträchtigen Kaninchens (Hilliard, Scaramuzzi et al., 1973). Die Größe bzw. das Gewicht des Corpus luteum korrelieren mit seiner Progesteronproduktion. Das Volumen des Gelbkörpers ist am sechzehnten Tag einer Trächtigkeit maximal (Hilliard, Spieß et al., 1968; Miller, Keyes, 1975; Miller, Keyes, 1978; Özalp, Seyrek-İntaş et al., 2008).

Bis zum fünften oder sechsten Tag nach dem Beginn der Luteinisierung ist der Gelbkörper östrogenunabhängig, danach wird Östrogen als luteotroper Faktor obligat benötigt, um die Gelbkörperfunktion aufrechtzuerhalten (Miller, Keyes, 1975; Miller, Keyes, 1978). 48 bis 72 Stunden nach Östradiolentzug konnte im Corpus luteum eine deutliche Rekrutierung von Makrophagen beobachtet werden (Naftalin, Bove et al., 1997). Östradiol kann beim Kaninchen folglich als das ultimative Luteotropin bezeichnet werden (Robson, 1937).

Ab dem fünften oder sechsten Tag, also vom gleichen Zeitpunkt an, ab dem Östrogen als luteotroper Faktor benötigt wird, kann man erstmals Östrogenrezeptoren im Corpus luteum

nachweisen (Miller, Keyes, 1975; Miller, Keyes, 1978). Am achten Tag der Scheinträchtigkeit ist die Rezeptorkonzentration maximal. In der Mitte der Scheinträchtigkeit beginnt die Konzentration wieder abzufallen. Die Reaktion der Corpora lutea auf Östrogen hängt von der Rezeptoranzahl ab. Weniger Rezeptoren führen zu einer verringerten Ansprechbarkeit und es existiert die Hypothese, dass dies letztendlich zur Gelbkörperregression führt (Lee, Keyes et al., 1971).

Es konnte, im Gegensatz zu anderen Tierarten, kein Hinweis auf das Vorliegen eines uterinen Luteolytikums gefunden werden (Miller, Keyes, 1975).

Progesteron und  $20\alpha$ -Dihydroprogesteron sind die Steroide, die hauptsächlich vom Gelbkörper gebildet werden (Miller, Keyes, 1975; Miller, Keyes, 1978). Browning et al (1980) konnten variable  $20\alpha$ -Dihydroprogesteronwerte während Trächtigkeit und Scheinträchtigkeit aufzeigen, was keine eindeutige Funktion dieses Hormons während dieser Phasen erkennen lässt.

### **2.2.2. Physiologie der Ovulation**

Es existieren zwei unterschiedliche neuroendokrine Mechanismen der Ovulation: die spontane und die induzierte Ovulation.

Bei den spontan ovulierenden Tierarten werden Steroidhormone aus dem reifenden Follikel freigesetzt. Es kommt zur pulsatilen GnRH-Ausschüttung aus der Eminentia mediana und zur Auslösung des präovulatorischen LH-Peaks (Bakker, Baum, 2000).

Zu den Tierarten mit induzierter Ovulation zählen beispielsweise Kaninchen (Beyer, Hoffman et al., 2007; Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983; Göbel, Ewringmann, 2005; Hilliard, Archibald et al., 1963; Quesenberry, Carpenter, 2004), Hase, Frettchen, Katze, Kamel, Nerz und Wühlmaus. Durch Östradiol wird im Gehirn des weiblichen Tieres rezeptives Verhalten ausgelöst. Daraus resultieren Verhaltensöstrusphasen, in denen die Ovulation durch den somatosensorischen Stimulus des Deckaktes induziert werden kann. Die Intromission bewirkt eine Aktivierung noradrenerger Neurone im Mittelhirn und im Hirnstamm. Diese projizieren zum mediobasalen Hypothalamus und fördern die Ausschüttung von GnRH aus den Nervenendigungen der Eminentia mediana. Es folgt der präovulatorische LH-Peak. Bei der

induzierten Ovulation existiert kein oder nur ein reduzierter positiver feedback der Steroidhormone auf die GnRH-Ausschüttung. GnRH produzierende Neuronen befinden sich - mit speziesspezifischen Unterschieden - in einer rostrocaudalen Verlängerung des ventralen Vorderhirns. Die meisten Axone verlaufen von hier aus zur Eminentia mediana, wo die Nervenendigungen im perikapillären Raum des Hypophysen-Portalplexus liegen (Bakker, Baum, 2000).

Postcoital konnte beim Kaninchen ein rascher Anstieg der GnRH-Freisetzung in der tuberal portion, einem bestimmten Abschnitt des Hypothalamus, verzeichnet werden. Die basale pulsatile GnRH-Ausschüttung kann dahingegen in vielen Regionen des Hypothalamus gemessen werden (Lin, Ramirez, 1991).

Die Mechanismen der LH-Ausschüttung und somit der Ovulationsinduktion weisen tierartige Unterschiede auf. Beim Frettchen und eventuell auch beim Nerz folgt die Ovulationsinduktion durch einen Deckakt dem alles-oder-nichts-Prinzip. Bei der Katze hingegen beeinflusst das Ausmaß der koitalen Stimulation die Dauer und die Höhe des LH-Peaks. Nach einem einzigen Deckakt ovulieren nur 50% der Tiere, während eine mehrfache Bedeckung bei fast allen Tieren zur Ovulationsinduktion führt (Bakker, Baum, 2000). Beim Kaninchen reicht ein einziger fertiler Deckakt aus, um eine rasche LH Freisetzung aus der Hypophyse auszulösen. Der Deckakt dauert bei 75% der Tiere 0,5-2,5 Sekunden (Rubin, Azrin, 1967). Bereits drei Minuten nach dem Deckakt kann ein Anstieg der Plasma-LH-Konzentration verzeichnet werden. Sie erreicht nach einer Viertelstunde ein Plateau (Bakker, Baum, 2000).

Beim Kaninchen geht man davon aus, dass zur Auslösung des LH-Peaks und damit der Ovulation eine gesteigerte GnRH-Sekretion notwendig ist, was als deterministisches Modell der Ovulationsinduktion bezeichnet wird (Karsch, Bowen et al., 1997).

Zur Zeitspanne zwischen Deckakt und Ovulationen findet man je nach Studie geringgradig variierende Ergebnisse. Quesenberry und Carpenter nennen einen Zeitraum von zehn bis dreizehn (Quesenberry, Carpenter, 2004), andere Autoren einen Zeitraum von zehn (Mikhail, Noall et al., 1961) oder elf bis zwölf (Bakker, Baum, 2000) Stunden.



Nimmt man den LH-Peak als Ausgangspunkt, so konnte innerhalb der ersten zehn Stunden keine Ovulation beobachtet werden. Circa zehneinhalb Stunden nach dem LH-Peak kommt es in einem engen Zeitfenster von 15 Minuten bei der Hälfte der Follikel zur Ovulation. Nach 14 Stunden waren alle Tertiärfollikel ovuliert (Harper, 1963).

Zusätzlich wurde der Ort, an dem die ovulierten Eizellen sich zu bestimmten Zeitpunkten nach der LH-Gabe befanden, untersucht. Dabei wurde zwischen Eizellen im rupturierten Follikel, auf der Ovaroberfläche und im Eileiter differenziert. Zehneinhalb bis elfeinhalb Stunden nach der LH-Gabe befanden sich 17% der Eizellen noch im rupturierten Follikel oder im der Ovaroberfläche angehafteten Cumulus oophorus. Elfeinhalb bis dreizehn Stunden nach der LH-Gabe befanden sich nur noch 3,6-5,9% der Eizellen im Follikel oder auf der Ovaroberfläche. Dreizehn Stunden nach LH-Gabe waren dann alle ovulierten Eizellen im Eileiter (Harper, 1963).

### **2.2.3. Hormonverläufe beim Kaninchen**

#### **2.2.3.1. Außerhalb von Gravidität und Pseudogravidität**

Die Progesteronkonzentration beim nicht pseudograviden, nicht-graviden Kaninchen beträgt durchschnittlich 1,5 ng/ml (Baldwin, Stabenfeldt, 1974). Alle Werte unter 2 ng/ml sind als Basalwerte anzusprechen (YoungLai, Thompson et al., 1989).

#### **2.2.3.1. Pseudogravidität**

Progesteron zeigt während der Pseudogravidität einen Anstieg. Zum Zeitpunkt des Beginns gibt es unterschiedliche Angaben. Fuchs und Beling (1974) nennen den sechsten bis siebten Tag der Pseudogravidität. Neuere Studien bezeichnen den vierten bis fünften Tag als Anfangszeitpunkt (Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983).

Der Maximalwert wurde - je nach Studie - zwischen zehntem und zwölftem Tag der Pseudogravidität erreicht. Mehrere Studien konnten am zehnten Tag maximale Progesteronkonzentrationen messen (Fuchs, Beling, 1974; Richardson, Oliphant, 1981; Surve,

Bacso et al., 1976). Die maximal erreichte Konzentration im peripheren venösen Blut lag bei 11,9 ng/ml (Surve, Bacso et al., 1976) bzw.  $9,4 \pm 1,5$  ng/ml (Fuchs, Beling, 1974). Bei Hormonbestimmung direkt aus dem Eileitersekret lagen höhere Maximalwerte von  $16,87 \pm 1,46$  ng/ml vor (Richardson, Oliphant, 1981). Der Konzentrationsunterschied zwischen graviden und pseudogriden Tieren war zum Zeitpunkt des Vorliegens von Maximalwerten nicht mehr signifikant (Fuchs, Beling, 1974). In drei weiteren Studien konnten am elften Tag Maximalwerte gemessen werden (Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983; Harrington, Rothermel, 1977; Thau, Lanman, 1975). Browning et al (1982) konnten maximale Werte von sieben bis neun ng/ml vom zehnten bis zum zwölften Tag der Pseudogravidität nachweisen.

Nach dem Vorliegen des Maximalwertes fiel die Hormonkonzentration wieder ab. In der Studie von Hilliard et al (1968) begann der Abfall an Tag 15, in zwei weiteren Studien hatten die Werte am sechzehnten bis achtzehnten Tag der Pseudogravidität nach stetiger Abnahme ein Level unter 1 ng/ml erreicht (Browning, Amis et al., 1982; Browning, Wolf, 1981). Surve et al (1976) konnten an Tag 18 wieder Werte wie vor der Ovulationsinduktion messen. Harrington und Rothermel (1977) bezeichnen Tag 19 der Pseudogravidität als den Zeitpunkt, an dem wieder Hormonkonzentrationen unter 0,5 ng/ml vorliegen. In einer anderen Studie erfolgte ebenfalls ein langsamer Abfall, hier lagen am 19. oder 20. Tag wieder basale Progesteronkonzentrationen vor (Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983). Auch bei Richardson und Oliphant (1981) war Progesteron am 20. Tag wieder auf Werte wie im Östrus abgefallen.

Der Progesteronanstieg während Scheinträchtigkeit und Trächtigkeit ist beim Kaninchen durch eine höhere Progesteronproduktion bedingt. Beim Meerschweinchen hingegen kommt der Anstieg durch eine erniedrigte metabolische Progesteron clearance zustande. Die Progesteronproduktion beim Kaninchen ist am siebten Tag der Pseudogravidität am höchsten. Sie liegt elffach über der Produktionsrate eines weder scheinträchtigen noch trächtigen Tieres (Thau, Lanman, 1975). Bei Hilliard et al (1968) war die Progesteronproduktion zwischen dem achten und dem vierzehnten Tag am höchsten.

Verschiedene Autoren haben den Östradiol-Verlauf während der Pseudogravidität untersucht. Richardson und Oliphant (1981) konnten während des Östrus und am vierten Tag der Scheinträchtigkeit signifikant höhere Werte als an den anderen Tagen des Zyklus messen. In einer Untersuchung von Batra et al (1979) zeigten die Plasmaöstradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen

während der Pseudogravidität keine Veränderungen, außer einem leichten Anstieg am achtzehnten Tag. Das ebenfalls untersuchte Gewebeöstradiol-17 $\beta$  aus dem Uterus zeigte einen raschen, signifikanten Abfall bis zum sechsten Tag, am achtzehnten Tag wurden wieder vergleichbare Werte zu denen unbehandelter Kontrolltiere erreicht. In anderen Studien zeigten die Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen im Serum eine Fluktuation während der gesamten Scheinträchtigkeit (Fischer, Winterhager et al., 1986; Richardson, Oliphant, 1981). Zusätzlich schwankten die Serumöstrogenkonzentrationen zwischen den einzelnen Tieren stark (Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983). Daher wurde dieses Hormon in Rahmen dieser Studie nicht bestimmt.

### **2.2.3.2. Gravidität**

Die Trächtigkeit des Kaninchens dauert 30 bis 32 (Mikhail, Noall et al., 1961; Quesenberry, Carpenter, 2004) bzw. 29 bis 33 Tage (Göbel, Ewringmann, 2005).

Die maternale Trächtigkeitserkennung und somit die Veränderung der Gelbkörperfunktion durch das Vorhandensein des Konzeptus findet nicht vor dem Ende des ersten Trächtigkeitsdrittels statt (Browning, Keyes et al., 1980).

Progesteron bewirkt ein hohes Ruhepotential im Myometrium, dadurch zeigt dieses keine Reaktion auf nervale und humorale Stimuli (Hilliard, Scaramuzzi et al., 1973).

Wenn die Progesteronkonzentration direkt aus dem Blut der Ovarvene bestimmt wurde, so zeigte sich nach der Implantation ein Anstieg. Die Implantation erfolgt am siebten oder achten Tag postcoital (Hilliard, Scaramuzzi et al., 1973).

Die meisten Studien befassen sich mit der Bestimmung des Progesteronverlaufs im peripheren Blut. Ab dem vierten Tag der Gravidität kann hier ein Anstieg verzeichnet werden (Fuchs, Beling, 1974). Die Höchstwerte wurden dann zwischen vierzehntem und achtzehntem Tag erreicht. Danach blieben die Werte bis zur letzten Trächtigkeitswoche hoch. An den letzten zwei Tagen der Trächtigkeit fand ein Abfall auf niedrige Werte statt (Hilliard, Scaramuzzi et al., 1973). Derselbe Hormonverlauf wurde auch in einer Studie von Mikhail et al (1961) beobachtet. Hier lagen allerdings deutlich niedrigere Hormonkonzentrationen vor. Baldwin und Stabenfeldt (1974) konnten den Progesteronpeak am sechzehnten bis achtzehnten Tag

nachweisen, er betrug 13,3 ng/ml. Präpartale Werte wurden am 32. Graviditätstag erreicht. Bei Thau und Lanman (1975) lag der maximale Progesteronwert am sechzehnten Tag der Trächtigkeit vor, der Wert betrug  $9,7 \pm 0,6$  ng/ml.

Vergleicht man die Progesteronwerte von graviden und pseudograviden Tieren, so konnten im ersten Trächtigkeitsdrittel keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden (Browning, Wolf, 1981). Vom fünften bis zum neunten Tag der Gravidität war die Progesteronkonzentration gravider Tiere signifikant höher als bei scheinträchtigen Vergleichstieren (Fuchs, Beling, 1974).

Weitere Sexualsteroiden, deren Konzentrationen bestimmt wurden, sind Testosteron und Östrogen. Testosteron dient als Östrogenvorläufer. Die Testosteronkonzentration ist während der Gravidität zehn Mal höher als die Östrogenkonzentration. Vor der Geburt gibt es beim Kaninchen keinen Östrogen- oder Testosteronanstieg. Der Beginn der Geburt wird durch die Progesteronabnahme und einen Abfall im Progesteron-Östrogen-Verhältnis beeinflusst. Insgesamt wird nur wenig Östrogen benötigt, um die Funktion des Corpus luteum aufrechtzuerhalten. Insgesamt werden nur niedrige Östrogenkonzentrationen benötigt, um die Funktion des Trächtigkeitsgelbkörpers aufrechtzuerhalten (Hilliard, Scaramuzzi et al., 1973).

Präpartal konnten erhöhte Kortisolkonzentrationen gemessen werden, welche zusammen mit sinkenden Progesteronkonzentrationen einen wichtigen Faktor bei der Geburtseinleitung darstellen könnten (Baldwin, Stabenfeldt, 1974).

## **2.3. Beeinflussung der Sexualfunktion**

### **2.3.1. Induktion der Ovulation**

Die Ovulation kann beim Kaninchen durch die Gabe von LH (Harper, 1963), hCG (Thau, Lanman, 1975) oder GnRH-Analoga induziert werden.

Zur Ovulationsinduktion werden in der kommerziellen Kaninchenhaltung GnRH-Analoga wie Buserelin intramuskulär oder intravaginal verabreicht. Eine intramuskuläre Verabreichung von 1µg pro Tier führte bei allen Tieren zur Ovulation (Rebollar, Dal Bosco et al., 2012; Viudes-de-Castro, Lavara et al., 2007). Um bei intravaginaler Gabe gleiche Ergebnisse zu erhalten, wird eine Verfünffachung (Viudes-de-Castro, Lavara et al., 2007) beziehungsweise Verzehnfachung (Rebollar, Dal Bosco et al., 2012) der Dosis empfohlen.

Bei Ovulationsinduktion mit hCG sind Dosierungen von 10 IU (Harrington, Rothermel, 1977), 50 IU (Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983; Harrington, Rothermel, 1977) und 100 IU pro Tier beschrieben (Batra, Owman et al., 1979; Harrington, Rothermel, 1977; Richardson, Oliphant, 1981; Surve, Bacso et al., 1976; Thau, Lanman, 1975).

### **2.3.2. Erkrankungen des Reproduktionstrakts und Kastration**

Um eine ungewollte Fortpflanzung und wiederholte Pseudograviditäten zu verhindern, werden viele Tiere routinemäßig chirurgisch kastriert. Außerdem wird die Kastration zur Prävention von Erkrankungen des Reproduktionstraktes und des Gesäuges durchgeführt (Harcourt-Brown, Chitty, 2013).

#### **2.3.2.1. Endometriale Hyperplasie**

Die häufigste uterine Erkrankung beim weiblichen Kaninchen stellt die endometriale Hyperplasie dar. Sie trat im Durchschnitt bei 29,8% der Tiere im Alter von 3,9 Jahren auf (Saito, Nakanishi et al., 2002; Walter, Poth et al., 2010). Ursächlich ist ein länger andauernder

Östrogeneinfluss. Er bedingt eine Verdickung des Endometriums und eine Ansammlung von mukösem Sekret in den Uterindrüsen und im Uteruslumen (Harcourt-Brown, Chitty, 2013).

### **2.3.2.2. Uterines Adenokarzinom**

Als zweithäufigste uterine Erkrankung des Kaninchens sind Adenokarzinome zu nennen (Saito, Nakanishi et al., 2002). Sie stellen insgesamt die häufigste Neoplasie des weiblichen Kaninchens dar (Greene, Strauss, 1949).

Laut Greene et al (1947) kann eine Einteilung in vier Grade erfolgen. Eine Veränderung ersten Grades besteht aus einer einfachen Duplikation endometrialer Drüsen. Veränderungen zweiten Grades bestehen entweder aus einer weiteren Duplikation kleiner Azini unter Verdrängung von umgebendem Stroma oder aus der Entwicklung einer zunächst einfachen, später dann verzweigten papillären Architektur. Als Grad drei werden Tumoren bezeichnet, bei denen die Drüsenstruktur noch erkennbar ist, die azinären und papillären Strukturen allerdings weniger ausgeprägt sind. Bei Grad vier Tumoren konnte histologisch ein diffuses Zellwachstum ohne erkennbare Drüsenstruktur diagnostiziert werden.

Die Inzidenz des uterinen Adenokarzinoms betrug in einer Studie von Saito et al (2002) 21,3%. Im Schnitt trat die Erkrankung mit fünf Jahren auf. Bei Greene & Strauss (1949) betrug die Inzidenz bei Tieren, die älter als zwei Jahre waren, 17%. Walter et al (2010) konnten bei 29 der 59 hier untersuchten Kaninchen Adenokarzinome des Uterus diagnostizieren. Das durchschnittliche Alter der erkrankten Tiere betrug 6,1 Jahre. Auch bei Ingalls et al (1964) war das Alter positiv mit der Inzidenz von uterinen Adenokarzinomen korreliert. In dieser Studie hatte kein Tier unter zweieinhalb Jahren ein Adenokarzinom entwickelt. Bei Baba und Haam (1972) wiesen 3% der 83 untersuchten Uteri Adenokarzinome in situ auf, 17% der Tiere hatten invasive Adenokarzinome. Die betroffenen Tiere waren meist zwischen vier und sieben Jahren alt. Die Adenokarzinome waren oft multizentrisch und betrafen beide Hörner. Häufig wiesen sie eine zentrale Ulzeration auf. Gleichzeitig traten durch die Obstruktion des Uteruslumens auch Metropathien auf. Bei drei Tieren lag bereits eine Metastasierung auf peritoneale Oberflächen vor, bei zwei Tieren bereits Lungenmetastasen. In einer Studie von Greene et al (1947) wiesen 79% der Tiere ein Adenokarzinom des Uterus auf.

Es konnte kein Zusammenhang zur bisherigen Zuchtnutzung festgestellt werden (Ingalls, Adams et al., 1964). Die Tumoren konnten ab einer Größe von 0,5 cm transabdominal palpirt werden (Greene, Newton, 1947). Das beste Diagnostikum stellt die sonographische Untersuchung des Abdomens dar (Walter, Poth et al., 2010).

Der Tumor zeigt eine frühe lokale Invasion des Endometriums und dehnt sich auch durch den Uterus in angrenzende Gebiete des Bauchraums aus. Außerdem erfolgt eine hämatogene Metastasierung in Lunge und Leber, manchmal auch in Gehirn und Knochen (Quesenberry & Carpenter, 2004).

