

# KEEP COOL?

## STRESSFORSCHUNG BEI EISBÄREN

### – WAS HAARE UND KOT VERRATEN KÖNNEN

Die Autorin, Dr. Anna Hein, ist Tierärztin mit Schwerpunkt Exotenmedizin und hat sich im Zuge ihrer vom Tiergarten Nürnberg betreuten Doktorarbeit mit Methoden der Stresshormonmessung in Haaren und Kot von Eisbären befasst.

In Zeiten von Achtsamkeitsseminaren und Yogakursen wissen wir alle: Dauerstress ist schädlich. Während eine kurzzeitige Ausschüttung von Stresshormonen essentiell für unseren Organismus ist um ihm zum Beispiel schnelle Energie zur Verfügung zu stellen (Flucht- oder Kampf-Reaktion), führt ein chronisch erhöhter Stresshormonspiegel langfristig zu gesundheitlichen Problemen (wie verminderte Fitness und Immunabwehr). Dass dies im Tierreich nicht anders ist, zeigen zahlreiche Studien. Nur, wie wird Stress bei Wild- oder Zootieren objektiv gemessen?



**Forsch** So betritt der Eisbär die Transportkiste. Was der Transport selbst für ihn bedeutet, das untersucht eine Forscherin.

**E**isbären (*Ursus maritimus*) sind Publikumsliebliche in vielen Zoos. Gleichzeitig gerät die Eisbärenhaltung oftmals in Kritik: ist es nicht viel zu warm für die Zoo-Bären? Sind die Gehege nicht viel zu klein? Und: geht es den wildlebenden Artgenossen besser?

Um objektive Aussagen über die Gesundheit und das Wohlergehen eines Individuums treffen zu können, ist die Messung von Stresshormonen besonders geeignet. Das Hauptstresshormon ist dabei bei den meisten Säugern, so auch beim Eisbären, das Steroidhormon Cortisol. Cortisol kann in verschiedenen Medien gemessen werden – jedoch mit unterschiedlicher Aussagekraft beziehungsweise unterschiedlichem Zeitbezug: die gängige Messung von Cortisol in Blut und Speichel zum Beispiel gibt lediglich eine Stressbelastung der letzten Minuten wieder, liefert also eine Momentaufnahme. Um Informationen über einen längeren Zeitraum zu erhalten, müsste man somit mindestens stündlich Blut- oder Speichelproben sammeln, ausgehend vom Durchschnitts-Zoo-Eisbären ein schwieriges bis unmögliches Unterfangen. Auch die häufigen Probenentnahmen an sich würden das Ergebnis beeinflussen. Selbst bei einem trainierten Bären wäre eine derart häufige Beprobung nicht sinnvoll, da sie natürlich keineswegs einen „normalen“ Tagesablauf im Zoo widerspiegeln würde. Für eine wirklich aussagekräftige und längerfristige Beurteilung, müssen also möglichst non-invasive Methoden angewandt werden: die Probenentnahme selbst darf nicht stressauslösend sein und sollte ohne Gefahr für Tier und Mensch durchführbar sein. Außerdem müssen Medien gewählt werden, in denen eine Art Langzeit-Cortisol gemessen werden kann, um mit möglichst wenigen Proben einen längeren Zeitraum zu erfassen.

Im Wild- und Zootierbereich hat sich so vor allem die Cortisolmessung aus Kotproben etabliert – die Probensammlung ist kontaktlos möglich und die ausgeschiedenen Hormonprodukte liefern Informationen über eine Stressbelastung in den letzten Stunden vor Kotabsatz. Auch weitere Materialien wie Haare, Horn, Krallen oder Federn sind inzwischen in den Fokus der Forschung geraten. In ihnen können Stoffwechselproduk-



te wie auch Hormone gemessen werden, die über einen Zeitraum von Wochen bis Monaten eingelagert wurden. So können anhand weniger Proben Aussagen über Langzeitstressbelastungen gemacht werden und können das Wohlergehen und die Gesundheit eines Individuums über lange Zeiträume beurteilt werden. Doch Zootier ist nicht gleich Zootier: Cortisol wird artspezifisch unterschiedlich verstoffwechselt, so dass die Messmethodik für jede Spezies zunächst validiert werden muss.

