

Aus dem
Veterinärwissenschaftlichen Department
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Ellen Kienzle

Angefertigt am LMU Biozentrum, Department Biologie II
(Prof. Dr. J. Matthias Starck)

Einfluss von Training und Guanidinoacetat- Supplementierung auf den Energiestoffwechsel von FBI-Hunden

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

von Carolin Julia Ruoß
aus Dachau

München 2011

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatterin: Univ.-Prof. Dr. Kienzle

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. Erhard

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einleitung.....	8
2 Stand der Forschung	10
2.1 <i>Energiestoffwechsel</i>	10
2.1.1 Energiebedarf	10
2.1.2 Ruhestoffwechsel.....	12
2.1.3 Leistungsstoffwechsel	13
2.1.4 Messung des Energiestoffwechsels	15
2.1.4.1 Bilanz-Versuch.....	15
2.1.4.2 Doubly labelled water-Methode	16
2.1.4.3 Direkte Kalorimetrie.....	17
2.1.4.4 Indirekte Kalorimetrie (Respirometrie)	17
2.1.4.5 Herzfrequenz-Methode	18
2.2 <i>Effekte von Ausdauertraining</i>	19
2.2.1 Effekte von Ausdauertraining auf den Energiestoffwechsel	19
2.2.2 Effekte von Ausdauertraining auf die Herzfrequenz.....	21
2.2.3 Effekte von Ausdauertraining auf echokardiographische Parameter	22
2.2.4 Effekte von Ausdauertraining auf die Muskeldicke	23
2.2.5 Effekte von Ausdauertraining auf die DNA-Schädigung	25
2.2.6 Effekte von Ausdauertraining auf die Aktivität	28
2.3 <i>Effekte von Guanidinoacetat-Supplementierung</i>	29
2.4 <i>Arbeitshypothesen</i>	32
2.4.1 Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch	32
2.4.2 Effekte von Ausdauertraining und deren Reversibilität	32
2.4.3 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat.....	33
3 Tiere, Material und Methoden.....	34
3.1 <i>Tiere</i>	34
3.1.1 Tierhaltung.....	34
3.1.2 Gruppeneinteilung.....	34
3.1.2.1 Kontrollgruppe.....	34
3.1.2.2 Laufbandgruppe	35
3.2 <i>Versuchsaufbau</i>	35
3.2.1 Allgemein	35
3.2.2 Gewöhnungsphase	36
3.2.3 Trainingsphase	37

3.2.3.1	Aerobes Training.....	38
3.2.3.2	Minutenläufe	39
3.2.3.3	1-Minuten Sprints.....	39
3.2.4	Trainingspause.....	40
3.2.5	Supplementierung	40
3.2.6	Messungen	40
3.2.6.1	Sauerstoffverbrauchs- und Herzfrequenzmessungen.....	40
3.2.6.2	Sauerstoffverbrauch.....	41
3.2.6.3	Herzfrequenz	43
3.2.6.4	Sauerstoff- und Herzfrequenzmessungen in Ruhe	43
3.2.6.5	Sauerstoff- und Herzfrequenzmessungen unter Belastung	44
3.2.6.6	Echokardiographie	46
3.2.6.7	Muskelultraschall.....	48
3.2.6.8	Muskelbiopsien	50
3.2.6.9	Comet Assay.....	50
3.2.6.10	Aktivität	52
3.2.6.11	Temperatur	53
3.2.6.12	Blutentnahmen.....	53
3.3	<i>Statistische Analyseverfahren</i>	54
3.3.1	Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch	54
3.3.2	Analyse der Trainings- und Supplementierungseffekte.....	54
4	Ergebnisse	56
4.1	<i>Massenspezifischer Sauerstoffverbrauch</i>	56
4.1.1	Ruhestoffwechsel.....	56
4.1.1.1	Ergebnisse der Laufbandgruppe	56
4.1.1.2	Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe.....	58
4.1.2	Leistungsstoffwechsel	59
4.1.2.1	Schwellentest.....	59
4.1.2.2	Maximaltest.....	61
4.2	<i>Verhältnis von Ruhe- zu Leistungsstoffwechsel (metabolic scope)</i>	63
4.3	<i>Herzfrequenz</i>	64
4.3.1	Ruheherzfrequenz.....	64
4.3.1.1	Ergebnisse der Laufbandgruppe	64
4.3.1.2	Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe.....	66
4.3.2	Herzfrequenz unter Belastungsbedingungen.....	66
4.3.2.1	Effekte von Training und Supplementierung im Schwellentest	66
4.3.2.2	Effekte von Training und Supplementierung im Maximaltest	68
4.4	<i>Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch</i>	71
4.5	<i>Echokardiographie</i>	74
4.5.1	Vermessung des linken Ventrikels und des Septums	74
4.5.1.1	Ergebnisse der Laufbandgruppe	74
4.5.1.2	Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe.....	76

4.5.2	Volumenfluss	79
4.5.2.1	Ergebnisse der Laufbandgruppe	79
4.5.2.2	Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe	81
4.6	<i>Muskelultraschall</i>	84
4.6.1	Ergebnisse der Laufbandgruppe	84
4.6.2	Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe	85
4.7	<i>Muskelbiopsien</i>	88
4.7.1	Kreatin	88
4.7.2	Kreatinphosphat	88
4.7.3	Adenosintriphosphat	88
4.7.4	Gesamt-Kreatin	89
4.7.5	Gesamt-Kreatin-Gehalt/ATP	89
4.8	<i>Comet Assay</i>	90
4.9	<i>Aktivität</i>	92
4.10	<i>Blutwerte</i>	96
4.10.1	Kreatin	97
4.10.2	Kreatinin.....	97
4.10.3	Guanidinoacetat.....	97
4.10.4	Homocystein	97
5	Diskussion	98
5.1	<i>Etablierung einer Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch</i>	98
5.2	<i>Effekte von Ausdauertraining</i>	99
5.2.1	Effekte von Ausdauertraining auf den Energiestoffwechsel	99
5.2.2	Effekte von Ausdauertraining auf die Herzfrequenz.....	102
5.2.3	Effekte von Ausdauertraining auf echokardiographische Parameter	103
5.2.4	Effekte von Ausdauertraining auf die Muskeldicke	105
5.2.5	Effekte von Ausdauertraining auf die DNA-Schädigung	106
5.2.6	Effekte von Ausdauertraining auf die Aktivität	108
5.3	<i>Effekt der Supplementierung mit Guanidinoacetat</i>	108
5.3.1	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf den Energiestoffwechsel	109
5.3.2	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die Herzfrequenz.	111
5.3.3	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf echokardiographische Parameter.....	112
5.3.4	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die Muskeldicke... ..	113
5.3.5	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf den Gehalt an Kreatin, Kreatinphosphat, Gesamt-Kreatin und ATP im Muskel.....	113
5.3.6	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die DNA-Schädigung	115