Klinische Symptome die beobachtet werden können waren Hämaturie, serosanguinöser Vaginalausfluss, Anorexie, Dyspnoe, Aszites und Depression (Quesenberry, Carpenter, 2004).

In größeren Zuchtbeständen konnte vier bis fünf Monate vor der Diagnose des Vorliegens von Adenokarzinomen eine reduzierte Fertilität beobachtet werden. Außerdem wurden kleinere Würfe geboren. Bei Vorliegen des Tumors waren die Tiere infertil (Greene, Saxton, 1938).

Falls noch kein Hinweis auf Metastasierung vorlag, wurden die Tiere ovariohysterektomiert und ein bis zwei Jahre postoperativ alle drei Monate zum erneuten Tumorstaging einbestellt. Die Autoren empfahlen präventiv eine frühzeitige Kastration im Alter von sechs bis zwölf Monaten (Quesenberry, Carpenter, 2004).

### **2.3.2.3. Weitere Metropathien**

Weitere Metropathien beim weiblichen unkastrierten Kaninchen stellen Pyometra, Mukometra, uterine Aneurysmen und das Leiomyosarkom dar.

Pyometren werden meist durch *Pasteurella multocida* und *Staphylococcus aureus* verursacht. Aufgrund der in der Regel sehr zähen Konsistenz von Kanincheneiter erwies sich eine konservative Therapie selten als erfolgreich. Therapie der Wahl stellt somit die Ovariohysterektomie dar. Auch beim Vorliegen einer Mukometra rieten die Autoren diese Therapie an (Quesenberry, Carpenter, 2004). Erschwerend kommt beim Kaninchen hinzu,

dass rasch Verklebungen zwischen dem erkrankten Uterus und anderen Organen ausgebildet werden und das Gewebe insgesamt sehr brüchig ist.

Bei manchen Tieren entwickeln sich Aneurysmen der uterinen oder myometrialen Venenplexi, die zu intermittierenden oder hochgradigen Blutungen führen können (Harcourt-Brown, Chitty, 2013).

Das Leiomyosarkom des Uterus wurde von Quesenberry & Carpenter (2004) als seltenste Metropathie des Kaninchens genannt. Dieser Tumor konnte bei 1% der Tiere nachgewiesen werden (Baba, von Haam, 1972).

#### **2.3.2.4. Vaginaltumore**

Greene et al (1947) konnten bei drei von 13 Tieren ein Epidermoidkarzinom am Schleimhautübergang zwischen Vagina und Cervices diagnostizieren. Alle Tiere mit diesem Vaginaltumor hatten auch ein Adenokarzinom des Uterusfundus. Die Autoren vermuteten für beide Tumorarten eine hormonelle Ätiologie .

#### **2.3.2.5. Gesäugeerkrankungen**

Fast alle Tiere mit uteriner Neoplasie wiesen auch Gesäugeveränderungen auf. Das Adenokarzinom der Mamma stellt insgesamt den zweithäufigsten Tumor des weiblichen Kaninchens dar (Greene, Strauss, 1949).

Außerdem können Mastitiden auftreten. Diese treten meist beim unkastrierten Tier auf. Bei kastrierten Tieren sind sie sehr selten. In der Regel befindet sich das betroffene Tier in der Pseudogravidität oder einer Laktation. Ätiologisch wurde am häufigsten *Staphylococcus aureus* aus dem Sekret isoliert. Die Erkrankung stellt einen wichtigen Euthanasiegrund in Zuchtbeständen dar (Quesenberry, Carpenter, 2012).



## **2.3.2.6. Chirurgische Kastration**

### **2.3.2.6.1. Operationstechnik**

Als chirurgischer Zugang für die Durchführung einer Ovariohysterektomie wird eine Laparotomie in der Linea alba empfohlen. Der Uterus kann in der Regel kraniodorsal des kranialen Harnblasenpols lokalisiert werden. Verfolgt man Uterushorn und Eileiter nach kranial, gelangt man an das jeweilige Ovar, welches durch mehrere kleine Gefäße versorgt wird. Sodann werden zwei Ligaturen mit resorbierbarem Nahtmaterial auf diese Gefäße gesetzt. Das Mesometrium dient als Fettspeicher, was intraoperativ die Identifikation und die Ligatur uteriner Gefäße erschweren kann (Bishop, 2002; Quesenberry, Carpenter, 2004). Die Arteria uterina ist mehrere Millimeter vom Uterus entfernt und wird im nächsten Schritt beidseits einzeln ligiert. Die kaudale Ligatur erfolgt kaudal der Cervices und sollte ebenfalls in doppelter Ausführung angebracht werden. Nach Kontrolle auf die Vollständigkeit der Ovarien und dem Ausschluss perioperativer Blutungen, erfolgt ein routinemäßiger Wundverschluss in drei Schichten (Harcourt-Brown, 2002).

### **2.3.2.6.2. Risiken**

Einen Nachteil der chirurgischen Kastration stellt das Narkoserisiko dar. Das Gesamtrisiko während Sedation, Anästhesie und den darauffolgenden 48 Stunden beträgt beim Kaninchen 1,39%. Vergleicht man das Narkoserisiko gesunder Hunde und Katzen mit dem gesunder Kaninchen, so liegt das Risiko bei 0,05%, 0,11% und 0,73%. Bei kranken Tieren der ASA-Klassen drei bis fünf liegt das Narkoserisiko bei 1,33%, 1,40% und 7,37%. Daraus ist klar ersichtlich, dass das Risiko intra- oder postoperativ zu Versterben, beim Kaninchen deutlich höher anzusetzen ist als bei Hund und Katze. Im Vergleich zum Hund ist es siebenfach erhöht (Brodbelt, Blissitt et al., 2008).

Weitere Risiken des operativen Eingriffes stellen Wundinfektion, Nahtdehiszenz und Eviszation, Nachblutungen, Lungenschäden und Dehydratation dar (Olsen, Bruce, 1986).

## **2.4. Gonadotropin releasing Hormon (GnRH)**

Das Dekapeptidhormon GnRH ist das übergeordnete Hormon im Regelkreislauf der Sexualhormone (Padula, 2005). Es stammt aus dem Hypothalamus und stimuliert die Synthese und die Freisetzung von LH und FSH aus der Hypophyse. Es reguliert die Steroidhormonproduktion der Gonaden, fördert die Spermatogenese, das Follikelwachstum und die Ovulation. Es wird pulsatil ausgeschüttet (Bakker, Baum, 2000).

### **2.4.1. Chemische Struktur, Physiologie und Funktion**

Im Jahr 1971 wurde die Aminosäuresequenz von GnRH aufgeklärt (Baba, Matsuo et al., 1971; Matsuo, Baba et al., 1971).

Gonadotropin releasing Hormon ist ein Dekapeptidhormon mit der Aminosäuresequenz [pyro]-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> (Schally, Arimura et al., 1971) und einer Molekülmasse von 1,183 (Senger, 2005). Im selben Jahr wurde von Schally et al (1971) bereits die Vermutung geäußert, dass sowohl die LH- als auch die FSH-Freisetzung durch ein und dasselbe Peptidhormon stimuliert werden. Anhand von Studien am Hypothalamus des Schweins konnte diese Vermutung bestätigt werden (Schally, Arimura et al., 1971).

Inzwischen sind drei Formen von GnRH bekannt. Die erste Form wird als hypothalamisches GnRH oder GnRH-I bezeichnet (Ramakrishnappa, Rajamahendran et al., 2005). Es existieren knapp 30 GnRH-I Varianten, von denen die meisten Vertebraten mehrere besitzen (Schneider, Rissman, 2008). Im Gelbkörper des scheinträchtigen Kaninchens konnten bei Untersuchungen an den Tagen 4, 9 und 13 GnRH-I, der GnRH-I Rezeptor, GnRH-I Rezeptor mRNA und – Protein nachgewiesen werden (Zerani, Parillo et al., 2010).

Die zweite Form wird Mittelhirn-GnRH oder chicken GnRH-II genannt, da sie ursprünglich im Gehirn von Hühnern nachgewiesen wurde. Sie unterscheidet sich in einer Aminosäure von GnRH-I. Ein Arginin ist entweder durch Glutamin oder Glutaminsäure ersetzt (Miyamoto, Hasegawa et al., 1982). Diese Form scheint vor allem extrahypothalamisch exprimiert zu werden (Ramakrishnappa, Rajamahendran et al., 2005).

Die dritte Form wird als GnRH-III bezeichnet. Sie wurde 1993 isoliert und ihre Aminosäureabfolge lautet [pyro]-Glu-His-Trp-Ser-His-Asp-Trp-Lys-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> (Sower, Chiang et al., 1993).

GnRH stammt aus dem Hypothalamus. Der Hypothalamus ist ein komplexer Teil des Gehirns, in dem unterschiedliche Nuclei mit verschiedenen Aufgaben abgrenzbar sind. Die Nuclei des Hypothalamus umgeben den dritten Ventrikel. Die für die Reproduktion zuständigen Kerngebiete heißen surge center und tonic center. In diesen zwei Regionen produzieren die Neuronen GnRH. Die Neuronen des Hypothalamus kommunizieren über das hypothalamisch-hypophysäre Portalsystem mit dem Hypophysenvorderlappen. Das zuführende Blut gelangt über die superior hypophysäal Arterie in den primären Portalplexus. Hier enden die Axone der Neuronen des surge- und des tonic centers und hier erfolgt auch die Hormonabgabe ins Blut. Das hormonhaltige Blut gelangt dann über die Portalgefäße in den sekundären Kapillarplexus im Bereich des Hypophysenstiels. Von dort aus können kleine Mengen des Hormons sehr exakt in den primären Portalplexus des Hypophysenstiels abgegeben werden. Nun gelangen die Hormone zu den Zellen des Hypophysenvorderlappens. Hier wird durch releasing hormone die Freisetzung weiterer Hormone stimuliert. Das Portalsystem bietet folglich den Vorteil, dass das freigesetzte GnRH direkt auf die Zellen der Adenohypophyse wirken kann und nicht vorher durch die systemische Zirkulation verdünnt wird (Senger, 2005).

Initial sollte GnRH zur Ovulationsinduktion verwendet werden. Dies war nicht erfolgreich, da die Bedeutung der pulsatilen GnRH-Ausschüttung nicht erkannt wurde (Schriock, 1989).

1978 wurde erstmalig bei der Frau nachgewiesen, dass es durch die Dauergabe von GnRH-Superagonisten zum Ausbleiben der Ovulation und somit zur Unterdrückung der Sexualfunktion kommt (Nillius, Bergquist et al., 1978). Der gleiche Effekt wurde von Belchetz et al (1978) beschrieben. Durch konstante exogene GnRH-Gabe konnte die Gonadotropin-Sekretion aus einem iatrogen geschädigten Hypothalamus nicht wiederhergestellt werden. Dahingegen konnte durch stündliche, also pulsatile GnRH-Gabe, die Gonadotropinsekretion der Hypophyse wieder etabliert werden. Verantwortlich dafür war nicht die GnRH-Menge, sondern das pulsatile Gabemuster. Durch die kontinuierliche GnRH-Gabe kam es zu einer Desensibilisierung oder down-regulation der Prozesse, die für die Gonadotropinfreisetzung verantwortlich sind. Dies liegt daran, dass das Ansprechvermögen

von Zielgeweben, wenn sie länger einer hohen Konzentration zirkulierender Hormone ausgesetzt sind, abnimmt. Es kam zu einem initialen kurzen Plasma-LH- und -FSH-Anstieg für circa fünf Stunden. Laut Uemura et al (1990) ist dieser initiale Anstieg in der Stimulation der Freisetzung des vorgeformten LH bedingt und kommt eher nicht durch LH  $\beta$ -mRNA Neusynthese zustande. Darauf folgte ein Abfall der zirkulierenden Gonadotropine. Der Tiefstpunkt wurde nach sieben bis zehn Tagen erreicht und blieb für die Dauer der gesamten kontinuierlichen Gabe auf diesem niedrigen Level. Mit erneutem Beginn pulsatile GnRH Gabe kam es wieder zum LH und FSH Anstieg (Belchetz, Plant et al., 1978). 1980 wurde die Bedeutung der pulsatile GnRH Freisetzung erneut beschrieben (Rabin, McNeil, 1980). Ursächlich für die reduzierte Ansprechbarkeit der Hypophyse ist eine Downregulation der GnRH-Rezeptoren und eine Entkopplung von second messenger Systemen (Herbert, Trigg, 2005). In in vitro Studien konnte GnRH die Anzahl seiner eigenen hypophysären Rezeptoren modifizieren. Beim Vorliegen niedriger GnRH-Konzentrationen führte dies zur Rezeptor-Hochregulation. Waren durch kontinuierliche GnRH-Gabe hohe GnRH-Konzentrationen vorhanden, wurde die Bindungskapazität der GnRH-Rezeptoren gesenkt. Der genaue Mechanismus, über den die GnRH-Agonisten die Konzentration ihrer Membranrezeptoren verändern, war oder ist noch nicht bekannt (Loumaye, Catt, 1982).

Der Abfall der LH- und FSH-Synthese ist vor allem in der Unterdrückung der Produktion der mRNA der  $\beta$ -Untereinheit der beiden Hormone begründet (Herbert, Trigg, 2005). Die Langzeitbehandlung mit GnRH inhibierte die Expression der LH  $\beta$ -mRNA in zeitabhängiger Weise (Uemura, Shirasu et al., 1990).

Insgesamt kommt es durch die beeinträchtigte Antwort der Hypophyse auf endogenes GnRH zur Abnahme der Sexualsteroidkonzentrationen (Herbert, Trigg, 2005).

Aufgrund der Peptidnatur des Hormons und seiner Analoga ist eine parenterale Verabreichung notwendig. Bei oraler Verabreichung wird das Hormon im Magen-Darm-Trakt enzymatisch abgebaut (Chrisp, Goa, 1990; Schriock, 1989). Bei intranasaler Gabe werden nur zwei bis fünf Prozent dessen resorbiert, was bei subkutaner Gabe resorbiert werden würde (Schriock, 1989).

In einer Studie, welche die Sensitivität unterschiedlicher Tierarten für GnRH -Agonisten und GnRH - Antagonisten untersuchte, ergaben sich signifikante tierartliche Unterschiede. Diese

basieren auf der unterschiedlichen Sensitivität der Hypophyse und auf dem Vorhandensein von GnRH-Rezeptoren in den Zielorganen. Insgesamt fiel beim Vergleich der Tierarten Kaninchen, Ratte, Maus und Rhesusaffe auf, dass die Ratte am sensitivsten reagiert (Thau, Limonta et al., 1985).

### **2.4.2. GnRH-Rezeptoren und Signalkaskade**

Der GnRH-I-Rezeptor ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor. Er hat sieben transmembranäre Domänen, die an der Konformation der Ligandenbindungsstelle beteiligt sind. Damit verbunden sind drei intra- und drei extrazelluläre Loops, die entscheidend für die Ligandenbindung und die Signaltransduktion sind. Eine Besonderheit des GnRH-Rezeptors ist die Tatsache, dass er kein zytoplasmatisches Carboxylende hat (Millar, Lu et al., 2004; Ramakrishnappa, Rajamahendran et al., 2005).

Bei Bindung von GnRH an den Rezeptor kommt es zur Aktivierung der G-Proteine Gq/G11, Phospholipase C $\beta$ , Phospholipase A<sub>2</sub> und Phospholipase D und daraufhin zur Bildung der second messenger Inositoltrisphosphat, Diacylglycerol und Arachidonsäure. Daraus resultiert eine Kalziummobilisierung und die Aktivierung verschiedener Proteinkinase C - Isoformen. Außerdem werden Prostaglandine und andere Arachidonsäuremetaboliten produziert. Die aktivierten Proteinkinasen phosphorylieren wiederum Proteine und verursachen die Transkription von Gonadotropin subunit Genen und die Transkription des GnRH-Rezeptors (Naor, 2009).

### **2.4.3. Beeinflussung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse**

Grundsätzlich existieren drei Methoden, um die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse zu unterdrücken.

#### **2.4.3.1. GnRH-Agonisten**

Die erste Methode stellt die chronische Gabe von GnRH-Agonisten dar. Durch die Langzeitgabe kommt es zur oben genannten downregulation von GnRH-Rezeptoren und zur Desensibilisierung von Zellen der Hypophyse, die gonadotrope Hormone ausschütten. GnRH-

Agonisten besitzen die gleiche Peptidstruktur wie GnRH, sind allerdings an den Stellen verändert, an denen der enzymatische Abbau stattfindet. Dies macht sie resistenter gegen Peptidasen und verlängert ihre Halbwertszeit. Zusätzlich weisen sie eine höhere Rezeptorbindungsaffinität auf. Durch das Ersetzen von Glycin an Position sechs durch eine D-Aminosäure und das Ersetzen des C-terminalen Glycinamid-Restes durch eine Ethylamid-Gruppe resultieren Agonisten, die bis zu 200 Mal potenter sind als das natürliche GnRH (Karten, Rivier, 1986). Ein Beispiel hierfür wäre Nafarelin, welches 200 Mal so wirksam ist, wie GnRH selbst (Schriock, 1989).

Alle bisher bekannten Varianten von GnRH sind Dekapeptide mit einem Pyro-glutamyl modifizierten Aminoterminus und einem aminierten Carboxyterminus. Die Aminosäuren an Position 1, 2, 4, 9 und 10 sind bei allen Varianten gleich. Die höchste Variabilität liegt an Position acht vor (Powell, Zohar et al., 1994).

Lange Zeit war die Dauerfreisetzung der GnRH-Analoga der limitierende Faktor in der Langzeitunterdrückung der Sexualfunktion (Trigg, Wright et al., 2001). Die Potenz des Agonisten, die Dosis und die Dauer der Behandlung sind folglich die Hauptkomponenten, die entscheiden, ob ein GnRH Agonist agonistisch oder antagonistisch auf die Sexualfunktion wirkt. Agonisten mit der höchsten Rezeptorbindungsaffinität und –aktivierung, welche nur langsam abgebaut werden, bewirkten die stärkste Hemmung der Sexualfunktion (Padula, 2005).

#### **2.4.3.2. GnRH-Antagonisten**

Die zweite Methode ist die Verwendung von GnRH-Antagonisten, welche die Bindung des endogenen GnRH verhindern (Herbert, Trigg, 2005). Sie binden an GnRH-Rezeptoren, verursachen hier aber keine pharmakologische Antwort. Dadurch kann GnRH selbst nicht mehr an den Rezeptor binden. Ihr Vorteil gegenüber den GnRH-Agonisten besteht darin, dass sie nicht den initialen Stimulationseffekt verursachen (D'Souza, Selmin et al., 2004).

Frühe GnRH-Antagonisten hatten eine kurze Wirkdauer und viele Nebenwirkungen. Es kam zur Histaminfreisetzung und durch die schlechte Löslichkeit zur Knotenentstehung an der Injektionsstelle. Indem das Peptid an Position fünf oder sechs verändert wurde, konnte eine Reduktion der Nebenwirkungen erreicht werden (Herbst, 2003).

### **2.4.3.3. GnRH-Vakzinen**

Als dritte Möglichkeit steht die Immunisierung gegen GnRH zur Verfügung. Das GnRH wird daraufhin durch die gebildeten Antikörper neutralisiert. (Herbert, Trigg, 2005).

## **2.5. Bisherige Anwendung von GnRH - Langzeitagonisten bei verschiedenen Spezies**

### **2.5.1. Hund**

#### **2.5.1.1. Rüde**

Beim Rüden ist das hier angewandte 4,7 mg Deslorelin Implantat Suprelorin® (Firma Virbac) in verschiedenen Ländern, unter anderem in Deutschland, zur hormonellen Kastration des gesunden, adulten Rüden zugelassen. Außerdem besitzt ein Implantat des gleichen Herstellers, welches 9,4 mg Deslorelin enthält, eine Zulassung.

Es existieren Studien, welche sich mit der Ausschaltung der Sexualfunktion durch die Verwendung von Deslorelin (Junaidi, Williamson et al., 2003; Junaidi, Williamson et al., 2009a; Junaidi, Williamson et al., 2009b; Trigg, Wright et al., 2001), Leuprolidacetat (Inaba, Umehara et al., 1996) oder Azagly-Nafarelin (Goericke-Pesch, Spang et al., 2009; Ludwig, Desmoulins et al., 2009) befassen. Außerdem gibt es Publikationen zur Therapie der benignen Prostatahyperplasie (Goericke-Pesch, Spang et al., 2009; Goericke-Pesch, Wilhelm et al., 2010; Polisca, Orlandi et al., 2013), zur Therapie aggressiven Verhaltens, exzessiven Markierverhaltens und zur Therapie eines Adenoms der hepatoiden Drüsen (Goericke-Pesch, Wilhelm et al., 2010). Des Weiteren kann der Pubertätseintritt durch die Gabe von slow - release Implantaten beeinflusst werden (Lacoste, Dube et al., 1989; Sirivaidyapong, Mehl et al., 2012).