Vor diesem Hintergrund startete der Tiergarten Nürnberg 2013 gemeinsam mit der Tierärztlichen Hochschule Hannover ein europaweites Projekt zur Messung von Cortisol und anderen Steroidhormonen in Haaren und Kot von Zoo-Eisbären. Dessen Ergebnisse wurden in zwei internationalen Wissenschaftsjournalen veröffentlicht. An der Studie beteiligten sich 18 EAZA-Zoos (aus Deutschland, Österreich, England, Dänemark, Polen und den Niederlanden) mit Haar- und/oder Kotproben von Eisbären unterschiedlichen Alters und Geschlechts.

Um Cortisol in Eisbärkot und -haaren erfolgreich analysieren zu können, gab es etliche Vorversuche. Zunächst wurden verschiedene Arten der Probenvorbereitung sowie unterschiedliche Testverfahren verglichen, sogenannte Immunoassays, das ist eine auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion basierende biochemische Methode zum Nachweis bestimmter Moleküle. Diese Assays wurden vorher erfolgreich bei anderen Zoospezies angewandt. Beachtet wurde, dass durch zahlreiche Stoffwechselvorgänge natürlicherweise kaum natives Cortisol in Kot, sondern die verschiedenen Abbauprodukte dieses Glukokortikoids, nämlich die fäkalen Glukokortikoid-Metaboliten (FGMs) zu finden sind. Diese können stellvertretend gemessen werden.

**Fundort** In einem Eisbärenmaul können viele Dinge verschwinden, manches lässt sich dort aber auch finden. Zum Beispiel Speichel für Hormonmessungen.

MESSUNG VON  
STRESSHORMONEN  
IN BLUT UND SPEI-  
CHEL GIBT LEDIGLICH  
DIE STRESSBELAS-  
TUNG DER LETZTEN  
MINUTEN WIEDER.



Als noch komplexer stellte sich die Hormonanalyse in Eisbärhaar heraus: Es konnten Cortisol und auch andere Hormone schon erfolgreich in verschiedenen Säugerhaaren nachgewiesen und zur Langzeitbeurteilung von Stress- und Gesundheitsstatus werden. Doch Eisbärhaare nehmen in vielerlei Hinsicht eine Sonderstellung ein: so sind sie zum Beispiel hohl und pigmentlos. Das sind beides Eigenschaften, die eine Einlagerung von Cortisol ins Haarinnere erschweren. Auch findet der Einbau von in Blut gelösten Substanzen wie Cortisol nur während der aktiven Wachstumsphase (anagene Phase) eines Haares statt. Ausschlaggebend für die Dauer des Cortisoleinbaus und somit auch entscheidend für die Cortisolmenge im Haar sind demnach die Länge und Geschwindigkeit der Wachstumsphase. Jedoch liegen bisher nur anekdotische Angaben zu Haarwachstum und -zyklus von Eisbären vor. Sicher ist nur, dass Eisbärhaare nicht kontinuierlich wachsen.

Neben der Klärung dieser und weiterer analytischer Fragen war auch eine biologische Validierung der Methodik nötig. Dazu wurden Kot- und Haarproben vor, während und nach Zoo-zu-Zoo-Transporten von Eisbären gesammelt. Es handelte sich dabei um vom Europäischen Erhaltungszuchtprogramm (EEP) empfohlene Transporte zur Erhaltung der genetischen Diversität. Der Transfer an sich und die Neueingewöhnung wurden als potentiell stressauslösende Ereignisse eingestuft, die zu einem Anstieg von Cortisol führen sollten. Und tatsächlich konnte bei allen transportierten Bären ein temporärer Anstieg von Cortisol bzw. FGMs im Kot nachgewiesen und somit die biologische Relevanz der Messung gezeigt werden. Bei allen beprobten Bären fiel der Cortisolspiegel nach der Eingewöhnungsphase wieder auf das Ausgangslevel zurück, was einer gesunden und lebenswichtigen Stressreaktion entspricht.