5.3.7	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die Aktivität....	115
5.3.8	Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf den Gehalt von Kreatin, Kreatinin, Guanidinoacetat und Homocystein im Blut	116
5.4	<i>Überblick</i>	117
6	Zusammenfassung	120
7	Summary	123
8	Literaturverzeichnis	125
9	Anhang	146
9.1	<i>Comet Assay Protokoll</i>	146
9.1.1	Chemikalien und Reagenzien.....	146
9.1.2	Medien, Puffer und Lösungen	146
9.1.3	Methodischer Ablauf des Comet Assays	147
9.1.3.1	Herstellung der für die Präparate verwendeten Agarose beschichteten Objektträger	147
9.1.3.2	Präparation der LMP-Agarose-Aliquote und Lyse nach der Probenentnahme.....	147
9.1.3.3	Alkalidenaturierung und anschließende Elektrophorese	148
9.1.3.4	Anfärbung der DNA und fluoreszenzmikroskopische Auswertung der Präparate	149
9.2	<i>Interaktionen</i>	150
9.2.1	Sauerstoffverbrauch	150
9.2.1.1	In Ruhe	150
9.2.1.2	Unter Belastung (Schwellentest)	150
9.2.2	Herzfrequenz	150
9.2.3	Echokardiographische Parameter	151
9.2.3.1	Vermessung des linken Ventrikels	151
9.2.3.2	Volumenfluss	151
9.2.4	Comet Assay (Blutentnahmezeitpunkt „Min 120“).....	151
9.3	<i>Temperaturverlauf von Innen- und Außentemperatur während der gesamten Studie</i>	152
	Abbildungsverzeichnis	153
	Tabellenverzeichnis	157
	Erklärung	Fehler! Textmarke nicht definiert.
	Danksagung	158
	Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
A.	Arteria (Arterie)
ADP	Adenosindiphosphat
AEE	Aktivitäts-assoziiertes Energieverbrauchen (englisch: activity induced energy expenditure)
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BCS	Evaluierung der Körperzusammensetzung (englisch: body condition scoring)
BEE	basaler Energieverbrauch (englisch: basal energy expenditure)
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMR	Basalstoffwechsel (englisch: basal metabolic rate)
°C	Grad Celsius
Ca ²⁺	Zweiwertiges Calciumion
¹³ C-BT	¹³ C-Bicarbonat-Markierung (englisch: ¹³ C-bicarbonate tracer)
CK	Kreatinkinase
cm	Zentimeter
cm/s	Zentimeter pro Sekunde
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
Cr	Kreatin
D ₂ O	Schweres Wasser (Deuteriumoxid)
DEE	Tagesenergiebedarf (englisch: daily energy expenditure)
DEXA	Dual-Röntgen-Absorptiometrie (englisch: dual energy x-ray absorptiometry)
dl	Deziliter
DLW	Doppelt markiertes Wasser (englisch: doubly labelled water)
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FBI	Foxhound-Boxer-Ingelheim Labrador
Fe ²⁺	Hämoglobin
Fe ³⁺	Methämoglobin
FFM	fettfreie Masse
FM	Fettmasse
GAA	Guanidinoacetat
² H	Deuterium
³ H	Tritium
H ⁺	Wasserstoffion
HCL	Salzsäure
HF	Herzfrequenz
H ₂ O	Wasser

H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
K ⁺	Kaliumionen
LN	Natürlicher Logarithmus
LMP	low melting point
M.	musculus
mA	Milliampère
ME	Metabolisierbare Energie
MEEO	medium-electro-endoosmosis
MER	Erhaltungsenergiebedarf (englisch: maintenance energy requirement)
mg	Milligramm
MHC	schwere Myosin-Kette (englisch: myosin heavy chain)
min	Minute
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
ml	Milliliter
mmol	Millimol
kg	Kilogramm
KM	Körpermasse in kg
km/h	Kilometer pro Stunde
l	Liter
Na ⁺	Natriumionen
nm	Nanometer
¹⁸ O	Stabiles Isotop des Sauerstoffs
O ₂	Sauerstoff
O ₂ ^{•-}	Superoxidradikal
ODBA	Gesamte dynamische Beschleunigung des Körpers (englisch: overall dynamic body acceleration)
OH•	Hydroxylradikal
PBS	Phosphat basierte Saline, Phosphat-gepufferte Saline
PCr	Kreatinphosphat
RM ANOVA	Varianzanalyse für Messwiederholungen
RMR	Ruhestoffwechsel (englisch: resting metabolic rate)
RNS	Stickstoffradikal (englisch: reactive nitrogen species)
ROS	Sauerstoffradikal (englisch: reactive oxygen species)
RQ	respiratorischer Quotient (RQ= $\dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$)
s	Sekunde
SDA	spezifisch-dynamische Wirkung (englisch: specific dynamic action)
suppl.	supplementiert
SusMR	Stoffwechselrate, die über einen längeren Zeitraum aufrechterhalten werden kann (englisch: sustained metabolic rate)
TEE	Gesamtenergieverbrauch (englisch: total energy expenditure)
V	Volt

$\dot{V}CO_2$	Rate der Kohlendioxidproduktion (ml/min)
$\dot{V}O_2$	Rate des Sauerstoffverbrauchs (ml/min)
W	Watt (SI-Einheit der Leistung)

1 Einleitung

Der Hund (*Canis familiaris*) gilt als das älteste Haustier des Menschen (Benecke 1994). Seit der Steinzeit ist der Hund Begleiter, Wächter und Jagdgehilfe des Menschen. Archäologen konnten nachweisen, dass seine Domestikation schon vor ca. 10.000 Jahren erfolgte (Askew 1996). Für den Menschen ergaben sich daraus neue Aufgaben hinsichtlich der Fütterung, Pflege und Gesunderhaltung seines Begleit- und Arbeitstieres.