Beim Rüden konnte durch die Gabe eines sechs Milligramm Deslorelin Implantates (Peptech Animal Health, Macquarie Park, NSW, Australia) sechs Wochen nach der Implantation eine Azoospermie beobachtet werden. Nach etwa einem Jahr kehrten die Steroidsynthese und die Spermienproduktion auf Ausgangswerte zurück. Die Wirkung des Implantates war beim Rüden also vollständig reversibel (Junaidi, Williamson et al., 2003). Auch Trigg et al konnten beim Rüden durch Deslorelin eine Unterdrückung der Sexualfunktion erreichen. Der Effekt war dosisabhängig und reversibel (Trigg, Wright et al., 2001). Junaidi et al untersuchten 2009



die Wirkung von 3mg, 6mg und 12mg Deslorelinimplantaten (Suprelorin®, Peptech Animal Health, Macquarie Park, NSW, Australia) auf die Hypophysen- und Hodenfunktion. Die erzielten Effekte der Implantate wurden durch die unterschiedliche Dosis in ihrer Dauer beeinflusst, nicht allerdings in ihrer Ausprägung. Nachfolgende Parameter wurden durch das 12mg Implantat signifikant länger beeinflusst: Reduktion des Hodenvolumens, Aspermie trotz normalem Deckverhaltens und LH- und Testosteronabfall im Plasma auf nicht messbare Werte. Die Dosierung des GnRH-Agonisten hatte keinen Einfluss auf die Reversibilität der Effekte. Außerdem untersuchten die Autoren 2009 die Effekte von slow release Deslorelin Implantaten (Peptech Animal Health, Macquarie Park, NSW, Australia) auf histologischer Ebene. Es kam 26 Tage nach der subkutanen Gabe eines 6mg Implantates bereits zur partiellen Veränderung der Tubuli seminiferi. An Tag 41 nach Implantation waren 90 bis 100% der Tubuli seminiferi atrophisch und ohne Spermatogenese. In der Prostata lagen eine komplette Atrophie des Drüsenepithels und eine relative Zunahme des Bindegewebes vor, die Leydigzellen waren atrophiert. Histologisch war der Effekt vollständig reversibel, die Spermatogenese kehrte zurück. Durch die subkutane Gabe eines Leuprolidacetatimplantates (Takeda Chemical Industries, Osaka, Japan), welches 1mg/kg Körpergewicht erhielt, konnte bei fast allen Rüden eine vorübergehende Azoospermie erreicht werden. Wurde eine niedrigere Dosierung von 0,1 mg/kg gewählt, konnte dieser Effekt nicht erzielt werden (Inaba, Umehara et al., 1996). Durch die Implantation eines 18,5 mg Azagly-Nafarelin-Implantates (Gonazon®, Intervet) konnte die Spermatogenese ebenfalls unterdrückt werden. Es lagen maximal Spermatogonien und primäre Spermatozyten im histologisch untersuchten Hodengewebe vor. Das Wiederauftreten der Spermatogenese war zeitlich individuell sehr variabel. Durch das Implantat kam es außerdem zur Reduktion der Prostatagröße um circa 55%, was ebenfalls eine mögliche Indikation für die Implantatgabe darstellt (Goericke-Pesch, Spang et al., 2009). Eine andere Studie mit dem gleichen Implantat konnte bei 100% der Tiere eine Aspermie induzieren, die bei allen Tieren nach 180 Tagen noch anhielt, bei 25% der Tiere nach 365 Tagen (Ludwig, Desmoulins et al., 2009). Goericke-Pesch et al (2010) konnten die reversible Ausschaltung der Fertilität durch das Implantat ebenfalls nachvollziehen. Auch in dieser Studie ermöglichte das Implantat eine rasche Therapie der benignen Prostatahypertrophie. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass auch eine Therapie von aggressivem Verhalten in 75% der Fälle möglich war. Jüngere Tiere sprachen besser auf die Therapie an als ältere. Auch exzessives Markierverhalten konnte therapiert werden. Zusätzlich konnte bei einem Tier die Regression eines Adenoms der hepatoiden Drüsen beobachtet werden. Ein Tier mit Alopezie X entwickelte nach der Implantatgabe normales

Fell. Durch die Ausschaltung der sexuellen Aktivität konnten außerdem erektionsassoziierte Penisblutungen unterbunden werden. Die Anwendung eines 4,7 mg Deslorelinimplantates (Suprelorin®, Virbac) zur Behandlung einer histologisch diagnostizierten, bisher asymptomatischen benignen Prostatahyperplasie beim Rüden wurde durch Polisca et al untersucht. Die Testosteronkonzentration in der peripheren Zirkulation konnte durch die hormonelle Behandlung von Tag elf ab auf nicht messbare Werte abgesenkt, die Prostatagröße signifikant reduziert werden. Zusammenfassend werten die Autoren das Implantat als eine geeignete Möglichkeit, das Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern (Polisca, Orlandi et al., 2013).

In einer Studie von Sirivaidyapong et al aus dem Jahr 2012 konnte der Pubertätseintritt bei vier Monate alten Rüden durch 4,7mg und 9,4mg Deslorelinimplantate (Suprelorin®, Virbac) verschoben werden. 30 Monate nach Implantatgabe konnte bei drei von vier Tieren mit 4,7mg Implantat normales Sexualverhalten beobachtet werden. Bei zwei dieser Tiere lag eine normale Spermaqualität vor. Bei Verwendung von 9,4mg Implantaten hielt der Effekt länger an. Fünf von neun dieser Tiere wurden über das Studienende hinaus weiter beobachtet und zeigten 38 Monaten nach der Implantatgabe noch keine Anzeichen eines Pubertätseintritts. Auch bei Lacoste et al (1989) konnte durch die tägliche Langzeitgabe des GnRH-Agonisten (D-TRP6, des-Gly-NH2 10) GnRH – Ethylamide (Bachem, California) an juvenile weibliche und männliche Tiere eine reversible Unterdrückung der sexuellen Reifung erzielt werden.

### **2.5.1.2. Hündin**

Bei der Hündin wurde die Unterdrückung der Sexualfunktion (McRae, Roberts et al., 1985; Trigg, Wright et al., 2001) untersucht. Des Weiteren existieren auch hier Studien zur Verschiebung des Pubertätseintritts (Rubion, Desmoulins et al., 2006) und zu möglichen Effekten auf die Entstehung von Mammatumoren (Lombardi, Florio et al., 1999). Zusätzlich gibt es Arbeiten über die Anwendung in der Therapie der kastrationsbedingten Urininkontinenz (Reichler, Hubler et al., 2003).

Die erste Studie zur Läufigkeitsunterdrückung mittels GnRH-Agonisten wurde 1985 mittels subkutan implantierter osmotischer Pumpen (Alzet Alza Corporation, Palo Alto, CA, U.S.A.) durchgeführt. Diese setzten kontinuierlich Nafarelinacetat frei. Während der gesamten Studiendauer von 18 Monaten konnte der Östrus erfolgreich unterdrückt werden. Der Effekt

war reversibel (McRae, Roberts et al., 1985). In einer Studie von Trigg et al (2001) konnte ebenfalls eine erfolgreiche, reversible Östrusunterdrückung erzielt werden. Hier wurde der GnRH-Superagonist Deslorelin verwendet.

GnRH-Agonisten können bei der Hündin außerdem verwendet werden, um die Pubertät zu verschieben. Durch die Verwendung von einem 18,5 Milligramm Azagly-Nafarelin Implantat (Gonazon®, Intervet) bei der präpubertären Hündin, wurde ein Einsetzen der Pubertät bei allen Versuchstieren verhindert. Erst nach der Entfernung des Implantates traten Östrus und Ovulation entweder natürlich auf oder konnten induziert werden (Rubion, Desmoulins et al., 2006).

Außerdem können GnRH-Analoga zur Behandlung der kastrationsbedingten Urininkontinenz angewendet werden (Reichler, Hubler et al., 2003).

In einer 1999 durchgeführten Studie wurde außerdem postuliert, dass eine Depotbehandlung mit dem GnRH-Analogen Goserelin (Zeneca, Milano, Italien) bei der Behandlung hormonabhängiger Mammatumoren sinnvoll sein kann (Lombardi, Florio et al., 1999).

### **2.5.2. Katze**

Bei dieser Tierart existieren Studien zur kontrazeptiven Wirkung von slow release GnRH-Implantaten bei Kater (Goericke-Pesch, Georgiev et al., 2014; Novotny, Cizek et al., 2012) und Kätzin (Ackermann, Volpato et al., 2012; Munson, Bauman et al., 2001; Rubion, Driancourt, 2009; Toydemir, Kılıçarslan et al., 2012), außerdem zur Gabe eines GnRH-Antagonisten zur Fertilitätsausschaltung beim Kater (Romero, Fernandez et al., 2012). Andere Autoren befassten sich mit der Verschiebung des Pubertätseintritts (Risso, Corrada et al., 2012), den Effekten einer Implantatgabe während der Frühträchtigkeit. (Goericke-Pesch, Georgiev et al., 2012) und der Behandlung der kastrationsbedingten Urininkontinenz (Pisu, Veronesi, 2013).

Beim Kater konnte durch Gabe eines 4,7 mg Deslorelin-Implantates (Suprelorin®, Virbac) die sexuelle Aktivität reversibel unterdrückt werden. Die Fertilitätsausschaltung scheint erst nach zwei bis drei Monaten vorzuliegen, allerdings ist zu diesem Zeitpunkt die Libido des Tieres eventuell schon so weit reduziert, dass keine sexuelle Aktivität mehr vorliegt. Auch hier

konnte eine individuelle Variabilität festgestellt werden. Die Behandlung war reversibel, die Spermatogenese erholte sich rasch (Novotny, Cizek et al., 2012). Goericke-Pesch et al (2014) konnten bei Verwendung des gleichen Implantats eine Wirkdauer von  $78,8 \pm 12,9$  Wochen beobachten. Auch in dieser Studie war der Effekt reversibel.

Bei der Kätzin konnten nach Gabe eines 4,7mg Deslorelinimplantates (Suprelorin®, Virbac) über die gesamte Studiendauer von 90 Tagen nur anöstrische Vaginalzytologien gewonnen werden, das Implantat eignet sich also als Kurzzeitkontrazeptivum. Ob das Implantat - wie bei der Hündin beobachtet - eine verkürzte Lutealphase bedingt, konnte in dieser Studie nicht festgestellt werden. Der kontrazeptive Effekt war bei allen Tieren reversibel (Ackermann, Volpato et al., 2012). In einer Studie die 18,5 Monate andauerte und ein 9,5 mg Deslorelinimplantat (Suprelorin®, Virbac) verwendete, konnte bei fast allen Tieren die Follikulogenese über den gesamten Versuchszeitraum erfolgreich unterdrückt werden. Die Autoren sehen in dem Implantat eine Alternative zur chirurgischen Kastration (Toydemir, Kılıçarslan et al., 2012). In einer Studie von Rubion und Draincourt (2009) bekamen Kätzin ein subkutanen 20 mg Azagly-Nafarelin-Implantat (Gonazon, Intervet). Die Tiere wiesen über drei Jahre niedrige Progesteronwerte und eine Unterdrückung der Ovulation auf. Bei einem Drittel der Tiere konnte nach 2,5 Jahren ein vorübergehender Progesteronanstieg festgestellt werden. Eine Vergesellschaftung mit intakten Katern nach dem Studienende über einen Zeitraum von 6 Monaten führte zu keiner Trächtigkeit. Bei der Hälfte der Tiere konnte allerdings eine Reversibilität der Implantatwirkung histologisch nachgewiesen werden. In einer anderen Studie konnte durch subkutane Implantation eines 6 mg Deslorelin Implantates (Peptech Animal Health, Macquarie Park, NSW, Australia) die ovarielle Aktivität bei Hauskatzen ebenfalls unterdrückt werden, es zeigten sich hier individuelle Unterschiede in der Dauer der Wirkung. Bei einem Teil der Tiere konnte nach Explantation wieder zyklische Aktivität nachgewiesen werden (Munson, Bauman et al., 2001).

Auch bei der Katze kann durch ein 4,7 mg Deslorelin-Implantat (Suprelorin®, Virbac) der Pubertätseintritt verschoben werden. In der Zeitspanne ergaben sich große individuelle Unterschiede. Im Schnitt trat die Pubertät 100 Tage später ein. Die Wachstumsrate wurde durch das Implantat nicht verändert. Bei einem Tier trat eine Pyometra auf. Um die tatsächliche Inzidenz dieser Erkrankung nach Behandlung zu ermitteln sind allerdings weitere Studien nötig (Risso, Corrada et al., 2012).

Bei Gabe eines 4,7 mg Deslorelinimplantates (Suprelorin<sup>®</sup>, Virbac) an eine Kätzin in der Frühträchtigkeit kam es nicht zur Östrusinduktion. Der Progesteronverlauf war physiologisch, es lagen keine Anzeichen auf das mögliche Vorliegen einer Geblkörperinsuffizienz vor, wie dies bei der Hündin nach Implantation beschrieben ist. Der weitere Verlauf der Trächtigkeit war normal, allerdings zeigte das Tier kein Brutpflegeverhalten und eine unzureichende Laktation. Eine Östrusunterdrückung mittels Implantat war auch hier möglich. Die Autoren konnten eine vollständige Reversibilität anhand des Wiedereintretens von zyklischer Aktivität, erneuter Trächtigkeit und physiologischem Brutpflegeverhalten nachweisen (Goericke-Pesch, Georgiev et al., 2012).

Es existiert ein Fallbericht zur Behandlung der kastrationsbedingten Urininkontinenz. Bei einer norwegischen Waldkatze konnte durch die Gabe eines slow release Deslorelinimplantates (Suprelorin<sup>®</sup>, Virbac) für mindestens 15 Monate eine Kontinenz erzielt werden. Die Wirkung des Implantates trat 25 Tage nach Implantation ein (Pisu, Veronesi, 2013).

### **2.5.3. Heimtiere**

#### **2.5.3.1. Frettchen**

Bei der Frettchenfähe wurde die Östrusunterdrückung mittels slow release GnRH-Implantat untersucht (Goericke-Pesch, Wehrend, 2012; Prohaczik, Kulcsar et al., 2010). Außerdem existieren verschiedene Veröffentlichungen zur Therapie des kastrationsassoziierten Hyperadrenokortizismus mittels GnRH-Analoga bei beiden Geschlechtern (Künzel, 2012; Prohaczik, Kulcsar et al., 2010; Riggs, Cook, 2007; Schoemaker, Kuijten et al., 2008; Schoemaker, Teerds et al., 2002). Der Effekt einer Implantatgabe auf den artspezifischen moschusartigen Geruch wurde untersucht (Schoemaker, van Deijk et al., 2008), zusätzlich der Einfluss auf das Wohlbefinden beim Frettchenrüden (Vinke, van Deijk et al., 2008).

Die Ovulation der Frettchenfähe wird durch den Deckakt induziert. Wenn in der Zuchtsaison kein Deckakt stattfindet, resultiert daraus ein Daueröstrus mit persistierender Östrogenproduktion. Dies kann zur Entwicklung eines Hyperöstrogenismus mit Panzytopenie und zum Versterben des Tieres führen. Durch die Implantation eines 4,7 mg Deslorelin-

Implantates (Suprelorin®, Virbac) konnte bei allen sieben behandelten weiblichen Tieren die Ovulation ausgelöst werden. Über eine Zeitdauer von 22 bis 35 Monaten konnten keine Östrusanzeichen festgestellt werden. Verhaltensänderungen wie Nackenbiss bei Partnertieren und Beißen des Halters traten auf, waren allerdings selbstlimiterend. LH und FSH wurden nicht gemessen. Die erzielte Unterdrückung des Östrus durch das Implantat kann länger als drei Zuchtphasen anhalten. Daraus schließen die Autoren, dass das Implantat eine geeignete Alternative zu den bisher bekannten Methoden der Ovulationsinduktion darstellt (Goericke-Pesch, Wehrend, 2012). Auch Prohaczik et al (2010) konnten eine Unterdrückung des Östrus nach dem Setzen eines 4,7 mg Deslorelinimplantats (Suprelorin®, Virbac) beobachten. Sie postulieren, dass eine Wirkdauer länger als 2 Zuchtsaisonen möglich ist, wenn die Behandlung früh in der Zuchtsaison erfolgt. Bei allen Tieren trat zunächst ein induzierter selbstlimitierender Östrus auf, bei 80% der Tiere außerdem eine leichte, vorübergehende Alopezie unbekannter Ursache. Die Wirkdauer aller bisher angewandten Behandlungsprotokolle, wie beispielsweise die Anwendung von Gestagenen zur Zyklusunterdrückung, beziehungsweise die Ovulationsinduktion mittels hCG oder durch einen Deckakt konnte durch die Implantatgabe übertroffen werden. Des Weiteren war die Implantatgabe zusammen mit der hCG Behandlung am nebenwirkungsärmsten.

Beim Frettchenrüden existiert keine medizinische Indikation zur routinemäßigen Kastration. Trotzdem wird diese durchgeführt, um die Fortpflanzung zu unterbinden, die auftretende Interspeziesaggression und den artspezifischen Geruch zu reduzieren.

Man geht davon aus, dass bei männlichen und weiblichen Frettchen ein kausaler Zusammenhang zwischen der Kastration und der Entwicklung eines Hyperadrenokortizismus besteht. Als ursächlich wird die kastrationsbedingte Erhöhung gonadotroper Hormone angesehen. Es existieren LH-Rezeptoren in der Nebenniere, welche nur bei Tieren mit Hyperadrenokortizismus funktionell zu sein scheinen (Schoemaker, Teerds et al., 2002). Durch die ständige Stimulation der Nebennieren kommt es häufig zur Entwicklung einer adrenokortikalen Hyper- oder Neoplasie. Die Erkrankung tritt bei beiden Geschlechtern auf und ist bei dieser Tierart weniger durch eine exzessive Glukokortikoidproduktion, sondern durch eine exzessive Sexualsteroidhormonproduktion gekennzeichnet. Häufig fallen eine ödematisierte Vulva, das Wiederauftreten von Sexualverhalten beim kastrierten Frettchenrüden und eine Flankenalopezie auf (Künzel, 2012). Riggs und Cook (2007) raten bei Tieren mit adrenaler Erkrankung oder Tumoren zur frühzeitigen chirurgischen

Entfernung. Die Verwendung eines GnRH-Implantates sahen sie als indiziert an, wenn eine chirurgische Entfernung nicht anzuraten war, verschoben werden musste oder aus anderen Gründen nicht durchgeführt werden konnte. Das getestete 4,7mg Deslorelin Implantat (Suprelorin®, Virbac) erwies sich bei allen Tieren als sicher. Es konnte kein Effekt auf den Verlauf der adrenalen Erkrankung oder Neoplasie nachgewiesen werden, auftretende Alopezien und Juckreiz konnten erfolgreich unterdrückt werden. Eine neuere Studie, die ebenfalls ein 4,7 mg Deslorelinimplantat (Suprelorin®, Virbac) verwendete, konnte bei männlichen und weiblichen Tieren mit durch Hyperadrenokortizismus bedingtem klinischem Hyperöstrogenismus das Hormon auf Basalwerte senken. Die Behandlung der vorliegenden Alopezie war auch in dieser Studie erfolgreich. In einer Folgeuntersuchung 19 bis 21 Monate nach der Implantatgabe zeigten sich alle Tiere klinisch gesund und es lag keine Alopezie vor (Prohaczik, Kulcsar et al., 2009).

Die Gabe von GnRH-Agonist Depotformulierungen wird daher bei beiden Geschlechtern als Alternative zur chirurgischen Kastration angesehen (Künzel, 2012).

In Studien von Schoemaker et al (2008a; 2008b) konnte durch das untersuchte 9,4 mg Deslorelin-Implantat (Suprelorin®, Virbac) die Fortpflanzung unterdrückt werden. In einer durchgeführten histologischen Untersuchung der Hoden der behandelten Tiere konnten keine normalen Keimzellen mehr nachgewiesen werden. Das Vorliegen dieser implantatbedingten Infertilität übersteigt sogar das Ergebnis bei anderen Tierarten, da bei diesen nach Implantatgabe teilweise noch wenig Spermatogenese vorliegt oder zumindest Spermiovorläuferzellen nachweisbar waren. Der tierartspezifische moschusartige Geruch konnte durch die Implantatgabe sogar noch stärker reduziert werden als durch die herkömmliche chirurgische Kastration.

In einer anderen Studie beim männlichen Tier konnte beobachtet werden, dass die Aggression zwischen männlichen Tieren nach chemischer und chirurgischer Kastration abnahm. Das untersuchte Spielverhalten - als Messinstrument für das Wohlbefinden - nahm nach Kastration zu. Beide Effekte waren nach chemischer Kastration mittels 9,4 mg Deslorelinimplantat (Suprelorin®, Virbac) stärker ausgeprägt als nach herkömmlicher chirurgischer Kastration. Die Autoren sehen die chemische Kastration deshalb der chirurgischen als überlegen an (Vinke, van Deijk et al., 2008).

Schoemaker et al (2008) beschreiben, dass ein Frettchenrüde mit dem selteneren LH-abhängigen Hyperkortisolismus erfolgreich mit einem Depot-GnRH-Agonisten behandelt werden konnte. Durch die Gabe eines 9,4mg Deslorelin Implantates (Suprelorin®, Virbac) war die klinische Symptomatik nach drei Wochen verschwunden. Drei Monate später waren auch die endokrinologischen Veränderungen nicht mehr nachweisbar. Die Größe beider Nebennieren normalisierte sich.