Anschließend wurden erstmals Cortisol- bzw. FGM-Konzentrationen von Zoo-Eisbären beider Geschlechter über eine Einjahresperiode und unter Einbeziehung verschiedener möglicher Einflussfaktoren erhoben. Um im Rahmen dieser Langzeitanalyse einen genauen zeitlichen Bezug gemessener Haarhormonwerte herstellen zu können, wurden sechs Eisbären so trainiert, dass sie sich alle paar Wochen am seitlichen Hals oder am Vorderfuß rasieren ließen. Somit war die Wachstumsdauer für diese Haarproben bekannt und ermöglichte eine Interpretation der Messwerte. Die Ergebnisse der Langzeitmessungen zeigten, dass vor allem sozialer Stress, also Rangeleien, Vergesellschaftungen aber auch Trennungen und Spiel- oder Paarungsverhalten zu einem zeitweisen Anstieg von FGMs führten. Stress ist also nicht gleich Stress und nicht immer negativ. Ebenso lösten Umweltveränderungen oder andere äußere Faktoren, wie Baustellenlärm oder auch Veränderungen im Gehege (Enrichment, neue Gegenstände), einen temporären Anstieg von FGMs aus. Dabei reagierten die Bären meist sehr unterschiedlich stark auf ähnliche Reize (zum Beispiel Silvesterkracher). Das zeigt, dass eine Erhebung allgemeiner Cortisol-Referenzwerte für Eisbären wenig Sinn macht, vielmehr müssen zur Beurteilung des Wohlergehens der individuelle Verlauf der Cortisol-Ausschüttung über einen längeren Zeitraum beobachtet werden und vor allem die Dauer eines Anstiegs. Auch konnte ein starker Effekt der Entnahmestelle (Hals oder Pfote) auf die Haarhormonkonzentrationen festgestellt werden. Das ist eine wichtige Information für das Studien-Design zukünftiger Forschungsarbeiten.

Abschließend kann gesagt werden, dass die Messung von Cortisol(-metaboliten) und weiteren Hormonen sowohl in Kot und Haaren von Eisbären anhand der untersuchten Analysetechniken möglich ist und die dabei gewonnenen Daten eine objektiv messbare individuelle mittel- bis langfristige Stressbelastung wiedergeben. In Kombination mit weiteren Untersuchungen und Verhaltensbeobachtungen können so wertvolle Informationen zum Wohlergehen und Gesundheitszustand der Bären gewonnen werden. Auch wenn im Laufe des Projektes etliche neue Fragestellungen auftauchten, konnten viele grundlegende methodologische Fragen geklärt werden, die den Weg für weitere Studien ebnet, sowohl im Zoobereich als auch in der Freilandforschung. • Dr. Anna Hein



**Sisyphusarbeit** Tiere verstehen lernen bedeutet viel Arbeit, auch im Zeitalter von Hightech. Insbesondere die Validierung von Methoden ist sehr zeit- und auch kostenintensiv.

## STRESS IST NICHT GLEICH STRESS UND NICHT IMMER NEGATIV

### Wichtigste Quellen

Koren, L., Bryan, H., Matas, D., Tinman, S., Fahlman, Å., Whiteside, D., Smits, J., Wynne-Edwards, K., 2019. Towards the validation of endogenous steroid testing in wildlife hair. *J. Appl. Ecol.* 56, 547-561  
 Palme, R., 2019. Non-invasive measurement of glucocorticoids: advances and problems. *Physiol. Behav.* 199, 229-243  
 Patyk, K.A., Duncan, C., Nol, P., Sonne, C., Laidre, K., Obbard, M., Wiig, Ø., Aars, J., Regehr, E., Gustafson, L.L., 2015. Establishing a definition of polar bear (*Ursus maritimus*) health: a guide to research and management activities. *Sci. Total Environ.* 514, 371-378  
 Sheriff, M.J., Dantzer, B., Delehanty, B., Palme, R., Boonstra, R., 2011. Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia* 166, 869-887

### Veröffentlichungen zur Doktorarbeit

Hein, A., Palme, R., Baumgartner, K., von Fersen, L., Woelfing, B., Greenwood, A.D., Bechshoft, T., Siebert, U., 2020. Faecal glucocorticoid metabolites as a measure of adrenocortical activity in polar bears (*Ursus maritimus*). *Conserv. Physiol.* 8, coaa012; doi:10.1093/conphys/coaa012.  
 Hein, A., Baumgartner, K., von Fersen, L., Bechshoft, T., Woelfing, B., Kirschbaum, C., Mastro Monaco, G., Greenwood, A.D., Siebert, U., 2021. Analysis of hair steroid hormones in polar bears (*Ursus maritimus*) via liquid chromatography-tandem mass spectrometry: comparison with two immunoassays and application for longitudinal monitoring in zoos. *Gen. Comp. Endocrinol.* 310, 113837