Auch heute noch ist der Energiebedarf von Haus- und Arbeitshunden für uns von Interesse. Hunde sind in zahlreiche Dienstleistungsbereiche sowie sportliche Aktivitäten des Menschen eingebunden. Die Abschätzung des Energiebedarfs von Hunden, die Routinearbeiten verrichten oder sportliche Leistungen erbringen, ist ein Schlüsselaspekt um deren Energiebedarf zu evaluieren und durch eine individuelle Anpassung der Ernährung Höchstleistungen zu ermöglichen (Burger & Johnson 1991). Die begrenzte Datenlage sowie die Einbeziehung der unterschiedlichen Faktoren (z.B. des Trainingszustands), die den Energiebedarf von Hunden in Arbeit und Sport beeinflussen, erschweren eine Abschätzung des jeweiligen Energiebedarfs erheblich.

Im Rahmen dieser Studie soll daher eine Methode entwickelt werden, die eine schnelle und nicht-invasive Abschätzung des individuellen Energiebedarfs für unterschiedliche Aktivitäten und Leistungen von Hunden verschiedener Leistungsstufen ermöglicht. Diese Methode soll zukünftig insbesondere bei der Ermittlung von Bedarfswerten zur Erstellung von Fütterungsnormen von Sport- und Arbeitshunden Anwendung finden. Bei zahlreichen Säugetieren, den Menschen eingeschlossen, kann über die Messung der Herzfrequenz ein Rückschluss auf den Energieverbrauch gezogen werden. Dies ist möglich, da für diese Spezies eine Korrelation zwischen Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch nachgewiesen wurden (Schmidt-Nielsen 1997).

Die Abschätzung des Energiebedarfs anhand der Messung der Herzfrequenz stellt eine exakte, einfache und kostengünstige Methode dar, die ohne großen apparativen Aufwand auch bei Haus- und Arbeitshunden eingesetzt werden könnte.

Beyreuther (2007) wies erstmals für FBI-Hunde eine lineare Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch nach. Um diese Korrelation zu verifizieren, sollen im Rahmen dieser Studie durch die Verwendung eines Laufbandes standardisierte Bedingungen geschaffen werden. Unter Einbeziehung von höheren Laufgeschwindigkeiten und unterschiedlichen Trainings- und Belastungsniveaus soll eine solch lineare Beziehung zwischen Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch bei Hunden durch synchrone Aufzeichnungen beider Parameter untermauert werden.

Da es durch Training zu einer Vielzahl physiologischer und metabolischer Adaptationen kommt (Hawley 2002), die eine Steigerung der Leistungsfähigkeit, aber auch eine Modifizierung des Energiestoffwechsels bewirken, sollen im Rahmen dieses Projektes zudem trainingsbedingte Effekte auf den Energiestoffwechsel von Hunden untersucht werden. Solche Effekte sind im Prinzip von anderen Haushunde-Rassen bekannt (Wyatt & Mitchell 1974, Riedhammer et al. 1976, Stepien et al. 1998), aber durch un-

terschiedliche Trainingsbedingungen oder Rasseeffekte z.T. uneinheitlich und somit nicht vergleichbar. In dieser Studie sollen daher die Effekte von Ausdauertraining auf den Energiestoffwechsel, die Konstitution und die Leistungsfähigkeit von Hunden in unterschiedlichen, definierten Belastungs- und Trainingszuständen unter standardisierten Bedingungen und der genauen Angabe des Trainingsprotokolls ermittelt werden. Zudem sollen trainingsbedingte Effekte auf funktionelle und strukturelle Parameter des Herzens, die Muskeldicke ausgewählter Lokomotionsmuskeln, die DNA-Schädigung durch Belastung und die Aktivität von Hunden untersucht werden.

Solche trainingsbedingten Anpassungen bzw. deren Aufrechterhaltung sind jedoch kostspielig für den Organismus, da der Erhalt von ungenutzter Kapazität eines Organismus zusätzlich Erhaltungsenergie kostet (DeWitt et al. 1998). Unter dem Gesichtspunkt der physiologischen Optimierung sollte ungenutzte Überkapazität von Organsystemen daher reduziert werden. Länger andauernde Phasen der Inaktivität bzw. Trainingspausen bedingen folglich eine Aufhebung dieser Anpassungen (Coyle et al. 1985). Die Reversibilität der durch Ausdauertraining erzielten Effekte soll daher in dieser Studie durch eine auf die Trainingsphase folgende Periode ohne Training überprüft werden.

Spezifisches Training zum Muskelaufbau ist vor allem bei älteren Hunden oder Hunden in der Rekonvaleszenz nach operativen Eingriffen von Bedeutung. Vom Menschen ist bekannt, dass die Supplementierung mit Kreatin in Kombination mit Krafttraining zu signifikant größeren Muskeln führt (Volek et al. 1999). Auch bei älteren Menschen scheint die Supplementierung mit Kreatin einen positiven Effekt auf den Muskelstoffwechsel zu haben (Gotshalk et al. 2002).

Kreatin wird normalerweise als Bestandteil einer omnivoren Ernährung mit der Nahrung aufgenommen. Da Kreatin jedoch sehr empfindlich auf Hitze und pH-Wert Änderungen reagiert, wird der Kreatingehalt von Nahrungsmitteln bei deren Zubereitung vermindert (Balsom et al. 1994, Greenhaff 1997). Dies ist besonders in der Ernährung von Hunden von Interesse, da durch die Herstellung von kommerziell erhältlichem Trocken- und Nassfutter bis zu 80 % des in den Rohstoffen enthaltenen Kreatins verloren gehen kann (Howard 1997).