### **2.5.3.2. Ratte**

Die Gabe eines 4,7mg Deslorelin Implantates (Suprelorin®, Virbac) wirkt bei weiblichen Ratten kontrazeptiv. Nach drei Wochen lagen bei Grosset et al (2012) für die Dauer von sieben Monaten nur diöstrische Vaginalzytologien vor, es trat kein Östrus mehr auf. Für zehn Monate wurde kein Tier tragend. Als Nebenwirkungen wurden eine initiale, vorübergehende Gewichtszunahme und gut therapierbarer Juckreiz und Dermatitis cranial der Implantationsstelle beschrieben. Alkis et al (2011) beschreiben keine Nebenwirkungen. Über die Versuchsdauer von einem Jahr hielt die kontrazeptive Wirkdauer unverändert an. Die Autoren empfehlen weitere Studien über die Wirkdauer. Der kontrazeptive Effekt hielt bei Verwendung des gleichen Implantates bei Cetin et al (2012) ein Jahr lang an. Das mittlere Ovarvolumen und die Anzahl der präantralen Follikel waren erniedrigt, wie auch von Alkis et al (2011) beschrieben. Cetin et al (2012) konnten außerdem feststellen, dass auch das Totalvolumen des Uterus geringer war. Aufgrund der Beeinflussung der präantralen Follikelpopulation und somit möglicherweise der zukünftigen Fertilität, empfehlen die Autoren auch bei anderen Spezies diesbezüglich weitere Untersuchungen.

### **2.5.3.3. Meerschweinchen**

Laut einer Studie von Schützenhofer et al (2011) ist das 4,7mg Suprelorin Implantat (Suprelorin®, Virbac) nicht zur Behandlung von Ovarzysten des Meerschweinchens geeignet.



#### **2.5.4. Pferd**

Bei der Stute wurden GnRH-Analoga im Rahmen des Embryotransfers (Raz, Carley et al., 2009) und zur terminierten Ovulationsinduktion (Hemberg, Lundeheim et al., 2006; Stich, Wendt et al., 2004) angewandt.

Donorstuten in der frühen Übergangsphase erhielten zweimal täglich 63µg Deslorelin (BET Pharm, Lexington, KY, USA) intramuskulär. Der Effekt auf die Ovarien und die Embryoproduktion wurde mit einer FSH Behandlung verglichen. Beide Therapieprotokolle lösten gleich effektiv die Ovulation aus. Bei der Behandlung mit equinem FSH (eFSH®, Bioniche Animal Health Canada Inc., Belleville, ON, Canada) konnte allerdings eine höhere Anzahl an Ovulationen und Embryonen pro Stute erzielt werden (Raz, Carley et al., 2009).

Um die Anzahl der Deckakte oder Besamungen einer Stute zu verringern, wird in vielen Ländern eine kontrollierte Ovulation praktiziert. Die Verwendung von GnRH-Agonist-Implantaten, die 2,2 mg Deslorelin enthalten (Ovuplant®) ermöglicht es, dass eine einzige Ultraschalluntersuchung 36 bis 41 Stunden nach Implantatgabe ausreichend ist, um den Ovulationszeitpunkt abzuschätzen. (Hemberg, Lundeheim et al., 2006).

Wurde ein 1,5 mg Deslorelin-Implantat (BET Pharma, Lexington, KY, USA) angewandt, waren ebenfalls weniger Deckakte als in der Kontrollgruppe nötig und mehr Tiere ovulierten innerhalb von zwei Tagen nach Implantatgabe. Es wurden normale Trächtigkeitsraten erzielt (Stich, Wendt et al., 2004).

#### **2.5.5. Schwein**

Beim Eber wurde untersucht, ob mittels Langzeit GnRH-Analoga die Ausbildung des typischen und beim Verbraucher unerwünschten Ebergeruchs unterbunden werden kann.

Die Substanzen Androstendion und Skatol sind für die Ausbildung des Ebergeruchs verantwortlich. 1994 wurde der Effekt eines einen Monat lang kontinuierlich wirkenden Leuprolidacetat-Depots (Lupron Depot, Abbott Laboratories, North Chicago, IL) auf die Ausbildung des Ebergeruchs untersucht. Bei Gabe von 200µg/kg konnte der durch 16-Androstensteroiden verursachte Ebergeruch signifikant reduziert und somit erfolgreich

eliminiert werden. Die Skatolkonzentrationen konnten durch die Behandlung nicht beeinflusst werden. Der Einfluss auf Wachstumsrate und Schlachtkörperqualität wurde hier nicht untersucht. Die Abnahme der Hodengröße war dosisabhängig (Xue, Dial et al., 1994).

Im Jahr 1998 konnten Schneider et al herausfinden, dass mittels vier Wochen andauernder Triptorelin-Dauerfreisetzung (Decapeptyl C.R.® FERRING Malmö, Sweden) bei 135 Tage alten Ebern ein leichter Abfall im Ebergeruch erzielt werden konnte. Die Behandlung senkte die Androstendionkonzentration unter den zulässigen Grenzwert, nicht allerdings den Skatolgehalt im Rückenfett. Die Schlachtkörperzusammensetzung und die Gewichtszunahme wurden nicht beeinflusst, der Muskelfleischanteil war nicht signifikant verändert.

In einer anderen Studie konnte die Erkenntnis gewonnen werden, dass die Unterdrückung der Sexualfunktion durch Gabe eines intramuskulären Deslorelin 4,7 mg Implantats (Suprelorin®, Virbac) an fünf Wochen alte intakte Tiere möglich ist und bis zur Schlachtreife anhalten kann. Das Implantat stellt somit eine Alternative zu anderen Methoden der Ebergeruchbekämpfung dar. Weil die Dauer der Suppression von Spermatogenese und Steroidhormonkonzentration variierte, empfehlen die Autoren die Durchführung weiterer Studien, um gegebenenfalls die Wirkstoffdosis und das Alter bei Behandlung zu verändern. Des Weiteren sehen sie die Notwendigkeit von Untersuchungen bezüglich der Schlachtkörperqualität und der Futtermittelverwertung (Kauffold, Rohrmann et al., 2010a, 2010b).

### **2.5.6. Wiederkäuer**

Beim Rind wurden eine GnRH-Dauergabe zur Ovulationsinduktion (D'Occhio, Gifford et al., 1989), die Verbesserung der Qualität von Ovulations-Synchronisationsprogrammen durch GnRH-Analoga (D'Occhio, Kinder, 1995) und die Unterdrückung des Sexualzyklus beim weiblichen Tier untersucht (D'Occhio, Aspden et al., 1996). Außerdem wurde der Einfluss auf die Sexualfunktion (Bergfeld, D'Occhio et al., 1996; D'Occhio, Aspden, 1996) und den Pubertätseintritt beim Bullen (Jimenez-Severiano, Mussard et al., 2005) untersucht.

Durch die Gabe von Buserelin über subkutan gelegene osmotische Minipumpen (2ML4, Alza Corporation, Palo Alto, CA, USA) konnte bei nach der Geburt azyklischen Rindern eine Ovulation induziert werden. Die daraus resultierenden Corpora lutea waren allerdings von

kurzer Lebensdauer und es resultierte keine zweite Ovulation (D'Occhio, Gifford et al., 1989).

Bei Färsen konnte durch die Gabe von GnRH-Agonisten der Zyklus reversibel unterdrückt werden. Bei der Gabe von zwei 3mg Buserelin-Implantaten hielt die Wirkung  $48,4 \pm 3,8$  Tage an, bei der Implantation von vier Implantaten hielt die Wirkung  $87,4 \pm 17,4$ d an. Bei Implantation eines 5mg Deslorelin Implantates lag die Wirkdauer bei  $203 \pm 26$  Tagen, bei der Gabe von zwei Implantaten bei  $170 \pm 28$  Tagen. Das Wiedereinsetzen des Zyklus nach Implantatentfernung trat zeitlich sehr konstant nach circa 22 Tagen auf. Die Autoren sehen in den GnRH-Agonisten eine gute Methode der kontrollierten, reversiblen Zyklusunterdrückung. Dies könnte beispielsweise bei der Realisierung eines optimalen Geburtszeitpunktes von Kälbern extensiv gehaltener Fleischrinder, die mittels natürlichem Deckakt belegt werden, genutzt werden (D'Occhio, Aspden et al., 1996).

Auch beim Bullen kam es nach Gabe von Deslorelin zur Desensibilisierung des Hypophysenvorderlappens (D'Occhio, Aspden, 1996). Diese Desensibilisierung hält für mindestens 20 Tage nach der Entfernung des Deslorelin-Implantates an. Auf der Ebene der Gonaden fand keine Desensibilisierung statt (Bergfeld, D'Occhio et al., 1996). Im Gegensatz zu vielen anderen Spezies war nach dem Setzen des Implantates eine anhaltende Erhöhung der Testosteronkonzentration messbar. Sie korrelierte mit einer Zunahme der Hodengröße, allerdings konnte keine Verbesserung der Spermaqualität nachgewiesen werden. Die tonischen LH-Konzentrationen waren ebenfalls höher als bei den Kontrolltieren. Es konnte keine pulsatile LH-Sekretion gemessen werden (D'Occhio, Aspden, 1996).

2005 fanden Jimenez-Severiano et al heraus, dass die Behandlung von Zebu-Bullen mit einem 12mg Deslorelinimplantat keinen positiven Einfluss auf die Hodenentwicklung hatte. Wenn die Behandlung schon im Alter von drei Monaten erfolgte, wurde der Pubertätseintritt der behandelten Tiere verzögert.

Auch beim kleinen Wiederkäuer wurden Studien durchgeführt. Zum Beispiel wurde die Östrusinduktion mittels Gabe eines 2,1mg Deslorelinimplantates untersucht (Ovuplant®, Firma Peptech, Virbac Group). Das Implantat wurde der bunten Mohairziege im Anöstrus gegeben. Die Östrusinduktion war nicht möglich. (Uslu, Sendag et al., 2011).

### 2.5.7. Wildtiere

In der Wildtiermedizin stellen GnRH-Agonisten eine Möglichkeit zur Durchführung von Populationsmanagement dar.

Bei Gepardenweibchen konnte mittels 6mg Deslorelinimplantat (Peptech Animal Health, Sydney) für mindestens 12 Monate ein kontrazeptiver Effekt erzielt werden (Bertschinger, Trigg et al., 2002). Bei männlichen Geparden hielt der Effekt genauso lange an. Bei Implantation von 4,7mg (Peptech Animal Health, Sydney) und 5mg Implantaten (Peptech Animal Health, Sydney) hatten drei von 17 Tieren wenige, nicht-motile Spermien im Ejakulat. Deshalb empfehlen die Autoren nur das 6 mg Deslorelin-Implantat als sichere Methode der Fertilitätsunterdrückung (Bertschinger, Jago et al., 2006).

Beim weiblichen afrikanischen Wildhund war die Wirkung des 6 mg Deslorelinimplantates weniger einheitlich. 10% der Tiere wurden nach Implantation tragend, bei 90% der Tiere konnte der Deckakt bis in die nächste Zuchtsaison verschoben werden. Zwei Tiere erhielten nur 3mg Deslorelin, was keinen kontrazeptiven Effekt erbrachte. Beim männlichen Tier konnte hingegen ein effektiver kontrazeptiver Effekt für ungefähr 12 Monate erreicht werden (Bertschinger, Trigg et al., 2002).

Beim weiblichen Leopard wurde ein 6 mg Deslorelinimplantat verwendet. Es erbrachte eine mindestens 12 Monate lang anhaltende kontrazeptive Wirkung (Bertschinger, Trigg et al., 2002).

Löwinnen erhielten in dieser Studie 12 mg oder 15 mg Deslorelinimplantate und es konnte damit ein kontrazeptiver Effekt für 12 bis 18 Monate erzielt werden. Zur Reversibilität war am Studienende noch keine Aussage möglich. Löwenmännchen sollten nicht behandelt werden, da sie durch die Behandlung ihre testosteronabhängige Mähne verlieren (Bertschinger, Trigg et al., 2002).

Insgesamt sehen die Autoren in der Behandlung der unterschiedlichen Wildtierspezies eine sichere, reversible Methode der Kontrazeption für kleine Populationen wildlebender oder im Gehege gehaltener Wildkarnivoren. Die männliche Infertilität war, wenn sie induzierbar war, erst sechs Wochen nach Implantatgabe zuverlässig gegeben. Es konnten keine

Nebenwirkungen oder Verhaltensänderungen festgestellt werden, die Rangfolge blieb konstant (Bertschinger, Trigg et al., 2002).

Beim männlichen Känguruh konnte kein kontrazeptiver Effekt durch die Implantation eines 5 mg, 10 mg oder 20 mg Deslorelinimplantats festgestellt werden. Die Hypophysen-Gonaden-Achse schien durch chronische GnRH-Agonisten Behandlung nicht supprimiert zu werden (Herbert, Trigg et al., 2004). Beim weiblichen Tier konnte mittels 5 mg Deslorelinimplantat eine in der Dauer sehr variable reversible Fertilitätsausschaltung erzielt werden. Ein Tier sprach erst auf die Behandlung mit einem zweiten Implantat an. Insgesamt stellten die Implantate für den Autor eine praktikable Lösung für das Fortpflanzungsmanagement von in Gefangenschaft lebenden oder halbwilden Beuteltierpopulationen dar (Herbert, Trigg et al., 2005).

### **2.5.8. Vögel**

Durch die intramuskuläre oder subkutane Gabe eines 4,7 mg Deslorelin Implantates (Suprelorin®, Virbac) konnte die Legetätigkeit bei verschiedenen Psittaciden unterdrückt werden. Die Wirkdauer war generell länger als 8 Monate, erweis sich allerdings insgesamt als variabel. Es konnten keine Nebenwirkungen beobachtet werden (Riggs, Cook, 2007).

Auch bei der japanischen Legewachtel konnte durch die subkutane Gabe des gleichen Implantates bei 60% der Tiere die Legetätigkeit nach einer Woche gestoppt werden. Insgesamt war die durchschnittliche Eierproduktion während der gesamten Studie reduziert (Petritz, Guzman et al., 2011).

Beim Bankivahuhn, das als Studienmodell für Ovarumore beim Menschen dient, wurde die Sicherheit und Effektivität von subkutanen Deslorelin-Implantaten auf die Unterdrückung der Legetätigkeit untersucht. Die Studiendauer betrug ein Jahr. Es wurde je ein 4,7mg oder ein 9,4mg Deslorelin Implantat (Suprelorin®, Virbac) eingesetzt. Bei allen Tieren war ab der zweiten Woche keine Legetätigkeit mehr vorhanden, das Ovar war im Ultraschall inaktiv. Die Wirkdauer des 4,7 mg Implantates betrug im Schnitt 180 Tage, die Wirkdauer des 9,4mg Implantates 319 Tage. Bei 40% der Tiere mit 9,4 mg Implantat hielt der Effekt zum Ende der Studiendauer noch an (Noonan, Johnson et al., 2012).

Des Weiteren beschrieb Nemetz (2012) die erfolgreiche Unterdrückung eines Ovarkarzinoms bei einem Nymphensittich mittels subkutaner Gabe eines 4,7mg Deslorelin Implantates (Suprelorin®, Virbac). Die komplette chirurgische Entfernung von Ovarumoren bei Psittaziden ist quasi unmöglich und die Überlebenszeit beträgt ohne Behandlung nur acht bis 12 Monate. Insgesamt wurden vier Implantate gesetzt, die im Schnitt je 5 Monate den neoplastischen Prozess unter Kontrolle halten konnten.

### **2.5.9. Reptilien**

Beim weiblichen grünen Leguan wurde der Einfluss der subkutanen Implantation eines 4,7mg Deslorelin-Implantates (Suprelorin®, Virbac) auf den Zyklus und die Steroidhormonplasmaspiegel untersucht. Die Autoren sehen in dem Implantat eine brauchbare Methode der Kontrazeption. Außerdem können Erkrankungen des Reproduktionstrakts, die bei Tieren in Gefangenschaft auftreten, wie zum Beispiel eine Legenot, verhindert werden (Kneidinger, Knotek et al., 2010).

Außerdem konnte das aggressive Verhalten bei männlichen Bartagamen mittels subkutaner Gabe eines 4,75 mg Deslorelin-Implantates (Suprelorin®, Virbac) unterbunden werden. Nach der Gabe erfolgte eine schnelle Besserung des Verhaltens und ein rascher Testosteronabfall, was für das Funktionieren sprechen könnte. Eine Spermauntersuchung wurde nicht durchgeführt, weswegen keine Aussage zur Fertilitätsbeeinflussung durch das Implantat möglich ist. Insgesamt hält der Autor weitere Untersuchungen für notwendig, da auch die Testosteronmessung für diese Tierart nicht validiert ist (Rowland, 2011).

Laut unveröffentlichter Daten wurde außerdem die Ausschaltung ovarieller Aktivität bei der Schlange versucht. Dies war nicht möglich (Rowland, 2011).

### **2.5.10. Mensch**

Die Gabe von GnRH-Superanaloga, wie in diesem Falle Nafarelin, kann beim Mann zur Unterdrückung der Testosteronproduktion und der Spermatogenese genutzt werden. Zusätzlich ist durch Nafarelin bei Patienten mit benigner Prostatahypertrophie teilweise eine

Verbesserung des Urinabsatzes möglich. Außerdem kann es in der Therapie von Prostatakarzinomen angewandt werden.

Bei der Frau kann Nafarelin zur Verhinderung der Follikelreifung, Ovulation und Luteinisierung vor einem geplanten Embryotransfer verwendet werden, außerdem bei vorliegender Endometriose, zur präoperativen Verkleinerung von Myomen und bei Hirsutismus (Chrisp, Goa, 1990).

## 2.6. Anwendung beim Kaninchen

Beim Rammler wurden bereits einzelne Studien mit widersprüchlichen Ergebnissen durchgeführt. Ein Fallbericht beschreibt, dass bei einem Rammler mittels 4,7mg Deslorelin (Suprelorin®, Firma Virbac, Bad Oldesloe) Implantat nach initialer Stimulation eine sieben Monate lang andauernde Downregulation der Testosteronkonzentration erreicht werden konnte. Außerdem nahm die Hodengröße um die Hälfte ab. Der Effekt war reversibel. Der Einfluss des GnRH-Analogons auf die Fertilität konnte nicht beurteilt werden, da kein Spermogramm angefertigt wurde (Arlt, Spankowski et al., 2010). Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse einer Arbeit von Schützenhofer (2011), in der zehn männliche Kaninchen mit einem 4,7mg Deslorelinimplantat (Suprelorin®, Virbac) behandelt wurden. In den an Tag eins und Tag 90 entnommenen Blutproben lagen Testosteronwerte vor, die über dem Basalniveau lagen. Nach Versuchsende erfolgte eine histologische Untersuchung der Hoden. Diese ergab funktionell aufgebautes Hodengewebe sowie das Vorliegen von Spermatozoen und aller Phasen der Spermatogenese. Die Autorin sieht daher in dem Implantat keine geeignete Methode zur Ausschaltung der Sexualfunktion. Als mögliche Ursache dafür, dass sich das Implantat bei vielen anderen Tierarten sehr gut für die hormonelle Kastration eignet, beim männlichen Kaninchen allerdings nicht, werden Unterschiede in der tierartlichen Entzündungsreaktion und mögliche Rasseunterschiede angeführt.



## 2.7. GnRH-Antagonisten

Die Verwendung von GnRH-Antagonisten zum Trächtigkeitsabbruch bei der Hündin wurde von Valiente et al untersucht. Durch einmalige Acylingabe kam es bei allen Hündinnen zur Progesteronabnahme auf basale Konzentrationen und dann zum Abort. Der GnRH-Antagonist stellte somit eine sichere Möglichkeit zur Beendigung der Trächtigkeit dar (Valiente, Corrada et al., 2009).

Des Weiteren wurde beim Kater der Effekt einer subkutanen Gabe des GnRH-Antagonisten Acylin untersucht. Spermiogenese, Spermatozytogenese und Spermienmotilität wurden für zwei Wochen reversibel beeinträchtigt (Romero, Fernandez et al., 2012).

Durch den GnRH-Antagonisten Orntideacetat konnte bei der männlichen Ratte ab dem 15. Tag nach Implantation eine chemische Kastration verursacht werden. Der Effekt hielt bis zum 360. Tag nach Behandlung an und war reversibel (D'Souza, Selmin et al., 2004).

## 2.8. GnRH-Vakzinen

GnRH-Vakzinen wurden beispielweise bei Katze, Hündin, Stute, Eber und verschiedenen Wildtieren angewandt.

Bei wildlebenden Katzen wurde eine einmalige Vakzination (GonaCon™, USDA, Pacarello, ID, USA) zur Populationskontrolle untersucht. 93% der vakzinierten Tiere waren für ein Jahr post Vakzination infertil, 73% der Tiere für zwei Jahre, 53% für drei Jahre, 40% für vier Jahre und 27% der Tiere bis zum Studienende fünf Jahre nach der Vakzination. Die Antikörpertiter fielen bei denjenigen Tieren schneller, die früher wieder fertil waren. Es war allerdings kein absoluter Antikörpertiter festlegbar, ab dem die Infertilität vorlag. Bei einem Drittel der Tiere entwickelten sich zwei Jahre nach Vakzination nicht-schmerzhaft, aber persistierende granulomatöse Massen an der Injektionsstelle. Die Autoren empfehlen eine Weiterentwicklung der Vakzine, um die Entwicklung von Entzündungsreaktionen und das damit erhöhte Sarkomrisiko zu vermeiden (Levy, Friary et al., 2011).

Eine Vakzinierung gegen GnRH mit einer ehemals zur Behandlung der benignen Protatahyperplasie des Rüden zugelassenen Vakzine, wurde zur Behandlung der kastrationsbedingten Urininkontinenz der Hündin angewandt. Die Autoren sehen die Erfolgsrate gleichwertig zur Anwendung von GnRH-Agonisten. Allerdings traten in dieser Studie mehr behandlungsassoziierte Nebenwirkungen auf (Donovan, Gordon et al., 2014).

Auch die Ausschaltung der Ovaraktivität bei der Stute wurde untersucht. In diesem Fall wurden die Tiere zweimalig mit einer GnRH-Vakzine (Improvac®, Firma Zoetis) behandelt. Bei allen Stuten wurde die ovarielle Aktivität unterdrückt, der Effekt war fast immer reversibel. Die Unterdrückung war altersabhängig und hielt bei jüngeren Tieren länger an, wobei die Antikörpertiter keine Unterschiede aufwiesen (Schulman, Botha et al., 2013).

Die Anwendung einer GnRH-Vakzine (Improvac®, Firma Zoetis) wurde zur Ausschaltung des Ebergeruchs untersucht. Durch die zweimalige Vakzination konnte die Geschlechtsreife des Ebers verschoben werden. Am Studienende 22 Wochen nach erfolgter zweiter Vakzination waren 100% der Kontrolltiere geschlechtsreif. Bei keinem der Studientiere war die Geschlechtsreife eingetreten. Dies konnte auch anhand der immaturen Morphologie der

primären und sekundären Geschlechtsorgane bestätigt werden. Hodengewicht und Länge der Bulbourethraldrüsen waren bei allen Tieren signifikant reduziert. Auch Anzahl und Morphologie der Leydigzellen waren verändert. Die Spermatogenese konnte bei allen Vakzinierten unterschiedlich stark reduziert werden (Einarsson, Andersson et al., 2009).

Die zweifache Immunisierung gegen GnRH wurde beim männlichen Kamel versucht. Bei einem Teil der Tiere kam es zu einem Testosteronabfall und zu einer Reduktion der Libido (Ghoneim, Waheed et al., 2012).

Außerdem wurde bei Elchkälbern von Elternkühen, die in der mittleren Trächtigkeit mit einer GnRH-Vakzine behandelt wurden untersucht, ob der passive Transfer maternaler Antikörper die Entwicklung der Kälber beeinflusst. Dies war nicht der Fall (Powers, Baker et al., 2012).

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Tierversuch und Tiere**

Bei dem Tierversuch handelte es sich um das Versuchsvorhaben mit dem Geschäftszeichen 55.2-1-54-2532-41-11.

Die Versuchstiere waren 13 weibliche Zika-Hybrid-Kaninchen aus vier unterschiedlichen Würfen. Sie stammten alle vom gleichen Züchter und wurden im Alter von 57 Tagen eingestallt.

### **3.2. Haltung und Fütterung**

Die Tiere wurden in vier Gruppen mit drei bis fünf Tieren gehalten. Die Stallabteile waren jeweils 1,3x1,6 m groß und mit Sägespänen und Stroh ausgelegt.

Die Tiere erhielten Wasser und Heu ad libitum. Außerdem wurde Gemüse in gleichbleibender Menge als Frischfutterquelle angeboten. Jedes Tier erhielt des Weiteren täglich zwei Esslöffel eines kommerziell erhältlichen Fertigfutters (Canin Kombo, Asamhof, Kissing).

Direkt nach der Ankunft wurden die Tiere per Losverfahren in vier Stallabteile aufgeteilt und die erste Blutentnahme durchgeführt. Alle Tiere hatten untereinander Sichtkontakt. Die Zusammensetzung der Stallabteile blieb über die gesamte Versuchsdauer unverändert.

### **3.3. Zeitlicher Ablauf**

Alle Tiere der Gruppe 1 erhielten das Implantat (Suprelorin®, Virbac Tierarzneimittel GmbH, Bad Oldesloe; 4,7mg des GnRH-Superagonisten Deslorelin; siehe 3.4.3) bereits vor dem Eintritt in die Pubertät im Alter von 61 Tagen. Die Tiere der Gruppe 2 erhielten zunächst kein Implantat und dienten somit als Vergleichstiere. Nach zweimaliger erfolgreicher Ovulationsinduktion (siehe 3.4.4), was als Nachweis der Geschlechtsreife gewertet wurde, erhielten auch die Kaninchen der Gruppe 2 das Implantat.

Bei jedem Tier wurden zwölf Ovulationsinduktionen während der Applikationsdauer des Implantates durchgeführt. Die Ovulationsinduktionen erfolgten in Intervallen von 21 Tagen. Die Blutentnahmen fanden zum Zeitpunkt der Implantatgabe, zehn Tage später und dann jeweils zehn Tage nach der Ovulationsinduktion statt. Die letzte Blutgewinnung erfolgte somit 262 Tage nach dem Setzen des Implantates, elf Tage danach die Implantatentfernung.

Die erste Ovulationsinduktion nach der Entfernung des slow release Implantates erfolgte nach elf Tagen. Sobald eine Ovulation und darauffolgende Pseudogravidität zweimal in Folge induziert werden konnten, war der Versuch für alle Tiere beendet.

Nach dem Versuchsende der oben beschriebenen Studien wurden alle Tiere in private Haushalte oder zur Weitervermittlung an Tierschutzorganisationen vermittelt.

## **3.4. Methoden**

### **3.4.1. Klinische Untersuchung inklusive Gewichtsbestimmung**

Der Allgemeinzustand und die Atmung der Tiere wurden täglich adspektorisch beurteilt. Zusätzlich erfolgte täglich eine Beurteilung der Futteraufnahme. Am Tag der Einstallung, jeweils vor der Ovulationsinduktion und den Blutentnahmen wurden die Tiere klinisch untersucht. Dafür wurden die Tiere, mit dem Rücken der fixierenden Person zugewandt, einzeln aus dem Abteil entnommen. Zunächst erfolgte eine Messung der Körperinnentemperatur mittels Rektalthermometer (microlife Vet Temp, Microlife AG, Widnau/Schweiz) und damit einhergehend eine Untersuchung der Perianalregion. Im Anschluss wurde das Abdomen palpirt und der Füllungszustand des Magen-Darm-Traktes beurteilt. Anschließend wurden die Tiere in ihre physiologische sitzende Körperposition verbracht und es erfolgte die Adspektion des Kopfes unter besonderer Berücksichtigung von Nase, Augen, Maulhöhle und -schleimhaut. Dann erfolgte eine Herz- und Lungenauskultation mittels eines Stethoskops (Littmann®, Classic II S. E., 3M Health Care, St. Paul, MN, USA) und eine palpatorische Beurteilung des Pulses. Das Gewicht der Tiere wurde immer einhergehend mit den Blutentnahmen mittels einer Federwaage (BGS technic 8034) ermittelt.

### **3.4.2. Gynäkologische Untersuchung**

Gemeinsam mit der Beurteilung der Perianalregion erfolgte auch eine Adspektion der Vulva.

### **3.4.3. Implantation des GnRH-Analogons**

Jedes Tier erhielt ein Implantat, welches 4,7mg des GnRH-Analogons Deslorelin enthält (Suprelorin®, Virbac Tierarzneimittel GmbH, Bad Oldesloe). Die Implantation erfolgte lateral des Bauchnabels. Hierfür wurde das betreffende Hautareal desinfiziert (Softasept®N B. Braun Melsungen AG, Melsungen) und die Hautpartie leicht angehoben. Nun wurde das Implantat mithilfe des vom Hersteller dafür vorgesehenen Applikators eingegeben. Die Nadel des Applikators wurde vollständig subkutan verbracht, ihr Sitz kontrolliert und dann der Stempel des Applikators vollständig heruntergedrückt. Die Nadel wurde wieder

herausgezogen und die den Stichkanal umgebende Haut für circa eine Minute komprimiert. Anschließend wurde die komplette Abgabe des Implantates adspektorisch und der korrekte Sitz des Implantates palpatorisch überprüft. Im Rahmen jeder klinischen Untersuchung wurde eine erneute Kontrolle des Implantatsitzes und möglicher Veränderungen der Struktur des Implantates durchgeführt.

#### **3.4.4. Ovulationsinduktion**

Die Ovulationsinduktionen erfolgten mittels 0,8 µg/Tier Buserelin (Receptal®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) in Intervallen von 21 Tagen. Der Wirkstoff wurde intramuskulär im Bereich der Quadrizepsmuskulatur verabreicht. Hierfür wurde das Kaninchen durch eine Hilfsperson in Bauchlage gebracht und die benötigte Hintergliedmaße manuell fixiert. Die betreffende Hautstelle wurde desinfiziert (Softasept®N B. Braun Melsungen AG, Melsungen). Die Injektion erfolgte mit einer sterilen Einmalkanüle (Sterican 23G, B. Braun Melsungen AG, Melsungen). Diese wurde im rechten Winkel circa einen halben Zentimeter weit eingestochen. Daraufhin wurde aspiriert und bei korrektem Sitz der Nadel der Wirkstoff appliziert.

#### **3.4.5. Gewinnung, Aufbereitung und Lagerung der Blutproben**

Die Blutproben wurden aus der Vena auricularis lateralis entnommen. Eine Hilfsperson brachte das Kaninchen auch hierfür in Bauchlage und legte an der Ohrbasis der betreffenden Pinna einen manuellen Stau an. Die Punktionsstelle wurde desinfiziert (Softasept®N B. Braun Melsungen AG, Melsungen). Für die Progesteronmessung wurden jeweils zwei Milliliter Blut in einem Serumröhrchen (Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., Nürnberg) gewonnen, für die Anfertigung der Blutchemie ein Milliliter. Zur Anfertigung des Blutbildes wurden 0,5 Milliliter Blut mittels eines EDTA-beschichteten Röhrchens (Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., Nürnberg) aufgefangen. Im Anschluss an die Punktion wurde für 15 Minuten ein Druckverband angelegt. Die Blutproben wurden für zehn Minuten bei 700 g in eine Zentrifuge (Labofuge GL, Heraeus Christ Vertriebsgesellschaft mbH, Osterode am Harz) verbracht. Direkt im Anschluss an die Zentrifugation wurde das Serum in entsprechend markierte Eppendorf-Röhrchen (Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., Nürnberg) pipettiert. Die Serumparameter wurden umgehend bestimmt. Für die Progesteronmessung wurde das



Serum zunächst bei  $-18^{\circ}\text{C}$  (Gefrierschrank Typ GS OS 05, Robert Bosch GmbH, Stuttgart) für minimal 24 Stunden und maximal eine Woche gelagert.

### **3.4.6. Laboruntersuchungen**

#### **3.4.6.1. Blutbild und Serumparameter**

Am Tag der Einstellung wurde allen Tieren Blut für die Anfertigung eines Blutbildes und die Bestimmung der Organparameter Harnstoff, Kreatinin und ALT entnommen. Die Anfertigung des Blutbildes (scil Vet abc Plus, scil animal care company GmbH, Viernheim) erfolgte direkt im Anschluss an die Blutentnahme. Die Serumparameter wurden direkt nach erfolgter Zentrifugation bestimmt (Reflotron, Roche Deutschland Holding GmbH, Mannheim).

#### **3.4.6.2. Bestimmung der Progesteronkonzentration**

Die Messung der Progesteronkonzentration im Serum basierte auf einer immunenzymatischen Methode, die abschließend mit einer Enzyme Linked Fluorescent Assay Technik kombiniert ist (Mini Vidas®, Biomerieux, Marcy-l'Etoile, France). Sie ist bisher für die Tierarten Mensch und Hund validiert (Brugger, Otzdorff et al., 2011). Dafür wurde jede tiefgefrorene Probe aufgetaut, bis sie Raumtemperatur erreicht hatte. Je Probe wurden zusätzlich zu dem Messgerät ein Reagenzienriegel und ein Festphasenrezeptor, der zugleich als Pipette dient, benötigt. Diese wurden 30 Minuten vor der Verwendung aus dem Kühlschrank (Liebherr KTe 1740, Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberach an der Riss) entnommen und ebenfalls auf Raumtemperatur erwärmt. Dann wurden sie in das Gerät eingeführt. Jede Probe wurde manuell gründlich durchmischt, dann wurden mittels Pipette 200 $\mu\text{l}$  in das Probenfach des Reagenzienriegels überführt. Nach dem Starten des Testablaufs lief dieser vollautomatisch ab. Zunächst wurde die Probe durch das Gerät verdünnt. Dann band das in der Probe vorhandene Progesteron an den spezifischen, am Festphasenrezeptor fixierten monoklonalen Antikörper. Durch mehrfache Waschungen wurde ungebundenes Material entfernt. Danach nahm der als Pipette ausgeführte Festphasenrezeptor das Konjugat auf. Die freien Bindungsstellen sättigten daraufhin mit dem Konjugat. Das aus der Probe stammende gebundene Progesteron wurde dann mittels des Konjugates nachgewiesen. Konjugat das nicht

binden konnte, wurde durch erneutes Waschen entfernt. Zuletzt wurde 4-Methyl-umbelliferylphosphat in den Festphasenrezeptor aufgenommen und wieder abgegeben. Dann wurde es durch ein Enzymkonjugat in ein fluoreszierendes Produkt umgewandelt, dessen Fluoreszenz bei 450 nm gemessen wurde. Die Intensität dieser Fluoreszenz war der Progesteronkonzentration in der Probe umgekehrt proportional. Das Ergebnis wurde nach circa 45 Minuten automatisch ausgegeben. Der Messbereich des Gerätes reichte von 0,25 bis 80 ng/ml.

### **3.4.7. Entfernung des Implantats**

Nach Ablauf von 273 Tagen wurde das slow release GnRH-Implantat wieder entfernt. Dazu wurde das Implantat mit 0,5ml Lokalanästhetikum (Lidocainhydrochlorid 2%, bela pharm GmbH&Co.KG, Vechta) unterspritzt und die Haut mit Kältespray (Chloroethyl Dr. Henning, chemische Fabrik Walldorf GmbH, Germany) behandelt. Nun wurde die betreffende Hautstelle desinfiziert und eine circa einen Zentimeter lange Hautinzision mittels einer Skalpellklinge (Surgical Disposable Scalpel 22, Aesculap AG, Tuttlingen/Germany) gesetzt. Das Implantat wurde mit einer anatomischen Pinzette (BC 27, Braun Aesculap AG, Tuttlingen/Germany) fixiert und das umgebende Bindegewebe eröffnet. Daraufhin konnte das Implantat entnommen werden. Mittels eines Klammerapparates (Leukoclip SD, Smith+Nephew Medical Ltd., Hull HU3 2BN England) wurde die Haut durch das Einsetzen von zwei bis vier Klammern wieder adaptiert. Im Anschluss wurde palpatorisch der mögliche Verbleib von Implantatmaterial ausgeschlossen und die Vollständigkeit des Implantates adspektorisch überprüft. Die Klammern wurden zehn Tage nach dem Setzen wieder entfernt.

### **3.5. statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Anatomie, Histologie und Embryologie des veterinärwissenschaftlichen Departments der tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Nach der Zusammenfassung der Daten mittels Excel®-Tabellen, erfolgte die weitere Auswertung der Ergebnisse mittels  $\chi^2$ -Test und exaktem Test nach Fisher.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Allgemeine klinische Untersuchung**

#### **4.1.1. Gruppe 1**

Die klinische Untersuchung zum Zeitpunkt der Einnistung mit 57 Tagen war bei allen Tieren unauffällig.

Während der Applikationsdauer des GnRH-Agonisten erlitt ein Tier eine Hornhautverletzung des rechten Auges und eine Lidverletzung des linken Auges unbekannter Genese. Beide Verletzungen konnten konservativ erfolgreich therapiert werden. Ansonsten waren keine Auffälligkeiten zu beobachten.

Zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme nach der Implantatentfernung lag bei zwei von sieben Tieren eine perivulväre Bissverletzung durch ein Partnertier vor. Ein weiteres Tier wies zum Zeitpunkt der dritten Blutentnahme eine Bissverletzung am ventralen Abdomen auf. Die Untersuchung der restlichen Tiere war ohne besonderen Befund.

#### **4.1.2. Gruppe 2**

Bei diesen Tieren waren die klinischen Untersuchungen über die gesamte Versuchsdauer ohne besonderen Befund.

## **4.2. Gewichtsentwicklung**

Zum Zeitpunkt der Einnistung mit 57 Tagen betrug das Gewicht der Tiere der präpubertären Gruppe im Mittel 1,69 kg, der Maximalwert lag bei 1,90 kg.

Zum Zeitpunkt des Versuchsendes, also nachdem bei allen Tieren post Explantation zweimal in Folge eine Ovulationsinduktion möglich war, betrug das Gewicht der Tiere der präpubertären Gruppe 4,5 kg. Das Gewicht der Tiere der postpubertären Gruppe lag zu diesem Zeitpunkt im Mittel bei 4,23 kg.

### **4.3. Gynäkologische Untersuchung**

Die Palpation des Gesäuges war ohne besonderen Befund, es konnten keine Hinweise auf das Vorliegen von Umfangsvermehrungen gefunden werden. Die Adspektion der Vulva ergab unter der Wirkung des Implantates zu keinem Zeitpunkt eine Schwellung oder bläuliche Verfärbung.

### **4.4. Laboruntersuchungen**

Die bei der Ankunft im Alter von 57 Tagen angefertigten Laboruntersuchungen waren, ausgehend von den Referenzbereichen von Hein und Hartmann (2003), bei allen Tieren ohne besonderen Befund.

## **4.5. Progesteronkonzentration**

### **4.5.1. Progesteronkonzentration Gruppe 1**

#### **4.5.1.1. Vor der Behandlung**

Vor der Implantatgabe wiesen alle Tiere basale Progesteronwerte auf.

Die Progesteronkonzentration lag im Schnitt bei 0,79 ng/ml. Der niedrigste Wert betrug 0,27 ng/ml, der Maximalwert 1,53 ng/ml.

#### **4.5.1.2. Progesteronkonzentration zum Zeitpunkt der Implantation**

Zum Zeitpunkt der Implantation wiesen die Tiere I bis VII basale Progesteronwerte auf.

#### **4.5.1.3. Induzierte Ovulation nach Implantatgabe**

Bei zwei (I, III) der sieben Tiere konnte zehn Tage nach dem Setzen des Implantates ein erhöhter Progesteronwert gemessen werden. Er betrug 5,93 ng/ml und 7,80 ng/ml.

Die restlichen Tiere wiesen weiterhin basale Hormonkonzentrationen auf. Der Maximalwert lag hier bei 1,28 ng/ml.

#### **4.5.1.4. Ovulationsinduktion unter Wirkung des GnRH-Analogons**

Während der gesamten weiteren Dauer der Implantation konnte bei keinem der Tiere eine Ovulation induziert werden. Die Progesteronwerte im Serum lagen alle unter 2ng/ml.

#### **4.5.1.5. Reversibilität der Implantatwirkung**

Die Entfernung der Implantate war unter Lokalanästhesie problemlos möglich. Nach der ersten Ovulationsinduktion waren zwei von sieben Tieren sicher pseudogavid. Nach maximal drei Ovulationsinduktionen war der Versuch bei allen Tieren beendet, weil alle mit einem signifikanten Anstieg der Progesteronkonzentration als Indiz für die wiederhergestellte Ovarfunktion reagierten (Tabelle 1).

Die Progesteronwerte nach der Entfernung des Implantates unterschieden sich signifikant von den Werten, die unter der Behandlung mittels GnRH-slow-release Implantat vorlagen (Exakter Test nach Fisher).