Im Rahmen dieser Studie sollen daher die Auswirkung einer oralen Supplementierung mit Guanidinoacetat (GAA), einer stabilen Vorstufe in der endogenen Synthese von Kreatin, bei Hunden untersucht werden. Zunächst sollen die alleinigen Effekte einer Supplementierung mit GAA, später auch in Kombination mit Ausdauertraining überprüft und mit denen nicht supplementierter Hunden aus dem ersten Abschnitt dieser Studie verglichen werden. Zudem soll überprüft werden, welche Effekte eine GAA-Supplementierung auf obige Parameter sowie die Aktivität und den Gehalt an GAA bzw. dessen Metaboliten in Blut und Muskulatur von Hunden hat.

2 Stand der Forschung

2.1 Energiestoffwechsel

Jede Aktivität eines Organismus, sei es Lokomotion, Reproduktion oder Verhalten, verbraucht Energie (Butler et al. 2004). Ein lebender Organismus muss daher ständig Energie aufnehmen. Was davon umsetzbar ist, wird im Körper als chemische Energie in einer Reihe organischer Substanzen und als potenzielle Energie in Form von Konzentrationsgradienten (vor allem von Ionen wie Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , H^+) gespeichert. Diese Energie kann zur Leistung mechanischer Arbeit (z.B. Muskelkontraktion), chemischer Transportarbeit oder Stoffwechselarbeit (z.B. Synthese komplexer organischer Moleküle) herangezogen werden.

Unter dem Begriff Stoffwechsel versteht man die Umwandlung von Energie im Körper von einer Form in eine andere. Der Katabolismus (Abbaustoffwechsel) setzt die potenzielle chemische Energie komplexer organischer Moleküle zur Leistung von Arbeit und zur Erzeugung von Wärme durch Oxidation frei, während der Anabolismus (Aufbaustoffwechsel) organische Moleküle synthetisiert. Auch im Zustand körperlicher Ruhe läuft der Stoffwechsel beispielsweise zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur, der Zellfunktionen u.a. weiter (Klinke 2003).

2.1.1 Energiebedarf

Der tägliche Energiebedarf von Hunden variiert u.a. mit deren Körpergewicht, Alter, Rasse, Gesundheitsstatus, Bewegungsdauer, Bewegungsintensität und Umgebungstemperatur. Bei adulten, normalgewichtigen Hunden sind die Gewichtsunterschiede zwischen den einzelnen Rassen sehr viel größer als bei anderen domestizierten Säugetieren (Burger & Johnson 1991). Das Körpergewicht von Hunden reicht vom 1 kg schweren Chihuahua bis zum 115 kg schweren Bernhardiner und deckt damit einen Bereich von mehr als dem 100-fachen ab (Burger 1994). Die großen Unterschiede in Körpergewicht, Körperzusammensetzung, Rasse, Temperament und Beschaffenheit des Fells verursachen vermutlich größere Variationen des Erhaltungsenergiebedarfs als bei anderen Spezies. Das Geschlecht hat dabei keinen Einfluss auf den massenspezifischen Energiebedarf der Hunde (Kienzle & Rainbird 1991).

Der Tagesenergiebedarf (daily energy expenditure, DEE) wird im Allgemeinen in verschiedene Komponenten unterteilt, die die jeweilige Verwendung der Energie widerspiegeln (Blaxter 1989). Der Aktivitätsgrad der Tiere während den Messungen hat dabei einen großen Einfluss auf den Energiebedarf. Die verschiedenen Ausdrücke werden im Folgenden nach aufsteigender Aktivität angegeben:

Der Basalstoffwechsel (basal metabolic rate, BMR), gibt den Energiebedarf an, der ausschließlich zum Erhalt des Körpergewichts eines Organismus notwendig ist und wird postprandial in Ruhe in der Thermoneutralzone des jeweiligen Organismus gemessen (Rubner 1883, Kleiber 1975, Speakman & Selman 2003). Es muss dabei ge-

währleistet sein, dass sich der Organismus weder in wachsendem noch in reproduzierendem oder anderweitig synthetisierendem Zustand befindet. Wenn eine circadiane Rhythmik des Basalstoffwechsels bekannt ist, dann wird der BMR immer in der Periode des minimalen Energieverbrauchs gemessen. Dies ist im Normalfall während der Schlafperiode der Tiere.

Unter Routinebedingungen des Laborbetriebes ist die Messung des BMR häufig schwierig, wenn nicht gar unmöglich. Während Syntheseleistungen, postprandiale Stoffwechselerhöhung und Temperatur leicht kontrolliert werden können, sind nicht immer alle anderen Voraussetzungen für die Messung der BMR gegeben. Insbesondere Ablenkung und Erregung durch äußere Reize und die Einhaltung der circadianen Rhythmik können nicht immer erfüllt werden.

Der „Ruhestoffwechsel“ (resting metabolic rate, RMR) wird, ebenso wie der BMR, postprandial in der Thermoneutralzone der Tiere gemessen wobei sich die Tiere so ruhig wie möglich verhalten sollten. Im Allgemeinen wird immer dann der RMR angegeben, wenn nicht alle Rahmenbedingungen des BMR erfüllt werden können. Auch bei ekto- und heterothermen Organismen wird beispielsweise generell die RMR bestimmt, da deren Körpertemperatur in Abhängigkeit von der Außentemperatur variiert und somit für diese Tiere keine Thermoneutralzone angegeben werden kann (Frappell & Butler 2004).

Der Erhaltungsenergiebedarf (maintenance energy requirement, MER) berücksichtigt die Energie, die für verschiedene physiologische Funktionen wie Thermoregulation und Verdauung benötigt wird und schließt die Energie mit ein, die für spontane physische Aktivität und moderate körperliche Betätigung genutzt wird. Jedoch muss der Einfluss von großer körperlicher Anstrengung auf den Energiebedarf während der körperlichen Betätigung und auf den Energiebedarf in Ruhe getrennt betrachtet werden (National Research Council 2006).