Versuchstier	Ovulationsinduktion nach Implantatentfernung		
	1	2	3
Kaninchen I	-	+	+
Kaninchen II	+/-	+	+
Kaninchen III	-	+	+
Kaninchen IV	-	+	+
Kaninchen V	+	+	k.M.
Kaninchen VI	+	+	k.M.
Kaninchen VII	-	+	+

**Tabelle 1 Ovulationsinduktion nach Implantatentfernung Gruppe 1**

+	pseudogavid (> 4ng/ml)
-	nicht pseudogavid (<2 ng/ml)
+/-	fraglich (2-4 ng/ml)
k.M.	keine Messung



### 4.5.1.6. Übersicht Pseudograviden

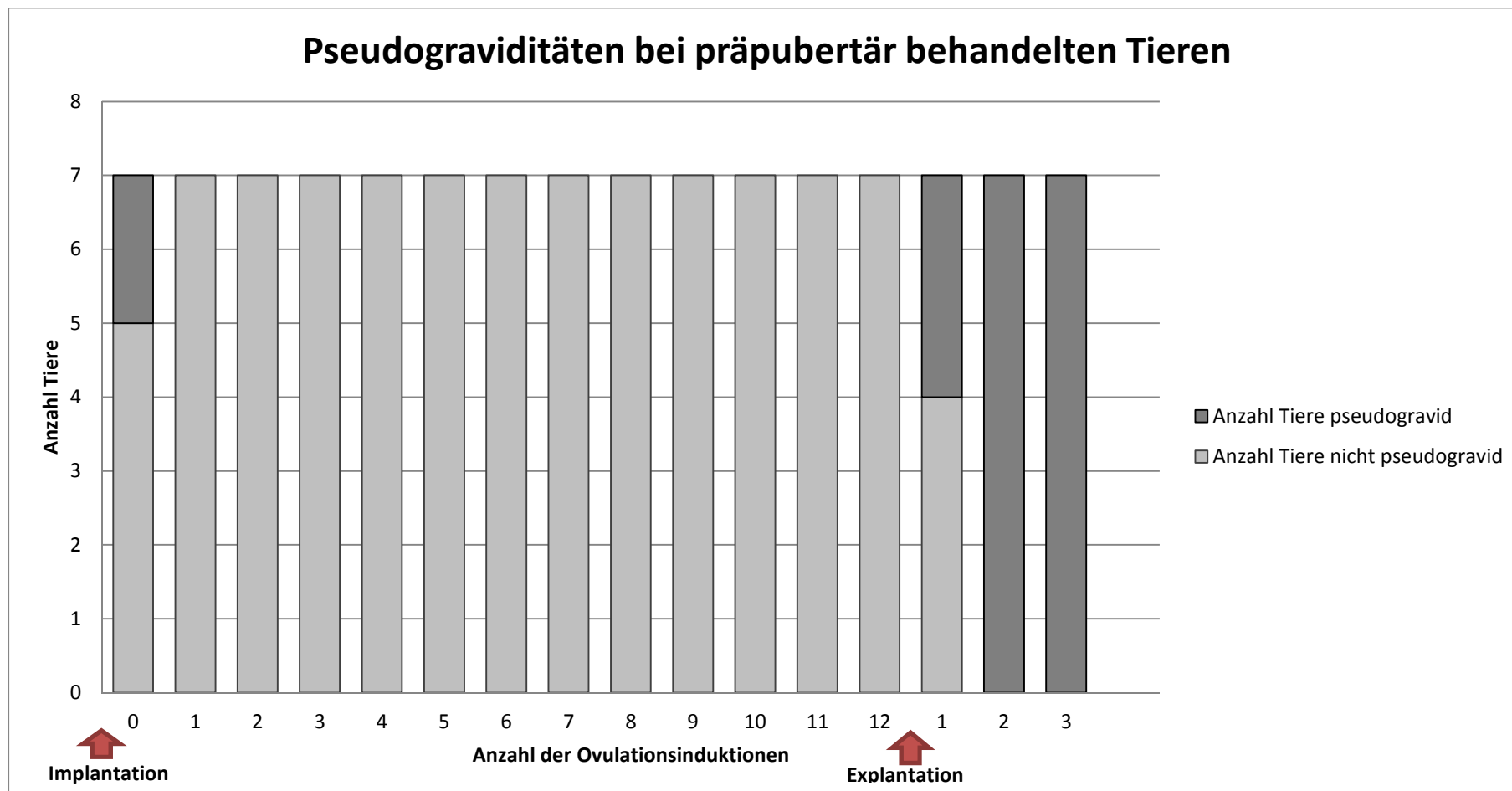


Abbildung 1 Pseudograviden Gruppe 1

## **4.5.2. Progesteronkonzentration Gruppe 2**

### **4.5.2.1. Vor der Behandlung**

Vor der Gabe des Implantates wurde bei allen Tieren mindestens zweimalig erfolgreich eine Pseudogravidität induziert. Dies war bei zwei Tieren (VIII, IX) im Alter von 113 Tagen möglich. Aufgrund der Tatsache, dass bei den restlichen vier Tieren die Induktion erst mehrere Monate später möglich war, wurde die Reproduzierbarkeit der Ovulationsinduktion bei den zwei induzierbaren Tieren weitere vier Mal getestet. Bei Tier Nummer VIII war die Ovulationsinduktion immer möglich, bei Tier Nummer IX führte die Induktion im Alter von 134 Tagen nicht zur Etablierung einer Pseudogravidität. Bei vier Tieren war die reproduzierbare Ovulationsinduktion erst nach dem Aussetzen von zwei Ovulationsinduktionen und vorübergehendem visuellem und olfaktorischem Kontakt zu einem intakten männlichen Kaninchen möglich. Bei Tier Nummer XIII war dies im Alter von 303 Tagen, bei Tier Nummer XII im Alter von 324 Tagen möglich, bei den restlichen zwei Tieren (Nummer X und XI) im Alter von 345 Tagen.

### **4.5.2.2. Progesteronkonzentration zum Zeitpunkt der Implantation**

Die Tiere VIII bis XI wiesen zum Zeitpunkt der Implantation basale Progesteronwerte auf. Tier Nummer XII befand sich in einer Pseudogravidität. Von Tier Nummer XIII liegt zu diesem Zeitpunkt kein Messwert vor.

### **4.5.2.3. Induzierte Ovulation nach Implantatgabe**

Vier (IX, X, XII, XIII) von sechs Tieren wiesen nach der Implantatgabe einmalig eine Ovulation und darauffolgende Pseudogravidität auf.

#### 4.5.2.4. Ovulationsinduktion unter der Wirkung des GnRH-Analogons

Bei allen Kaninchen dieser Gruppe war unter der Wirkung des Implantates keine Ovulationsinduktion möglich. Die Werte lagen alle unter der in der Literatur angegebenen Basalgrenze von 2 ng/ml. Bis auf einen einzigen Wert, lagen die Werte sogar unter 1 ng/ml.

#### 4.5.2.5. Reversibilität der Implantatwirkung

Die Entfernung der Implantate war unter Lokalanästhesie problemlos möglich. Bei den postpubertär implantierten Tieren erfolgte die erste Ovulationsinduktion 21 Tage nach der Implantatentfernung. Auch in dieser Gruppe unterschieden sich die Progesteronwerte unter der Implantatwirkung signifikant von denen nach der Implantatentfernung (Exakter Test nach Fisher). Fünf von sechs Tieren waren bereits aufgrund der ersten Ovulationsinduktion pseudogavid. Spätestens bei der 5. Ovulationsinduktion hatten alle Tiere mindestens zweimal mit einem Progesteronsanstieg reagiert (Tabelle 2).

Versuchstier	Ovulationsinduktion nach Implantatentfernung					
	1	2	3	4	5	6
Kaninchen VIII	+	+/-	+	+/-	+	+
Kaninchen IX	+	+	k.M.	k.M.	k.M.	k.M.
Kaninchen X	+	+	k.M.	k.M.	k.M.	k.M.
Kaninchen XI	+	-	+	+	k.M.	k.M.
Kaninchen XII	-	+/-	+/-	+	+	k.M.
Kaninchen XIII	+	+/-	-	+	+	k.M.

Tabelle 2 Ovulationsinduktion nach Implantatentfernung Gruppe 2

+	pseudogavid (> 4ng/ml)
-	nicht pseudogavid (<2 ng/ml)
+/-	fraglich (2-4 ng/ml)
k.M.	keine Messung

### 4.5.2.6. Übersicht Pseudograviden

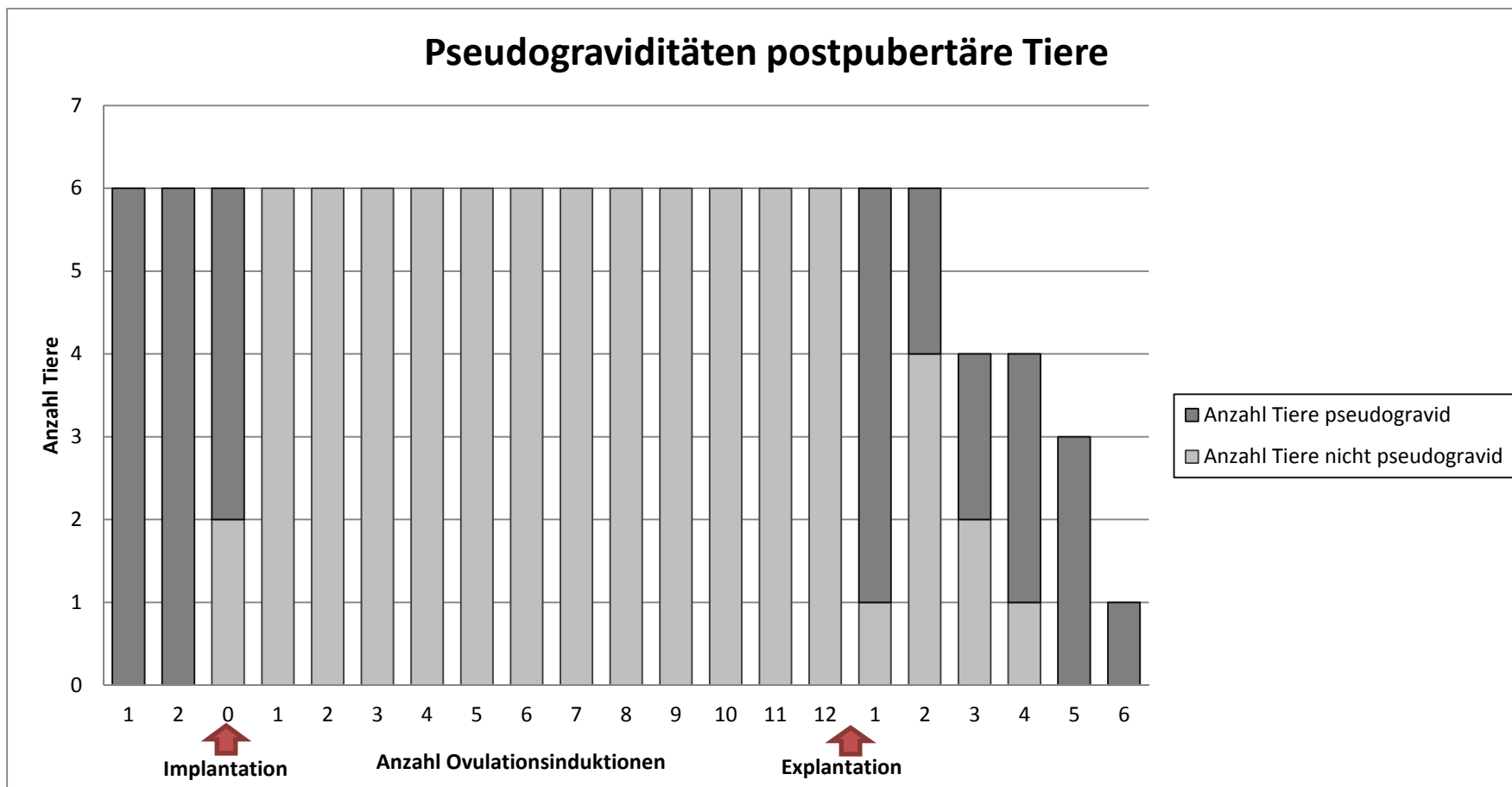


Abbildung 2 Pseudograviden Gruppe 2

#### **4.6. Unerwünschte Nebenwirkungen**

Über die gesamte Studiendauer konnten weder lokale noch systemische unerwünschte Nebenwirkungen beobachtet werden.

## 5. Diskussion

### 5.1. Praktische Relevanz von GnRH slow-release Implantaten

Praktische Relevanz haben die GnRH slow-release Implantate vor allem bei der chemischen Kastration des Rüden und des männlichen und weiblichen Frettchens. Außerdem findet nach eigenen Erfahrungen immer häufiger eine off-label Anwendung bei Kater und Kätzin statt. Bei verschiedenen Wildtierspezies und beim Vogel werden die Präparate zur Populationskontrolle verwendet.

### 5.2. Ovulationsinduktion und Ovulationsinduktionsprotokoll

Die zur Ovulationsinduktion angewandte Buserelinmenge entspricht den Empfehlungen des Herstellers zur Ovulationsinduktion beim Kaninchen.

Um die Intervalle zwischen den Ovulationsinduktionen festzulegen, wurde die maximale Dauer der Pseudogravidität mit der Dauer der Follikelreifung addiert und ein weiterer Tag hinzugefügt, um mögliche individuelle Unterschiede auszugleichen. Die Dauer der Pseudogravidität beim weiblichen Kaninchen wird mehrheitlich mit 16 bis 18 Tagen angegeben (Browning, Amis et al., 1982; Browning, Wolf, 1981; Thau, Lanman, 1975). Die Dauer der Follikelreifung beträgt nach subkutaner Gabe von equinem Choriongonadotropin im Schnitt 48 Stunden ( $48 \pm 3,4$ ). Danach ist eine Ovulationsinduktion – in dieser Studie durch die Gabe von humanem Choriongonadotropin - möglich (Dahm-Kähler, Löfman et al., 2006). Daraus resultiert insgesamt eine Dauer von maximal 20 Tagen. Daher wurde das Intervall zwischen den Ovulationsinduktionen auf 21 Tage festgelegt.

In Einzelfällen war eine Ovulationsinduktion trotzdem nicht möglich. Ein Beispiel hierfür stellt Kaninchen Nummer IX vor der Implantatgabe dar. Zweimalig konnte eine Pseudogravidität induziert werden. Durch die nächste Busereliningabe war dies nicht möglich. Die beiden darauffolgenden Scheinrchtigkeiten waren wieder induzierbar.

Im Rahmen einer Studie, während der die Tiere besamt wurden, konnte beobachtet werden, dass auch manche Handlingmaßnahmen im Rahmen der Besamung ausreichend waren, um

eine Ovulation auszulösen. Alleine das Handling, das Einführen des Besamungskatheters und die intramuskuläre Injektion führten bei 37,5% der Tiere zur induzierten Ovulation (Rebollar, Dal Bosco et al., 2012). Es ist also möglich, dass durch das Handling und die Gruppenhaltung der Tiere Ovulationsinduktionen zu anderen Zeitpunkten als dem der Buserelingebe stattgefunden haben. Diese Faktoren wären eine weitere mögliche Erklärung für das vereinzelt aufgetretene Ausbleiben von Pseudograviditäten.

Manche Autoren geben die Dauer der Pseudogravidität mit maximal 20 Tagen an (Caillol, Dauphin-Villemant et al., 1983; Richardson, Oliphant, 1981). Eventuell liegen rassetypische Unterschiede vor. Dies wäre eine weitere Erklärung für das beobachtete Phänomen.

In manchen Zyklen waren also - eventuell auch aufgrund individueller Unterschiede in der Follikelentwicklung - noch keine oder nur wenige ovulationsbereite Follikel vorhanden. Aus diesen Vorkommnissen konnte die Erkenntnis gewonnen werden, dass eine Ovulationsinduktion mittels Buserelin in 3 Wochen Intervallen beim Zika-Hybrid-Kaninchen das kürzeste mögliche Ovulationsinduktionsintervall darstellt.

### **5.3. Pubertät und Beeinflussung des Pubertätseintritts durch GnRH-Agonisten**

Betrachtet man das Auftreten des ersten Östrus bei anderen Kaninchenrassen, so konnte beim weißen Neuseeländer Kaninchen bei 18 Stunden Tageslichtzufuhr im Alter von  $105 \pm 3,6$  Tagen der erste Östrus beobachtet werden. Das Gewicht der Tiere betrug zu diesem Zeitpunkt  $2,65 \pm 0,07$  kg (Kamwanja, Hauser, 1983).

Beim Kalifornier, einer Kaninchenrasse, deren Endgewicht dem der hier verwendeten Zika-Hybrid-Kaninchen ebenfalls vergleichbar ist, traten ab einem Körpergewicht von 3 kg erste Ovulationen auf. Ab einem Körpergewicht von 3,3 kg war der Prozentsatz der Tiere mit induzierter Ovulation nach dem Deckakt im normalen Rahmen für adulte Tiere (Hulot, Mariana et al., 1982).

Der Prozess der Follikelbildung ist histologisch betrachtet bei Jungtieren im Alter von zwei bis vier Wochen beendet. Bei einem Viertel der acht Wochen alten Kaninchen sind frühe kleine Antralfollikel vorhanden. Dies entspricht dem Zeitpunkt an dem die präpubertären

Tiere ihr Hormonimplantat erhielten. Erst bei 12 Wochen alten Tieren waren Antralfollikel vorhanden (Hutt, McLaughlin et al., 2006).

Aufgrund der Tatsache, dass die erste Gruppe der Tiere das Implantat bei einem mittleren Körpergewicht von 1,69 kg und im Alter von circa acht Wochen erhielten, kann man von einer präpubertären Implantation ausgehen. Die Versuchstiere wurden erst im Alter von 57 Tagen vom Züchter abgegeben. Um den Eintritt der Pubertät und damit die Möglichkeit der Behandlung juveniler Tiere nicht zu verpassen, war es nicht möglich, bei den Tieren der ersten Gruppe vor dem Setzen des Implantates Ovulationsinduktionsversuche durchzuführen.

Der Pubertätseintritt kann in der Humanmedizin durch GnRH-Agonisten beeinflusst werden. Sie werden in der Therapie des zentral bedingten frühzeitigen Pubertätseintritts eingesetzt. Ziel der Therapie ist es, die Wirkung von zeitlich inkorrekt ausgeschüttetem GnRH am primären Zielorgan, also an der Hypophyse, zu blockieren (Roth, Leonhardt et al., 2000). Bei Anwendung von Buserelin bei humanmedizinischen Patienten konnte mittels kontinuierlicher pulsatischer Busereliningabe die sexuelle Entwicklung gehemmt werden (Bourguignon, Van Vliet et al., 1987). Vier der Kaninchen der zweiten Gruppe zeigten erst im Alter von 303, 324 und 345 Tagen erstmalig eine Pseudogravidität. Möglicherweise konnte durch die wiederholte Busereliningabe bei den Tieren dieser Studie ebenfalls eine Verzögerung des Pubertätseintritts erzielt werden. Gegen diese Hypothese spricht, dass die Busereliningabe seltener erfolgte, als in den humanmedizinischen Studien. Näheren Aufschluss könnten histologische Untersuchungen der Ovarien und die Bestimmung der Östradiollevel geben, da in einer Studie bei der Ratte der spätere Pubertätseintritt nach der Gabe von Buserelin unter anderem durch niedrigere Ovargewichte und reduzierte Östradiollevel gekennzeichnet war (Roth, Leonhardt et al., 2000).

#### **5.4. Progesteronbestimmung**

Das für die Progesteronbestimmung angewandte Messgerät und –prinzip ist für die Anwendung beim Kaninchen bisher nicht validiert. Dennoch erscheint es für die Anwendung beim Kaninchen geeignet.

Serumprogesteronwerte unter 2 ng/ml werden allgemein als basal angesehen. Befindet sich die Hormonkonzentration in diesem Bereich, liegen keine funktionellen Corpora lutea vor



(YoungLai, Thompson et al., 1989). Brugger et al (2011) verwendeten das in dieser Studie benutzte Messgerät und -prinzip zur Progesteronbestimmung bei der Hündin. Präpartal lagen die gemessenen Progesteronwerte höher als bei anderen Autoren, welche die Progesteronkonzentration aus dem Serum mittels Radioimmunoassay bestimmt hatten. Um falsche positive Ergebnisse bezüglich des Vorliegens einer Pseudogravidität zu vermeiden, wurde daher in dieser Studie eine Pseudogravidität erst nach Überschreitung der 4 ng/ml Grenze als sicher vorliegend angesehen. Die Tiere, welche Progesteronwerte zwischen 2 und 4 ng/ml aufwiesen werden daher im Ergebnisteil als Tiere in der Übergangsphase bzw. in den Tabellen 1 und 3 als fraglich bezeichnet.

### **5.5. Wirkung des Implantates**

Die Ovarien aller Tiere waren während der Implantatwirkung inaktiv. Es konnte bei keinem Tier eine Pseudogravidität induziert werden.

Bei der weiblichen Ratte konnte dieser Effekt auch histologisch verdeutlicht werden: in zwei Studien lagen unter der Behandlung mit dem gleichen GnRH slow-release Implantat zehn Mal weniger präantrale Follikel vor, als in der Kontrollgruppe (Alkis, Sendag et al., 2011; Cetin, Alkis et al., 2013).

Bei anderen Tierarten war die Fertilitätsausschaltung weniger einheitlich gegeben. Eine von 14 Kätzinnen und einer von 53 Rüden reagierten nicht auf die Behandlung mit einem GnRH slow-release Agonisten, die Spermatogenese konnte beim Rüden maximal auf Spermatogonien und primäre Spermatozyten reduziert werden (Goericke-Pesch, Wilhelm et al., 2010; Toydemir, Kılıçarslan et al., 2012).

### **5.6. Reversibilität**

Aufgrund der Tatsache, dass die Behandlung beim Kaninchen vor allem bei Heimtieren und weniger bei Zuchttieren relevant sein dürfte, spielt die Reversibilität der Implantatwirkung eine eher untergeordnete Rolle. Trotzdem konnte anhand der Betrachtung dieses Aspektes die Erkenntnis gewonnen werden, dass eine schädliche Wirkung auf die Gonaden nicht

vorzuliegen scheint. Daher spricht nichts gegen eine Wiederholung der Behandlung beim Einzeltier.

### **5.7. Zusammenfassung**

Weitere interessante Untersuchungen wären die Feststellung der Dauer der Implantatwirkung und die histologische Untersuchung des Geschlechtsapparates behandelter Tiere. Des Weiteren sollten mögliche Einflüsse auf Erkrankungen des Genitaltraktes abgeklärt werden. Praxisrelevant wäre zudem die wiederholte Anwendung der Behandlung.

## 6. Zusammenfassung

In diesen Untersuchungen wurde geprüft, ob die Behandlung mit dem 4,7mg Deslorelinimplantat die Ovarfunktion beim Kaninchen langfristig unterdrücken kann. Diese Behandlung könnte die chirurgische Kastration ersetzen, die zur Verhinderung hormonell bedingter Erkrankungen des Genitaltraktes und des Gesäuges sowie der ungewollten Fortpflanzung empfohlen wird.

Bei anderen Tierarten werden GnRH slow-release Implantate bereits zur Fertilitätsausschaltung, zur Verschiebung des Pubertätseintritts und zur Verhinderung hormonell bedingter Erkrankungen eingesetzt. Eine Zulassung für die Anwendung in der Praxis besitzen deslorelinhaltige Implantate zur hormonellen Kastration des adulten Rüden und des Frettchens.

13 weibliche Zika-Hybrid Kaninchen wurden im Alter von 57 Tagen in zwei Gruppen aufgeteilt. Die sieben Tiere der präpubertären Gruppe erhielten sofort ein 4,7mg Deslorelin Implantat. Dieses wurde subkutan in die umbilikale Region eingesetzt. Bei den sechs Tieren der postpubertär behandelten Gruppe wurde nach zweimaliger erfolgreicher Ovulationsinduktion (Progesteronanstieg  $>4$  ng/ml) mittels Buserelin (intramuskulär  $0,8\mu\text{g}$ ) zum Nachweis der Geschlechtsreife das Implantat eingesetzt. Zehn Tage nach der Implantatgabe erfolgte in beiden Gruppen eine Blutentnahme, um implantatinduzierte Pseudograviditäten erkennen zu können. Die Bestimmung von Progesteron im peripheren Blut erfolgte mittels einer immunenzymatischen Methode, die abschließend mit einer Enzyme Linked Fluorescent Assay Technik kombiniert ist (Mini Vidas®, Biomerieux, Marcy-l'Etoile, France).

Während der Implantatwirkung über 273 Tage wurde zwölf Mal im Abstand von 21 Tagen eine Ovulationsinduktion mit Buserelin durchgeführt. Jeweils 10 Tage danach erfolgte eine Blutentnahme zur Bestimmung des Serumprogesterons. 273 Tage nach dem Einsetzen wurde das Implantat wieder entfernt. Die Reversibilität der Wirkung des Implantats auf die Ovarfunktion galt als nachgewiesen, wenn danach zwei Mal im Abstand von 21 Tagen eine Pseudogravidität induzierbar war.

Bei den präpubertär behandelten Tieren (n = 7) kam es zehn Tage nach der Verabreichung des Implantats bei zwei von sieben Tieren zu einem Anstieg des Progesteronspiegels (Ovulationsinduktion). Bei allen Tieren der zweiten Gruppe konnte vor dem Einsetzen des Implantates zweimal eine Ovulation durch Buserelin ausgelöst werden. Der Einsatz des Implantates bewirkte bei den adulten Tieren in 4 von 6 Fällen eine Ovulationsinduktion. Bei allen 13 Tieren war im Folgenden während der Applikationsdauer des Implantats keine Ovulationsinduktion möglich. Klinisch erkennbare Nebenwirkungen waren nicht gegeben. Die Wirkung des Implantats auf die Ovarfunktion war bei allen Tieren reversibel. Bei den 7 präpubertär behandelten Tieren war bereits mit der dritten Ovulationsinduktion im Abstand von 21 Tagen das Kriterium für den Nachweis der Ovarfunktion erfüllt (Progesteronanstieg >4 ng/ml nach zwei aufeinanderfolgenden Injektionen von Buserelin). Bei den postpubertär behandelten Tieren war dieses Kriterium erst nach der sechsten Injektion bei allen Tieren erfüllt.

Die Unterdrückung der Ovarfunktion über neun Monate mittels 4,7mg Deslorelin als Implantat war bei allen behandelten Tieren möglich. Diese Behandlung könnte damit beim weiblichen Kaninchen eine geeignete Alternative zur chirurgischen Kastration darstellen. In weiteren Studien sollte die maximale Wirkungsdauer des Implantates und dessen Einfluß auf die Inzidenz hormonbedingter Erkrankungen des Geschlechtsapparates und des Gesäuges untersucht werden.

## 7. Summary

### **Hormonal castration in the female rabbit with the GnRH-agonist Deslorelin**

The aim of this study was to test the long term effect of a slow-release Deslorelin implant on ovarian function in female rabbits. This treatment could be a valuable alternative to surgical castration which is used to prevent unwanted pregnancies and to reduce the incidence of diseases of the genital tract and the mammary gland.

Slow-release Deslorelin implants are used in a number of species for contraception, to delay the onset of puberty and to reduce the incidence of hormone related diseases. In Germany a registered product is available for hormonal castration in male dogs.

Female rabbits prepuberal (zika-hybrid) aged 57 days were assigned to two groups. Seven animals were treated immediately with a 4.7 Deslorelin implant subcutaneously in the umbilical area. The remaining six animals received the same treatment not before ovulation (progesterone < 4ng/ml) could be induced twice by Buserelin (postpuberal animals). Ten days after treatment with the implant, the progesterone level in peripheral blood was measured to detect ovulations induced by the implant. A minividas was used to determine quantitatively the level of progesterone in peripheral blood.

The implant was left in place for 273 days. During this treatment Buserelin was administered twelve times with 21-days intervals. A rise of progesterone >4 ng /ml was used as a criterion for successful induction of ovulation. After the implant had been removed, induction of ovulation was carried out in 21-days intervals until a rise of progesterone could be detected in two consecutive cycles.

In two out of seven prepuberal rabbits a rise of progesterone indicating ovulation could be detected ten days after insertion of the implant. Induction of ovulation by Buserelin could be verified twice in all animals of the second group (adult) before the implant was inserted. As a result four out of six rabbits ovulated. In both groups, ovulations could not be induced during treatment with the implant. No side-effects were detected during treatment with the implant. The suppression of ovarian function by the implant was reversible in all animals. In the seven

rabbits treated before onset of puberty, induction of ovulation in two consecutive treatments with buserelin was possible with a maximum of three treatments. In postpuberal animals up to six injections with Buserelin were necessary to achieve induction of ovulation in two consecutive cycles.

Ovarian function could be suppressed over a period of nine months in all rabbits treated with a 4.7mg Deslorelin implant. This treatment could be a valuable alternative to surgical castration. More studies are needed to investigate the maximum time an implant is effective and the incidence of hormonal related diseases of the genital tract and the mammary gland after long term treatment with the implant.

## 8. Literaturverzeichnis

- Ackermann, C. L., Volpato, R., Destro, F. C., Trevisol, E., Sousa, N. R., Guaitolini, C. R. F., et al. (2012).**  
Ovarian activity reversibility after the use of deslorelin acetate as a short-term contraceptive in domestic queens. *Theriogenology*, 78(4), 817-22.
- Alkis, I., Cetin, Y., Sendag, S., Wehrend, A. (2011).**  
Long Term Suppression of Oestrus and Prevention of Pregnancy by Deslorelin Implant in Rats. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 55, 237-40.
- Alkis, I., Sendag, S., Cetin, Y., Akyol, V., Ragbetli, C., Wehrend, A., et al. (2011).**  
Long-term effects of deslorelin on ovarian preantral follicle number in female rats: preliminary stereological observations. Paper presented at the 44. Jahrestagung "Physiologie u. Pathologie der Fortpflanzung", gleichzeitig 36. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Hannover.
- Arlt, S., Spankowski, S., Kaufmann, T., Kostelnik, K., Heuwieser, W. (2010).**  
Fertility Control in a Male Rabbit Using a Deslorelin Implant. A Case Report. *World Rabbit Science*, 18(3), 179-82.
- Baba, N., von Haam, E. (1972).**  
Animal model: spontaneous adenocarcinoma in aged rabbits. *American Journal of Pathology*, 68(3), 653-56.
- Baba, Y., Matsuo, H., Schally, A. V. (1971).**  
Structure of Porcine LH-Releasing and FSH-Releasing Hormone. 2. Confirmation of Proposed Structure by Conventional Sequential Analyses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 44(2).
- Bakker, J., Baum, M. J. (2000).**  
Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 21(3), 220-62.
- Baldwin, D. M., Stabenfeldt, G. H. (1974).**  
Plasma-Levels of Progesterone, Cortisol, and Corticosterone in the Pregnant Rabbit. *Biology of Reproduction*, 10(5), 495-501.
- Barberini, F., Correr, S., De Santis, F., Motta, P. M. (1991).**  
The epithelium of the rabbit vagina: a microtopographical study by light, transmission and scanning electron microscopy. *Arch Histol Cytol*, 54(4), 365-78.
- Batra, S., Owman, C., Sjoberg, N. O., Thorbert, G. (1979).**  
Relationship between Plasma and Uterine Estradiol in Pseudopregnant Rabbits. *Journal of Reproduction and Fertility*, 56(1), 1-5.

- Belchetz, P. E., Plant, T. M., Nakai, Y., Keogh, E. J., Knobil, E. (1978).**  
Hypophyseal Responses to Continuous and Intermittent Delivery of Hypothalamic Gonadotropin-Releasing Hormone. *Science*, 202(4368), 631-33.
- Bergfeld, E. G., D'Occhio, M. J., Kinder, J. E. (1996).**  
Continued desensitization of the pituitary gland in young bulls after treatment with the luteinizing hormone-releasing hormone agonist deslorelin. *Biology of Reproduction*, 54(4), 769-75.
- Bertschinger, H. J., Jago, M., Nothling, J. O., Human, A. (2006).**  
Repeated use of the GnRH analogue deslorelin to down-regulate reproduction in male cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Theriogenology*, 66(6-7), 1762-67.
- Bertschinger, H. J., Trigg, T. E., Jochle, W., Human, A. (2002).**  
Induction of contraception in some African wild carnivores by downregulation of LH and FSH secretion using the GnRH analogue deslorelin. *Reproduction (Cambridge, England) Supplement*, 60, 41-52.
- Beyer, C., Hoffman, K. L., González-Flores, O. (2007).**  
Neuroendocrine regulation of estrous behavior in the rabbit: Similarities and differences with the rat. *Hormones and Behavior*, 52, 2-11.
- Bishop, C. R. (2002).**  
Reproductive medicine of rabbits and rodents. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 5(3), 507-35.
- Bourguignon, J. P., Van Vliet, G., Vandeweghe, M., Malvaux, P., Vanderschueren-Lodeweyckx, M., Craen, M., et al. (1987).**  
Treatment of central precocious puberty with an intranasal analogue of GnRH (Buserelin). *Eur J Pediatr*, 146(6), 555-60.
- Brodbelt, D. C., Blissitt, K. J., Hammond, R. A., Neath, P. J., Young, L. E., Pfeiffer, D. U., et al. (2008).**  
The risk of death: the Confidential Enquiry into Perioperative Small Animal Fatalities. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 35(5), 365-73.
- Browning, J. Y., Amis, M. M., Meller, P. A., Bridson, W. E., Wolf, R. C. (1982).**  
Luteotropic and Anti-Luteolytic Activities of the Rabbit Conceptus. *Biology of Reproduction*, 27(3), 665-72.
- Browning, J. Y., Keyes, P. L., Wolf, R. C. (1980).**  
Comparison of Serum Progesterone, 20-alpha-Dihydroprogesterone, and Estradiol-17-Beta in Pregnant and Pseudopregnant Rabbits - Evidence for Post-Implantation Recognition of Pregnancy *Biology of Reproduction*, 23(5), 1014-19.
- Browning, J. Y., Wolf, R. C. (1981).**  
Maternal Recognition of Pregnancy in the Rabbit - Effect of Conceptus Removal. *Biology of Reproduction*, 24(2), 293-97.



- Brugger, N., Otzdorff, C., Walter, B., Hoffmann, B., Braun, J. (2011).**  
Quantitative determination of progesterone (P4) in canine blood serum using an enzyme-linked fluorescence assay. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(5), 870-3.
- Caillol, M., Dauphin-Villemant, C., Martinet, L. (1983).**  
Oestrous behaviour and circulating progesterone and oestrogen levels during pseudopregnancy in the domestic rabbit.
- Cetin, Y., Alkis, I., Sendag, S., Ragbetli, M., Akyol, V., Ucar, O., et al. (2013).**  
Long-Term Effect of Deslorelin Implant on Ovarian Pre-Antral Follicles and Uterine Histology in Female Rats. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(2), 195-99.
- Chrisp, P., Goa, K. L. (1990).**  
Nafarelin: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Clinical Potential in Sex Hormone-Related Conditions. *Drugs*, 39(4), 523-51.
- D'Souza, S. S., Selmin, F., Murty, S. B., Qui, W., Thanoo, B., DeLuca, P. P. (2004).**  
Assessment of Fertility in Male Rats After Extended Chemical Castration with a GnRH Antagonist. *AAPS PharmSci*.
- D'Occhio, M. J., Aspden, W. J. (1996).**  
Characteristics of luteinizing hormone (LH) and testosterone secretion, pituitary responses to LH-releasing hormone (LHRH), and reproductive function in young bulls receiving the LHRH agonist deslorelin: effect of castration on LH responses to LHRH. *Biology of Reproduction*, 54(1), 45-52.
- D'Occhio, M. J., Aspden, W. J., Whyte, T. R. (1996).**  
Controlled, reversible suppression of oestrus cycles in beef heifers and cows using agonists of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Animal Science*, 74(1), 218-25.
- D'Occhio, M. J., Gifford, D. R., Earl, C. R., Weatherly, T., von Rechenberg, W. (1989).**  
Pituitary and ovarian responses of post-partum acyclic beef cows to continuous long-term GnRH and GnRH agonist treatment. *Journal of Reproduction and Fertility*, 85(2), 495-502.
- D'Occhio, M. J., Kinder, J. E. (1995).**  
Failure of the LH-releasing hormone agonist, deslorelin, to prevent development of a persistent follicle in heifers synchronized with norgestomet. *Theriogenology*, 44(6), 849-57.
- Dahm-Kähler, P., Löfman, C., Fujii, R., Axelsson, M., Janson, P. O., Brännström, M. (2006).**  
An intravital microscopy method permitting continuous long-term observations of ovulation in vivo in the rabbit. *Human Reproduction*, 21(3), 624-31.
- Davies, J., Hoffman, L. H. (1973).**  
Studies on the progestational endometrium of the rabbit. I. Light microscopy, day 0 to day 13 of gonadotrophin-induced pseudopregnancy. *Am J Anat*, 137(4), 423-45.

- Donovan, C. E., Gordon, J. M., Kutzler, M. A. (2014).**  
Gonadotropin-releasing hormone immunization for the treatment of urethral sphincter mechanism incompetence in ovariectomized bitches. *Theriogenology*, 81(2), 196-202.
- Easson, W. (2001).**  
A review of rabbit and rodent reproduction medicine. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*.
- Einarsson, S., Andersson, K., Wallgren, M., Lundström, K., Rodriguez-Martinez, H. (2009).**  
Short- and long-term effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac™, on sexual maturity, reproductive organs and sperm morphology in male pigs. *Theriogenology*, 71, 302-10.
- Fischer, B., Winterhager, E., Busch, L. C. (1986).**  
Transformation of endometrium and fertility in late stages of pseudopregnancy in the rabbit. *Journal of Reproduction and Fertility*.
- Fuchs, A. R., Beling, C. (1974).**  
Evidence for Early Ovarian Recognition of Blastocysts in Rabbits. *Endocrinology*, 95(4), 1054-58.
- Ghoneim, I. M., Waheed, M. M., Al-Eknaah, M. M., El-Bahr, S. M. (2012).**  
Immunization against GnRH in the male camel (*Camelus dromedarius*): Effects on sexual behavior, testicular volume, semen characteristics and serum testosterone concentrations. *Theriogenology*, 78(5), 1102-09.
- Göbel, T., Ewringmann, A. (2005).**  
*Heimtierkrankheiten*.
- Goericke-Pesch, S., Georgiev, P., Antonov, A., Vodenicharov, A., Navarro, C., Wehrend, A. (2014).**  
Reversibility of germinative and endocrine testicular function after long-term contraception with a GnRH-agonist implant in the tom—a follow-up study. *Theriogenology*, 81(7), 941-46.
- Goericke-Pesch, S., Georgiev, P., Atanasov, A., Wehrend, A. (2012).**  
Treatment with Suprelorin in a pregnant cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(4), 357-60.
- Goericke-Pesch, S., Spang, A., Schulz, M., Ozalp, G., Bergmann, M., Ludwig, C., et al. (2009).**  
Recrudescence of Spermatogenesis in the Dog Following Downregulation Using a Slow Release GnRH Agonist Implant. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 302-08.
- Goericke-Pesch, S., Wehrend, A. (2012).**  
The use of a slow release GnRH-agonist implant in female ferrets in season for oestrus suppression. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, 154(11), 487-91.

- Goericke-Pesch, S., Wilhelm, E., Ludwig, C., Desmoulins, P. O., Driancourt, M. A., Hoffmann, B. (2010).**  
 Evaluation of the clinical efficacy of Gonazon implants in the treatment of reproductive pathologies, behavioral problems, and suppression of reproductive function in the male dog. *Theriogenology*, 73(7), 920-26.
- Greene, H. S. N., Newton, B. L. (1947).**  
 Evolution of cancer of the uterine fundus in the rabbit. *Cancer*, 82-99.
- Greene, H. S. N., Newton, B. L., Fisk, A. A. (1947).**  
 Carcinoma of the Vaginal Wall in the Rabbit. *Cancer Research*, 7, 502-10.
- Greene, H. S. N., Saxton, J. A. (1938).**  
 Uterine Adenomata in the Rabbit. *The Journal of Experimental Medicine*, 67.
- Greene, H. S. N., Strauss, J. S. (1949).**  
 Multiple Primary Tumors in the Rabbit. *Cancer*, 673-91.
- Grosset, C., Peters, S., Peron, F., Figuéra, J., Navarro, C. (2012).**  
 Contraceptive effect and potential side-effects of deslorelin acetate implants in rats (*Rattus norvegicus*): Preliminary observations. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 76, 209-14.
- Harcourt-Brown, F. (2002).**  
 Textbook of Rabbit Medicine.
- Harcourt-Brown, F., Chitty, J. (2013).**  
 BSAVA Manual of Rabbit Surgery, Dentistry and Imaging (Vol. 1): Wiley&Sons.
- Harper, M. J. K. (1963).**  
 Ovulation in Rabbit - Time of Follicular Rupture and Expulsion of Eggs, in Relation to Injection of Luteinizing Hormone. *Journal of Endocrinology*, 26(3), 307-&.
- Harrington, F. E., Rothermel, J. D. (1977).**  
 Daily Changes in Peripheral Plasma Progesterone Concentrations in Pregnant and Pseudopregnant Rabbits. *Life Sciences*, 20(8), 1333-40.
- Hein, J., Hartmann, K. (2003).**  
 Labordiagnostische Referenzbereiche beim Kaninchen. *Tieraerztliche Praxis Kleintiere*(5), 321-28.
- Hemberg, E., Lundeheim, N., Einarsson, S. (2006).**  
 Successful Timing of Ovulation Using Deslorelin (OvuplantR) is Labour-saving in Mares Aimed for Single AI with Frozen Semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 41, 535-37.
- Herbert, C. A., Trigg, T. E. (2005).**  
 Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal Reproduction Science*, 88(1-2), 141-53.

- Herbert, C. A., Trigg, T. E., Renfree, M. B., Shaw, G., Eckery, D. C., Cooper, D. W. (2004).**  
Effects of a gonadotropin-releasing hormone agonist implant on reproduction in a male marsupial, *Macropus eugenii*. *Biology of Reproduction*, 70(6), 1836-42.
- Herbert, C. A., Trigg, T. E., Renfree, M. B., Shaw, G., Eckery, D. C., Cooper, D. W. (2005).**  
Long-term effects of deslorelin implants on reproduction in the female tammar wallaby (*Macropus eugenii*). *Reproduction*, 129(3), 361-69.
- Herbst, K. L. (2003).**  
Gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Current Opinion in Pharmacology*, 660-66.
- Hilliard, J., Archibald, D., Sawyer, C. H. (1963).**  
Gonadotropic Activation of Preovulatory Synthesis and Release of Progesterone in the Rabbit. *Endocrinology*, 72, 59-66.
- Hilliard, J., Scaramuzzi, R. J., Penardi, R., Sawyer, C. H. (1973).**  
Progesterone, Estradiol and Testosterone Levels in Ovarian Venous-Blood of Pregnant Rabbits. *Endocrinology*, 93(5), 1235-38.
- Hilliard, J., Spieß, H. G., Sawyer, C. H. (1968).**  
Cholesterol Storage and Progesterone Secretion During Pregnancy and Pseudopregnancy in the Rabbit. *Endocrinology*, 82(1), 157-65.
- Hulot, F., Mariana, J. C., Lebas, F. (1982).**  
Establishment of puberty in the doe rabbit, folliculogenesis and ovulation. Effect of rationing the diet. *Reproduction Nutrition Development*, 22(3), 439-53.
- Hutt, K. J., McLaughlin, E. A., Holland, M. K. (2006).**  
Primordial follicle activation and follicular development in the juvenile rabbit ovary. *Cell Tissue Research*, 326, 809-22.
- Inaba, T., Umehara, T., Mori, J., Torii, R., Tamada, H., Sawada, T. (1996).**  
Reversible suppression of pituitary-testicular function by a sustained-release formulation of a GnRH agonist (Leuprolide acetate) in dogs. *Theriogenology*, 46(4), 671-77.
- Ingalls, T. H., Adams, W. M., Lurie, M. B., Ipsen, J. (1964).**  
Natural History of Adenocarcinoma of the Uterus in the Phipps Rabbit Colony. *Journal of the National Cancer Institute (JNCI)*, 33, 799-806.
- Jimenez-Severiano, H., Mussard, M. L., Fitzpatrick, L. A., D'Occhio, M. J., Ford, J. J., Lunstra, D. D., et al. (2005).**  
Testicular development of Zebu bulls after chronic treatment with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Journal of Animal Science*, 83(9), 2111-22.