Bei einer Tierart wie dem Hund, innerhalb derer das Körpergewicht adulter Tiere zwischen 1 kg bis zu 115 kg und mehr variiert, steht der Energiebedarf nicht in direktem Zusammenhang mit dem Körpergewicht. So variieren Hunde verschiedener Rassen trotz ähnlicher Größe und Körpergewicht deutlich in deren Energiebedarf (National Research Council 2006). Blaza (1981) berichtete, dass der Energiebedarf von Doggen, ausgedrückt auf Basis des metabolischen Körpergewichts (Massenexponenten 0,75), über dem anderer Hunderassen liegt. Kienzle und Rainbird (1991) zeigten, dass der Energiebedarf von Neufundländern 20 % unter, während der von Doggen 60 % über dem durchschnittlichen Energiebedarf liegt. Der Energiebedarf von Huskies liegt nach Durrer und Hannon (1962) ebenfalls unter dem des Durchschnitts (Tabelle 1).

Der Anteil der Muskelmasse stellt einen weiteren Aspekt dar, der einen Einfluss auf den Energiestoffwechsel von Hunden hat und durch Fütterung, Rasse, Alter und Aktivität bestimmt wird. Bei der Betrachtung des Körpergewichts wird der Anteil der Muskelmasse jedoch meist nicht berücksichtigt, obwohl diese metabolisch aktiver ist als Fettgewebe. Hunde mit einem geringeren Anteil an Muskelmasse, wie beispielsweise übergewichtige Hunde, haben daher einen geringeren Energiebedarf als für das entsprechende Körpergewicht angenommen werden würde. Es ist daher wahrscheinlich, dass andere Umstände die zu einer Abnahme der Muskelmasse führen, wie beispiels-

weise ein Mangel an Bewegung oder hohes Alter, sich ebenso auf den Energiebedarf auswirken (National Research Council 2006).

Aufgrund des derzeitigen Stands der Forschung stellt die Abschätzung des individuellen Energiebedarfs eines Hundes nicht mehr als eine wohlbegründete Vermutung dar, die den wirklichen Bedarf eines Hundes leicht um bis zu 50 % verfehlen kann (National Research Council 2006).

Tabelle 1: Angaben zum Erhaltungsenergiebedarf von Hunden in Abhängigkeit von Rasse, Alter, Haltung und Aktivität, verändert nach NRC (2006).

Rasse, Alter (Jahre), Haltung, Aktivität	ME [kcal ME kg KM ^{0,75}]		Quelle
	Mittelwert ± 2 StaAbw. ^a	n	
Großwüchsige Haushunde	94 ± 50		(Patil & Bisby 2001)
Haushunde	95 ± 40	28	(Wichert et al. 1999)
Inaktive Border Collies (Haushunde)	97 ± 82	9	(Burger 1994)
Alte Labrador Retriever (Laborhunde, 9)	103 ± 22	6	(Finke 1991)
Alte Labrador Retriever (Laborhunde, >7)	104 ± 32	14	(Rainbird & Kienzle 1990)
Haushunde	105 (Bereich 60-200)	48	(Connor et al. 2000)
Adulte Neufundländer (Laborhunde, 3-7)	106 ± 26	26	(Rainbird & Kienzle 1990)
Alte Laborhunde verschiedener Rassen (>8)	107 ± 14	11	(Taylor et al. 1995)
Alte Beagles (Laborhunde, >10)	110 ± 26	5	(Finke 1994)
Adulte Beagles (Laborhunde, 3-10)	114 ± 16	8	(Finke 1994)
Adulte Beagles (Laborhunde, 4)	117 ± 18	6	(Finke 1991)
Adulte Laborhunde (3-7)	124 ± 42	86	(Rainbird & Kienzle 1990)
Moderat aktive Border Collies (Haushunde)	124 ± 88	28	(Burger 1994)
Junge Laborhunde verschiedener Rassen (<6)	129 ± 10	12	(Taylor et al. 1995)
Junge bis adulte Huskies (Laborhunde, 1-7)	132 ± 20	5	(Finke 1991)
Beagles (Laborhunde)	132 ± 40		(Patil & Bisby 2001)
Mittelgroße Haushunde aus verschiedenen Haushalten	132 ± 52		(Patil & Bisby 2001)
Labrador Retriever (Laborhunde)	138 ± 32		(Patil & Bisby 2001)
Junge Laborhunde (1-2)	139 ± 42	69	(Rainbird & Kienzle 1990)
Junge Beagles (Laborhunde, 1-2)	144 ± 28	6	(Finke 1994)
Sehr aktive Border Collies	175 ± 170	10	(Burger 1994)
Terrier (Laborhunde)	183 ± 48		(Patil & Bisby 2001)
Doggen, Außengehege, Sommer	Ca. 200	7	(Zentek & Meyer 1992)
Doggen, Außengehege, Winter	Ca. 250	7	(Zentek & Meyer 1992)

^a95 Prozent der Population liegen innerhalb dieses Bereichs.

2.1.2 Ruhestoffwechsel

Die niedrigsten Stoffwechselraten werden in Ruhe (RMR) bzw. im Schlaf (BMR) in der Thermoneutralzone des jeweiligen Individuums gemessen. Die Thermoneutralzone eines Individuums ist dabei derjenige Temperaturbereich, innerhalb dessen keine (zusätzliche) Stoffwechselenergie für die Aufrechterhaltung der Körpertemperatur auf-

gewendet werden muss. Außerhalb dieser Zone ist jedoch mit einem Anstieg der Stoffwechselrate zur Thermoregulation zu rechnen (Durrer & Hannon 1962, Blaza 1982, Finke 1991, Männer 1991). Bei Hunden ist die Thermoneutralzone rassenspezifisch unterschiedlich (Männer 1991) und liegt bei guter Wärmeisolation bei sehr niedrigen Temperaturen bis $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Gerth et al. 2009b). Für kurzhaarige Hunde wie Beagle oder Labrador Retriever liegt die untere Grenze der Thermoneutralzone (sog. untere kritische Temperatur) beispielsweise bei ca. $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Kleiber 1975, Männer 1991).

Auch die Nahrungsaufnahme bewirkt einen Anstieg der Ruhestoffwechselrate, da für die Verdauung Energie benötigt wird, um aktive Prozesse wie Enzymsekretion, Absorption von Nährstoffen und die darauffolgende Proteinsynthese zu starten und zu unterhalten (Rubner 1902, McCue 2006, Secor 2009). Zudem geht die Fütterung häufig mit einer großen Erregung der Tiere einher, welche die Ruhestoffwechselrate noch zusätzlich erhöht. Mit den Prozessen Verdauung, Absorption, Transport und Assimilation von Nährstoffen geht die als „spezifisch-dynamische Wirkung“ (SDA) bezeichnete Erhöhung der gesamten Stoffwechselrate einher, diese macht ca. 10 % des gesamten Tagesenergiebedarfs des Menschen aus (Westerterp 2001). Messungen des Ruhestoffwechsels werden aus diesem Grund in nüchternem Zustand durchgeführt.

Dennoch besteht zwischen Individuen mit gleicher Körpermasse eine beträchtliche Variation in deren Ruhestoffwechselrate (Speakman & Selman 2003). Fünfzig bis 70 % dieser individuellen Schwankungen können beim Menschen jedoch durch Unterschiede in der fettfreien Masse (entspricht hauptsächlich der Muskelmasse) erklärt werden (Westerterp et al. 1992, Geliebter et al. 1997, Zhang et al. 2002). Die restliche Variation wird durch eine Vielzahl physiologischer und genetischer Faktoren bestimmt und scheint erblich zu sein (Speakman & Selman 2003).

2.1.3 Leistungsstoffwechsel

Körperliche Belastung erhöht die Stoffwechselrate eines Organismus. Bei länger andauernder Belastung ist der Anstieg der Stoffwechselrate auf eine geringere Rate begrenzt als bei körperlicher Anstrengung über kurze Zeitspannen (Bacigalupe & Bozinovic 2002). Nager und Vögel können während impulsiver Anstrengung Stoffwechselraten bis zum 36-fachen des Ruhestoffwechsels erreichen (Bozinovic 1992, Bundle et al. 1999). Im Gegensatz dazu übersteigen die über einen längeren Zeitraum aufrecht erhaltenen Stoffwechselraten (sustained metabolic rate, SusMR) nur in seltenen Fällen das 7-fache des Ruhestoffwechsels.

Die SusMR bezeichnet das Energiebudget pro Zeit, das ein Tier über einen bestimmten Zeitraum aufrecht erhalten kann ohne Körpergewicht zu verlieren, da die Energieaufnahme pro Zeit den Energieverbrauch pro Zeit ausgleicht (Hammond & Diamond 1997, Wu et al. 2009). Der Quotient aus SusMR und RMR wird dabei als „(sustained) metabolic scope“ bezeichnet und beschreibt die Fähigkeit eines Organismus, die Stoffwechselrate gegenüber dem Ruhestoffwechsel zu erhöhen und auf einem gewissen Niveau über einen längeren Zeitraum aufrecht zu erhalten.

Es hat sich jedoch gezeigt, dass es Grenzen für die Leistungsfähigkeit und die physiologische Anpassungsfähigkeit sowohl des menschlichen als auch des tierischen Organismus gibt. Bei Menschen wurde der höchste SusMR/RMR bei Tour-de-France Fah-

ern gemessen. Sie erreichten das 4,3 fache ihres Basalstoffwechsels (Westerterp et al. 1986). Bei 50 verschiedenen Wildtierarten konnten Werte im Bereich vom 1,0 (*Diposaurus dorsalis*) bis 6,9 fachen des Ruhestoffwechsels (*Sminthopsis crassicaudata*) (SusMR/RMR) ermittelt werden (Hammond & Diamond 1997).

Über den Stoffwechsel von Hunden unter körperlicher Belastung gibt es nur eine begrenzte Anzahl an Studien. Der Erhaltungsenergiebedarf schließt zwar den Energieverbrauch für spontane Aktivitäten ein, der Mehrbedarf an Energie für anstrengende physische Aktivität oder sportliche Leistung muss dem jedoch noch hinzugefügt werden. Der Mehrbedarf an Energie variiert mit der Art der körperlichen Betätigung mitunter sehr stark (Tabelle 2 und Tabelle 3).

Tabelle 2: Energieverbrauch von Hunden während des Stehens und Rennens bei konstanter Belastung auf einem Laufband, verändert nach NRC (2006).

Rasse	n	KM [kg]	Mittelwert od. -punkt ^a	Stehen	Rennen		Geschwindigkeit [km h ⁻¹]	Quelle
				[kcal kg KM ^{-0,75} h ⁻¹]	[kcal kg KM ⁻¹ km ⁻¹]	[kcal kg KM ^{-0,75} km ⁻¹]		
Mischlinge	1	2,6	2,6	3,6	1,6	2,1	1,5-10	(Taylor et al. 1970)
Hunde	2		4,4	4,1	1,9	1,3 ^b	2-20	(Taylor et al. 1982)
Beagles ♂	6	8,8-12,5	10,6	2,4	1,0	1,7 ^b	6	(Young et al. 1959)
Mischlinge ♂	3	6,7-17,3	12,8	2,5	0,9	1,6	3-6	(Raab et al. 1976)
Mischlinge	1	18	18	3,1	0,8	1,7	1,5-10	(Taylor et al. 1970)
Hunde			21	1,5	1,1	2,3 ^b		(Taylor et al. 1982)
Foxhounds ♀	10	21,8 ± 1,4	21,8	4,7	1,4	3,1 ^b	4,8-6,4	(Ordway et al. 1984)
Mischlinge	5	19-29	24	1,9	0,9	2,0 ^b	4-16	(Ordway et al. 1984)
Wolf	2		23,1	2,2	1,1	2,4 ^b	2-18	(Taylor et al. 1982)

^aEin Mittelwert ist angegeben, wenn dieser bekannt ist, ansonsten wurde der Mittelpunkt zwischen Maximum und Minimum angegeben.

^bWerte sind ungefähr, da sie aus dem Mittelwert oder Mittelpunkt mit dem Exponenten 0,75 berechnet wurden.

Tabelle 3: Energiebedarf für Hunde verschiedener Rassen bei unterschiedlichen Belastungen, verändert nach NRC (2006).