- Junaidi, A., Williamson, P. E., Cummins, J. M., Martin, G. B., Blackberry, M. A., Trigg, T. E. (2003).**  
Use of a new drug delivery formulation of the gonadotrophin-releasing hormone analogue Deslorelin for reversible long-term contraception in male dogs. *Reproduction, Fertility and Development*, 15(6), 317-22.
- Junaidi, A., Williamson, P. E., Martin, G. B., Blackberry, M. A., Cummins, J. M., Trigg, T. E. (2009a).**  
Dose-Response Studies for Pituitary and Testicular Function in Male Dogs Treated with the GnRH Superagonist, Deslorelin. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(5), 725-34.
- Junaidi, A., Williamson, P. E., Trigg, T. E., Cummins, J. M., Martin, G. B. (2009b).**  
Morphological Study of the Effects of the GnRH Superagonist Deslorelin on the Canine Testis and Prostate Gland. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(5), 757-63.
- Kamwanja, L. A., Hauser, E. R. (1983).**  
The influence of photoperiod on the onset of puberty in the female rabbit. *Journal of Animal Science*, 56(6), 1370-5.
- Karsch, F. J., Bowen, J. M., Caraty, A., Evans, N. P., Moenter, S. M. (1997).**  
Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biology of Reproduction*, 56(2), 303-09.
- Karten, M. J., Rivier, J. E. (1986).**  
Gonadotropin-Releasing Hormone Analog Design. Structure-Function Studies Toward the Development of Agonists and Antagonists: Rationale and Perspective. *Endocrine Reviews*, 7(1), 44-66.
- Kauffold, J., Rohrmann, H., Boehm, J., Wehrend, A. (2010a).**  
Effects of long-term treatment with the GnRH agonist deslorelin (Suprelorin (R)) on sexual function in boars. *Theriogenology*, 74(5), 733-40.
- Kauffold, J., Rohrmann, H., Boehm, J., Wehrend, A. (2010b).**  
Effects of long-term treatment with the GnRH agonist deslorelin (Suprelorin) on sexual function in boars. *Theriogenology*, 74(5), 733-40.
- Kneidinger, N., Knotek, Z., Möstl, E. (2010).**  
Suppression of Reproductive Activity in Green Iguana Females (*Iguana iguana*) caused by Deslorelin Implants. Paper presented at the 7th EVSSAR Congress
- Künzel, F. (2012).**  
GnRH-Agonisten als Implantat zur Fertilitätskontrolle - eine Alternative zur Kastration bei Frettchen. *veterinär Spiegel*, 115-18.
- Lacoste, D., Dube, D., Trudel, C., Belanger, A., Labrie, F. (1989).**  
Normal gonadal functions and fertility after 23 months of treatment of prepubertal male and female dogs with the GnRH agonist [D-Trp6, des-Gly-NH2(10)]GnRH ethylamide. *Journal of Andrology*, 10(6), 456-65.

- Lee, C., Keyes, P. L., Jacobson, H. I. (1971).**  
Estrogen Receptor in Rabbit Corpus Luteum. *Science*, 173(4001).
- Levy, J. K., Friary, J. A., Miller, L. A., Tucker, S. J., Fagerstone, K. A. (2011).**  
Long-term fertility control in female cats with GonaCon<sup>TM</sup>, a GnRH immunocontraceptive. *Theriogenology*, 76, 1517-25.
- Lin, W. W., Ramirez, V. D. (1991).**  
Effect of Mating Behavior on Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Release in Female Rabbits as Monitored with Push-Pull Cannulae. *Neuroendocrinology*, 53(3).
- Lombardi, P., Florio, S., Pagnini, U., Crispino, A., Avallone, L. (1999).**  
Ovarian function suppression with a GnRH analogue: D-ser(But(t) (6)-Arzgly (10)-LHRH (Goserelin) in hormone dependent canine mammary cancer. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 22, 56-61.
- Loumaye, E., Catt, K. J. (1982).**  
Homologous Regulation of Gonadotropin-Releasing Hormone Receptors in Cultured Pituitary Cells. *Science*, 215(4535), 983-85.
- Ludwig, C., Desmoulins, P. O., Driancourt, M. A., Goericke-Pesch, S., Hoffmann, B. (2009).**  
Reversible downregulation of endocrine and germinative testicular function (hormonal castration) in the dog with the GnRH-Agonist Azagly-Nafarelin as a removable implant "Gonazon"; a preclinical trial. *Theriogenology*, 71(7), 1037-45.
- Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. M. G., Arimura, A., Schally, A. V. (1971).**  
Structure of Porcine LH- and FSH-Releasing Hormone. 1. Proposed Amino Acid Sequence *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 43(6), 1334-&.
- McRae, G. I., Roberts, B. B., Worden, A. C., Bajka, A., Vickery, B. H. (1985).**  
Long-term reversible suppression of oestrus in bitches with nafarelin acetate, a potent LHRH agonist. *Journal of Reproduction and Fertility*, 74, 389-97.
- Mikhail, G., Noall, M. W., Allen, W. M. (1961).**  
Progesterone Levels in the Rabbit Ovarian Blood Throughout Pregnancy. *Endocrinology*, 69(3), 504-09.
- Millar, R. P., Lu, Z. L., Pawson, A. J., Flanagan, C. A., Morgan, K., Maudsley, S. R. (2004).**  
Gonadotropin-releasing hormone receptors. *Endocrine Reviews*, 25(2), 235-75.
- Miller, J. B., Keyes, P. L. (1975).**  
Progesterone Synthesis in Developing Rabbit Corpora Lutea in the Absence of Follicular Estrogens. *Endocrinology*, 97(1), 83-90.
- Miller, J. B., Keyes, P. L. (1978).**  
Transition of the rabbit corpus luteum to estrogen dependence during early luteal development. *Endocrinology*, 102(1), 31-38.

- Miyamoto, K., Hasegawa, Y., Minegishi, T., Noruma, M., Takahashi, Y., Igarashi, M. (1982).**  
Isolation and characterization of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107(3), 820-27.
- Motta, P. M., Andrews, P. M. (1976).**  
Scanning electron microscopy of the endometrium during the secretory phase. *J Anat*, 122(Pt 2), 315-22.
- Munson, L., Bauman, J. E., Asa, C. S., Jochle, W., Trigg, T. E. (2001).**  
Efficacy of the GnRH analogue deslorelin for suppression of oestrous cycles in cats. In Concannon, P. W., England, G. C. W., Farstad, W., LindeForsberg, C., Verstegen, J. P. & Doberska, C. (Eds.), *Advances in Reproduction in Dogs, Cats and Exotic Carnivores* (pp. 269-73).
- Naftalin, D. M., Bove, S. E., Landis Keyes, P., Townson, D. H. (1997).**  
Estrogen Withdrawal Induces Macrophage Invasion in the Rabbit Corpus Luteum. *Biology of Reproduction*, 56, 1175-80.
- Naor, Z. (2009).**  
Signaling by G-protein-coupled receptor (GPCR): Studies on the GnRH receptor. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30, 10-29.
- Nemetz, L. (2012).**  
Deslorelin Acetate Long-term Suppression of Ovarian Carcinoma in a Cockatiel (*Nymphicus hollandicus*). Paper presented at the Making Strides in Avian and Exotic Medicine, Louisville.
- Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. (2004).**  
*Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.*
- Nillius, S. J., Bergquist, C., Wide, L. (1978).**  
Inhibition of ovulation in women by chronic treatment with a stimulatory lhrh analogue — A new approach to birth control? *Contraception*, 17(6), 537-45.
- Noonan, B., Johnson, P., de Matos, R. (2012).**  
Evaluation of Egg-laying Suppression Effects of the GnRH Agonist Deslorelin in Domestic Chickens. Paper presented at the Making Strides in Avian and Exotic Medicine, Louisville.
- Novotny, R., Cizek, P., Vitasek, R., Bartoskova, A., Prinosilova, P., Janosovska, M. (2012).**  
Reversible suppression of sexual activity in tomcats with deslorelin implant. *Theriogenology*, 78(4), 848-57.
- Olsen, M. E., Bruce, J. (1986).**  
Ovariectomy, Ovariohysterectomy and Orchidectomy in Rodents and Rabbits. *The Canadian Veterinary Journal*, 27(12).

- Özalp, G. R., Seyrek-İntaş, K., Çalışkan, Ç., Wehrend, A. (2008).**  
Mid-gestation pregnancy termination in rabbits by the progesterone antagonist aglepristone. *Theriogenology*, 69(9), 1056-60.
- Padula, A. M. (2005).**  
GnRH analogues—agonists and antagonists. *Animal Reproduction Science*, 88(1–2), 115-26.
- Petritz, O. A., Guzman, D. S.-M., Paul-Murphy, J., Fecteau, K., Kass, P. H., Hawkins, M. G. (2011).**  
Effects of Deslorelin Acetate on Egg Production and Plasma Sex Hormones in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). Paper presented at the AAZV Conference.
- Pisu, M. C., Veronesi, M. C. (2013).**  
Effectiveness of deslorelin acetate subcutaneous implantation in a domestic queen with after-spaying urinary incontinence. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15.
- Polisca, A., Orlandi, R., Troisi, A., Brecchia, G., Zerani, M., Boiti, C., et al. (2013).**  
Clinical Efficacy of the GnRH Agonist (Deslorelin) in Dogs Affected by Benign Prostatic Hyperplasia and Evaluation of Prostatic Blood Flow by Doppler Ultrasound. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(4), 673-80.
- Powell, J. F. F., Zohar, Y., Elizur, A., Park, M., Fischer, W. H., Craig, A. G., et al. (1994).**  
Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from brains of one species. *Neurobiology*, 91, 12081-85.
- Powers, J. G., Baker, D. L., Ackerman, M. G., Bruemmer, J. E., Spraker, T. R., Conner, M. M., et al. (2012).**  
Passive transfer of maternal GnRH antibodies does not affect reproductive development in elk (*Cervus elaphus nelsoni*) calves. *Theriogenology*, 78(4), 830-41.
- Prohaczik, A., Kulcsar, M., Huszenicza, G. (2009).**  
Deslorelin treatment of hyperoestrogenism in neutered ferrets (*Mustela putorius furo*): a case report. *Veterinari Medicina*, 89-95.
- Prohaczik, A., Kulcsar, M., Trigg, T., Driancourt, M. A., Huszenicza, G. (2010).**  
Comparison of four treatments to suppress ovarian activity in ferrets (*Mustela putorius furo*). *Veterinary Record*, 166(3), 74-78.
- Quesenberry, K. E., Carpenter, J. W. (2004).**  
*Ferrets, Rabbits and Rodents Clinical Medicine and Surgery*.
- Quesenberry, K. E., Carpenter, J. W. (2012).**  
*Ferrets, Rabbits and Rodents Clinical Medicine and Surgery* (3 ed.).
- Rabin, D., McNeil, L. W. (1980).**  
Pituitary and Gonadal Desensitization after Continuous Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Infusion in Normal Females. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 51(4), 873-76.



- Ramakrishnappa, N., Rajamahendran, R., Yung-Ming, L., Leung, P. C. K. (2005).**  
GnRH in non-hypothalamic reproductive tissues. *Animal Reproduction Science*, 88, 95-113.
- Raz, T., Carley, S., Card, C. (2009).**  
Comparison of the effects of eFSH and deslorelin treatment regimes on ovarian stimulation and embryo production of donor mares in early veneral transition. *Theriogenology*, 71(9), 1358-66.
- Rebollar, P. G., Dal Bosco, A., Millan, P., Cardinali, R., Brecchia, G., Sylla, L., et al. (2012).**  
Ovulating induction methods in rabbit does: The pituitary and ovarian responses. *Theriogenology*, 77(2), 292-98.
- Reichler, I. M., Hubler, M., Jöchle, W., Trigg, T. E., Piché, C. A., Arnold, S. (2003).**  
The effect of GnRH analogs on urinary incontinence after ablation of the ovaries in dogs. *Theriogenology*, 60(7), 1207-16.
- Richardson, L. L., Oliphant, G. (1981).**  
Steroid Concentrations in Rabbit Oviducal Fluid During Estrus and Pseudopregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*, 62(2), 427-31.
- Riggs, G., Cook, K. (2007).**  
Use of GnRH Agonists in Exotic Practice. *Metropolitan Veterinary Referral Group*, 1.
- Risso, A., Corrada, Y., Barbeito, C., Diaz, J. D., Gobello, C. (2012).**  
Long-Term-Release GnRH Agonists Postpone Puberty in Domestic Cats. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(6), 936-38.
- Robson, J. M. (1937).**  
Maintenance by oestrin of the luteal function in hypophysectomized cats. *Journal of Physiology*, 90(4), 435-39.
- Romero, G. G., Fernandez, P. E., Gimeno, E., Barbeito, C., Gobello, C. (2012).**  
Effects of the GnRH antagonist acyline on the testis of the domestic cat (*Felis catus*). *Veterinary Journal*, 193(1), 279-82.
- Roth, C., Leonhardt, S., Seidel, C., Luft, H., Wuttke, W., Jarry, H. (2000).**  
Comparative Analysis of Different Puberty Inhibiting Mechanisms of Two GnRH Agonists and the GnRH Antagonist Cetrorelix Using a Female Rat Model. *Pediatric Research*, 48(4), 468-74.
- Rowland, M. N. (2011).**  
Use of a deslorelin implant to control aggression in a male bearded dragon (*Pogona vitticeps*). *Veterinary Record*, 169(5), 127A.
- Rubin, H. B., Azrin, N. H. (1967).**  
Temporal patterns of sexual behavior in rabbits as determined by an automatic recording technique. *Journal of the experimental analysis of behavior*, 10(2), 219-31.

- Rubion, S., Desmoulins, P. O., Rivière-Godet, E., Kinziger, M., Salavert, F., Rutten, F., et al. (2006).**  
Treatment with a subcutaneous GnRH agonist containing controlled release device reversibly prevents puberty in bitches. *Theriogenology*, 66(6–7), 1651-54.
- Rubion, S., Driancourt, M. A. (2009).**  
Controlled Delivery of a GnRH Agonist by a Silastic Implant (Gonazon) Results in Long-Term Contraception in Queens. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 79-82.
- Saito, K., Nakanishi, M., Hasegawa, A. (2002).**  
Uterine Disorders Diagnosed by Ventrotomy in 47 Rabbits. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64, 495-97.
- Schally, A. V., Arimura, A., Kastin, A. J., Matsuo, Y. B., Redding, T. W., Nair, R. M. G., et al. (1971).**  
Gonadotropin-Releasing Hormone: One Polypeptide Regulates Secretion of Luteinizing and Follicle-Stimulating Hormones. *Science*, 173.
- Schally, A. V., Baba, Y., Arimura, A., Redding, T. W. (1971).**  
Evidence for Peptide Nature of LH and FSH-Releasing Hormones. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 42(1), 1971.
- Schneider, F., Falkenberg, H., Kuhn, G., Nurnberg, K., Rehfeldt, C., Kanitz, W. (1998).**  
Effects of treating young boars with a GnRH depot formulation on endocrine functions, testis size, boar taint, carcass composition and muscular structure. *Animal Reproduction Science*, 50(1-2), 69-80.
- Schneider, J. S., Rissman, E. F. (2008).**  
Gonadotropin-releasing hormone II: a multi-purpose neuropeptide. *Integr Comp Biol*, 48(5), 588-95.
- Schoemaker, N. J., Kuijten, A. M., Galac, S. (2008).**  
Luteinizing hormone-dependent Cushing's syndrome in a pet ferret (*Mustela putorius furo*). *Domestic Animal Endocrinology*, 34(3), 278-83.
- Schoemaker, N. J., Teerds, K. J., Mol, J. A., Lumeij, J. T., Thijssen, J. H. H., Rijnberk, A. (2002).**  
The role of luteinizing hormone in the pathogenesis of hyperadrenocorticism in neutered ferrets. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197(1–2), 117-25.
- Schoemaker, N. J., van Deijk, R., Muijlaert, B., Kik, M. J. L., Kuijten, A. M., de Jong, F. H., et al. (2008).**  
Use of a gonadotropin releasing hormone agonist implant as an alternative for surgical castration in male ferrets (*Mustela putorius furo*). *Theriogenology*, 70(2), 161-67.
- Schriock, E. D. M. (1989).**  
GnRH Agonists. *Clinical Obstetrics & Gynecology*, 32, 550-63.

**Schuetzenhofer, G. (2011).**

Einsatz von Deslorelin beim männlichen Kaninchen sowie Versuche zur Quetschung des Samenstranges zur Ausschaltung der Hodenfunktion. Justus-Liebig-Universität Gießen.

**Schulman, M. L., Botha, A. E., Muenscher, S. B., Annandale, C. H., Guthrie, A. J., Bertschinger, H. J. (2013).**

Reversibility of the effects of GnRH-vaccination used to suppress reproductive function in mares. *Equine Veterinary Journal*, 45(1), 111-13.

**Schützenhofer, G., Goericke-Pesch, S., Wehrend, A. (2011).**

Effects of deslorelin implants on ovarian cysts in guinea pigs. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, 153(9), 416-17.

**Senger, P. L. (2005).**

Pathways to Pregnancy and Parturition (Vol. 2).

**Sirivaidyapong, S., Mehl, N. S., Trigg, T. E. (2012).**

Delay of Puberty and Reproductive Performance in Male Dogs Following the Implantation of 4.7 and 9.4 mg GnRH-Agonist Deslorelin at an Early Pre-pubertal Age. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 400-02.

**Sower, S. A., Chiang, Y. C., Lovas, S., Conlon, J. M. (1993).**

Primary structure and biological activity of a third gonadotropin-releasing hormone from lamprey brain. *Endocrinology*, 132(3), 1125-31.

**Stich, K. L., Wendt, K. M., Blanchard, T. L., Brinsko, S. P. (2004).**

Effects of a new injectable short-term release deslorelin in foal-heat mares. *Theriogenology*, 62(5), 831-36.

**Surve, A. H., Bacso, I., Brinckerhoff, J. H., Kirsch, S. J. (1976).**

Plasma-Levels of Progesterone in Pseudopregnant Rabbits Actively Immunized with a Progesterone-Protein Conjugate. *Biology of Reproduction*, 15(3), 343-49.

**Thau, R. B., Lanman, J. T. (1975).**

Metabolic-Clearance Rates (MCR) and Production-Rates (PR) of Plasma Progesterone in Pregnant and Pseudopregnant Rabbits. *Endocrinology*, 97(2), 454-57.

**Thau, R. B., Limonta, P., Schmidt, F., Sundaram, K. (1985).**

Species differences in the sensitivity to GnRH Analogs. *Journal of Steroid Biochemistry*, 23.

**Toydemir, T. S. F., Kılıçarslan, M. R., Olgaç, V. (2012).**

Effects of the GnRH analogue deslorelin implant on reproduction in female domestic cats. *Theriogenology*, 77(3), 662-74.

**Trigg, T. E., Wright, P. J., Armour, A. F., Williamson, P. E., Junaidi, A., Martin, G. B., et al. (2001).**

Use of a GnRH analogue implant to produce reversible long-term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs. *Advances in Reproduction in Dogs, Cats and Exotic Carnivores*(57), 255-61.

- Uemura, T., Shirasu, K., Sakakibara, H., Kondo, Y., Minaguchi, H. (1990).**  
Regulation of LH-Beta Subunit Messenger-RNA in Immature Female Rats During GnRH Agonist Treatment. *Endocrinologia Japonica*, 37(5), 695-702.
- Uslu, B. A., Sendag, S., Tasal, I., Cetin, Y., Wehrend, A. (2011).**  
Administration of short- acting deslorelin implant (Ovuplant<sup>R</sup>) in seasonally anestrous Colored Mohair goats. Paper presented at the 44. Jahrestagung "Physiologie u. Pathologie der Fortpflanzung", gleichzeitig 36. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Hannover.
- Valiente, C., Corrada, Y., de la Sota, P. E., Blanco, P. G., Arias, D., Gobello, C. (2009).**  
Comparison of Two Doses of the GnRH Antagonist, Acyline, for Pregnancy Termination in Bitches. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 156-59.
- Vinke, C. M., van Deijk, R., Houx, B. B., Schoemaker, N. J. (2008).**  
The effects of surgical and chemical castration on intermale aggression, sexual behaviour and play behaviour in the male ferret (*Mustela putorius furo*). *Applied Animal Behaviour Science*, 115(1-2), 104-21.
- Viudes-de-Castro, M. P., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., Cortell, C., Vicente, J. S. (2007).**  
Ovulation induced by mucosa vaginal absorption of buserelin and triptorelin in rabbit. *Theriogenology*, 68(7), 1031-36.
- Walter, B., Poth, T., Böhmer, E., Braun, J., Matis, U. (2010).**  
Uterine disorders in 59 rabbits. *Veterinary Record*(166), 230-33.
- Xue, J. L., Dial, G. D., Bartsh, S., Kerkaert, B., Squires, E. J., Marsh, W. E., et al. (1994).**  
Influence of a gonadotropin-releasing hormone agonist on circulating concentrations of luteinizing hormone and testosterone and tissue concentrations of compounds associated with boar taint. *Journal of Animal Science*, 72, 1290-98.
- YoungLai, E. V., Thompson, N., Foster, W. (1989).**  
Effects of in-vivo administration of GnRH on the release of gonadotrophins in the female rabbit. *Journal of Reproduction and Fertility*, 85, 325-29.
- Zerani, M., Parillo, F., Brecchia, G., Guelfi, G., Dall'Aglio, C., Lilli, L., et al. (2010).**  
Expression of type I GnRH receptor and in vivo and in vitro GnRH-I effects in corpora lutea of pseudopregnant rabbits. *Journal of Endocrinology*, 207, 289-300.

## 9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. J. Braun und Frau Dr. Beate Walter für die Überlassung des überaus interessanten Themas, ihre fachliche Betreuung und die Durchsicht des Manuskripts recht herzlich danken.

Für die Hilfe bei der praktischen Durchführung des Versuches, der Betreuung und der Pflege der Tiere danke ich allen beteiligten Mitarbeitern der Chirurgischen und Gynäkologischen Kleintierklinik der LMU München. Besonderer Dank gilt in diesem Zusammenhang Frau Elke Fink, Frau Lena Daub und Frau Dr. Christiane Otzdorff.

Herrn PD Dr. Reese danke ich für seine fachliche Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Dank gilt außerdem der Firma Virbac für die Bereitstellung der 4,7 mg Deslorelin-Implantate.

Außerdem danke ich Frau Tremmel für Ihre Mithilfe bei der Vermittlung der Tiere an Ihre neuen Besitzer und allen Personen, die eines oder mehrere der Tiere bei sich aufgenommen haben.

Ein besonderer Dank gilt Bernhard und meiner Familie für deren Verständnis und immerwährende Unterstützung.