Rasse	♀, ♂	Training	n	KM [kg]	Alter [Jahre]	Temperatur [°C]	Art der Belastung	Methode	Täglicher Energieverbrauch [kcal]	Täglicher Energieverbrauch [kcal kg ^{-0,75}]	Quelle
Alaska Schlittenhunde	♀, ♂	ja	18	23 ± 6	1-4	-10 bis -35	Schlittenhunderennen über 470 km in 70 h bei 7 km h ⁻¹	DLW ME	11260 ± 2820 10,660	1052 ± 192	(Hinchcliff et al. 1997)
		nein	4			-10 bis -35	Haltung in Ausläufen	DLW	2510 ± 1,625	263 ± 96	
Alaskan Huskies	ja	ja	19			20	Haltung in Ausläufen	ME		130 ± 29	
							634 km in 8 Tagen	DLW	4014 ± 3084	438 ^a	(Decombaz et al. 1995)
Schlittenhunde	♂	ja	8	39-43	0,7-9	-8	schwere Last über Eis ziehen 32 km d ⁻¹	ME	2089 ± 438	228 ^a	(Orr 1966)
				7	35-38		antarktisch	angekettet an 2 m langen Ketten		2184	145 ± 7
Alaskan Husky-Mischlinge	ja	ja	1	20-25		-12 bis 2	10 km d ⁻¹		4000-5000	440	(Kronfeld et al. 1977)
				17		-4 bis 7	6 km d ⁻¹		2000-2500	220	
Kelpie	♂	ja	1	17			Schäferhund arbeitete an 2 Nachmittagen in 8 Tagen, 40 min Auslauf täglich und kurze Spaziergänge	DLW	1426	167	(Frankel et al. 1994)
								ME	1257	147	
Border Collies			10				Hoch: 3-6 h	ME		174 ± 179	(Burger 1994)
							Moderat: 1-3 h			124 ± 89	
Border Collies	♀, ♂	ja	31	17 ± 6	1-12		Gering: <1 h	ME	1640 ± 2190	97 ± 82	(Downs et al.)
							Ausläufe; täglich 15 min bis 3 h Arbeit auf Schaffarm			138-184	
Border Collies-Haushunde			7	28			3-6 h d ⁻¹	ME		177 ± 132	(Butterwick et al. 1988)
							1-3 h d ⁻¹			108 ± 51	
Arbeitshunde			11	10			< 1 h d ⁻¹	ME		120 ± 59	
							3-6 h d ⁻¹			174 ± 118	
Englische Pointer	♀, ♂	ja	10	20 ± 1	1-11	Heiß und feucht	11 m ² Auslauf, 3 h jagen täglich	ME	2300	240 ^a	(Davenport et al. 2001)
				6	23-20	5-11		ME	(1900-2600)	(200-280)	
Labrador Retriever	♀	ja	6	23-20	5-11		Beheizte Zwinger mit Auslauf, 10 min Spaziergang tägl. Aber Gewichtszunahme 2kg KM	ME	1120-1440	93-121 ^a	(Downs et al.)
Greyhounds	♀, ♂	ja	7	34 ± 4	1-3	11 bis 25	3 m ² Zwinger, 900 m ² Auslauf für 30 min tägl.; 500 m-Rennen zweimal wöchentlich	ME	2160 ± 330	155 ± 18	(Hill et al. 2000)
Greyhounds	♀, ♂	ja	8	32 ± 6	2-4	-4 bis 15	Wie oben	ME	2070 ± 720	152 ± 46	(Hill et al. 2001)
Greyhounds -ad libitum -begrenzt	♀, ♂	ja	9	30 ± 7	2-5		Wie oben	ME		137 ± 22	(Hill et al. 1999)
Beagles	♀	ja	10	12,3	1,3		200 km pro Woche bei 15% Steigung	Energie	1530 ± 600	233 ± 92 ^a	(Arokoski et al. 1993)
				nein	10			1 m ² Zwinger		1030 ± 450	156 ± 450 ^a
Beagles	♀	ja	2	17,11	8		3 m ² Zwinger mit Auslauf	DLW	874	122	(Balleve et al. 1994)
								ME	784	109	
Grönlandhunde -Sommer	♂	nein	6	33,7 ± 2,7		7-11	angekettet	DLW		113 ^a	
										1587	
-Winter	ja		6	33,2 ± 3,0		-23	angekettet	DLW	2742	196 ^a	
										62180	443 ^a
Jagdhunde		ja	8	27,6-14,3		6	8 h tägl., 9 km h ⁻¹ , 2-3 Tage lang Tägl. 3 h Rennen und Jagen in 20-40 cm lockerem Schnee	DLW	1719-3964		(Ahlstrom et al. 2010)
Verschiedene Rassen				11,6-33	1,5-12	18-20	In Ruhe	¹⁴ C-BT		115 ± 35	(Larsson et al. 2010)
						8-20	3 h Rennen			209 ± 71	

¹³C-BT ¹³C-Bicarbonat Tracer, DLW doubly labelled water Methode, ME metabolisierbare Energie

^aAbschätzung wurde anhand des publizierten Mittelwertes der KM berechnet und ist daher ungefähr.

2.1.4 Messung des Energiestoffwechsels

Die Bestimmung des Energieverbrauchs und dessen Aufteilung auf bestimmte Aktivitäten ist von zentraler Bedeutung für das Verständnis der Physiologie, des Verhaltens und der Evolutionsökologie von Organismen (McNamara & Houston 1996).

2.1.4.1 Bilanz-Versuch

Die Verfügbarkeit von Energie kann entweder durch Bestimmung der Energieaufnahme bei Gewichtskonstanz oder durch faktorielle Berechnung des Energiebedarfs des Tieres ermittelt werden (National Research Council 2006). Anhand sogenannter Bilanz-Versuche kann der Energiebedarf an umsetzbarer Energie (metabolizable energy, ME)

von Hunden und Katzen experimentell bestimmt werden. Da bei Hunden und Katzen die Fermentationsverluste vernachlässigbar sind (Kleiber 1961, Zentek & Meyer 1993), ergeben die Sammlung von Urin und Kot Ergebnisse, die sehr nah an der ME liegen. Die Konstanz des Körpergewichts stellt bei diesen Versuchen das Hauptkriterium zur Abschätzung des Energiebedarfs dar. Diese Methode kann daher nicht bei wachsenden Organismen angewendet werden oder bei Organismen, die ihr Körperfettdepot verkleinern bzw. vergrößern (Schmidt-Nielsen 1997). In die Bedarfsberechnungen fließt zudem ein ungewisser Energiebetrag für Bewegungsaktivität mit ein und trägt dadurch nicht unerheblich zum abgeschätzten Energiebedarf bei (Männer 1991). Die Durchführung eines Bilanz-Versuchs ist zudem sehr aufwändig und ermöglicht ausschließlich die Beurteilung des Energiebedarfs über einen längeren Zeitraum, die Ergebnisse sind meist Tages-Energiebilanzen.

2.1.4.2 Doubly labelled water-Methode

Für die „doubly labelled water“ (DLW)-Methode werden natürlich vorkommende, stabile Isotope des Wassers (^2H oder ^3H und ^{18}O) verwendet, um den Energiebedarf von Menschen und Tieren zu schätzen. Anhand dieser Methode wird die gesamte CO_2 -Produktion über eine gewisse Zeitspanne gemessen. Da die CO_2 -Produktion aus der Oxidation von Fetten, Kohlenhydraten und Proteinen resultiert, ist sie gleichermaßen ein Maß für den Energieverbrauch (Balleve et al. 1994). Da ^{18}O dem Körper in Form von Wasser und CO_2 verloren geht, wohingegen ^2H den Körper ausschließlich in Form von Wasser verlässt, kann aus der Differenz der jeweiligen Verluste von Wasserstoff und Sauerstoff die CO_2 -Produktion berechnet werden. Die DLW-Methode basiert auf der Beobachtung, dass der Sauerstoff in dem ausgeatmeten CO_2 im Gleichgewicht mit dem durch Isotope ausgetauschten Sauerstoff des Körperwassers steht (Lifson et al. 1955, Lifson et al. 1975).

Die DLW-Methode wurde früher hauptsächlich zur Abschätzung des Energiebedarfs von kleineren Tieren, insbesondere Vögeln (Bryant & Westerterp 1983), Säugetieren (Mullen 1970) und Reptilien (Nagy 1972) genutzt, erst etwas später wurden auch Messungen der CO_2 -Produktion am Menschen (Schoeller & van Santen 1982) durchgeführt. Balleve et al. (1994) nutzen die DLW-Methode erstmals, um den Energiebedarf von Hunden und Katzen zu bestimmen. Speakman et al. (2001) validierten diese Methode durch den Vergleich mit indirekter Kalorimetrie und Bilanz-Versuchen bei Labrador Retrievern.

Anhand der DLW-Methode wird die CO_2 -Produktion von Individuen gemessen, dies stellt jedoch noch keine Abschätzung des Energieverbrauchs dar. Die Kenntnis des respiratorischen Quotienten ($\text{RQ} = \dot{V}\text{CO}_2/\dot{V}\text{O}_2$) zur korrekten Abschätzung der CO_2 -Produktion ist unerlässlich, da durch die Oxidation verschiedener Substrate (Fette, Kohlenhydrate, Proteine) unterschiedliche Mengen an CO_2 im Körper entstehen. Bei der Konvertierung des $\dot{V}\text{CO}_2$ in Energieverbrauch kann es durch die Anwendung eines unpassenden RQ zu einem beträchtlichen Fehler kommen. Bei der Metabolisierung von Kohlenhydraten (z.B. bei einem RQ von 1) entspricht $1 \text{ ml O}_2 \text{ s}^{-1}$ oder $1 \text{ ml CO}_2 \text{ s}^{-1}$ 21,1 W, wohingegen bei reinem Fettstoffwechsel (z.B. RQ = 0,71) $1 \text{ ml O}_2 \text{ s}^{-1}$ 19,6 W und $1 \text{ ml CO}_2 \text{ s}^{-1}$ 27,6 W entspricht (Lusk 1917, Brobeck & Dubois 1980). Wird beispielsweise bei einem unbekanntem RQ der Standard-Wert 0,8 angenommen (Schmidt-Nielsen 1997), führt

dies bei der Abschätzung der MR anhand des $\dot{V}O_2$ zu einem Fehler von 2,5 - 5 %, wenn jedoch der $\dot{V}CO_2$ verwendet wird beläuft sich der Fehler auf 9 - 18 % (Butler et al. 2004). Zudem ist die DLW-Methode eine aufwändige und kostenintensive Methode, die die Abschätzung des Energiebedarfs einer Gruppe von Individuen über einen längeren Zeitraum ermöglicht (Speakman 1998, Butler et al. 2004).

2.1.4.3 Direkte Kalorimetrie

Bei der direkten Kalorimetrie wird die gesamte Wärmeproduktion eines Organismus gemessen, um die Stoffwechselrate abschätzen zu können. Diese Methode soll über jegliche verwendete Energie Aufschluss geben und stellt im Prinzip die genaueste Methode zur Abschätzung des Energieverbrauchs dar (Schmidt-Nielsen 1997). In der Praxis werden die Messungen durchgeführt, indem der Organismus sich in einem Kalorimeter befindet. Vorgänge wie das Erwärmen von aufgenommener Nahrung oder Verdunstung von Wasser, die sich nicht auf die Wärmeproduktion auswirken, müssen in der Berechnung der Wärmeproduktion berücksichtigt werden (Schmidt-Nielsen 1997). Da die Organismen im Kalorimeter Platz finden müssen ist die Anwendbarkeit dieser Methode durch die Größe des Kalorimeters beschränkt.

2.1.4.4 Indirekte Kalorimetrie (Respirometrie)

Da Tiere ihre Energie hauptsächlich durch Oxidation von Nährstoffen erhalten und die produzierte Wärmemenge dabei pro verbrauchtem Liter Sauerstoff annähernd konstant bleibt, unabhängig davon, ob Fette, Kohlenhydrate oder Proteine oxidiert werden (Klinke 2003), kann die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs als Maß für ihren Energiestoffwechsel verwendet werden (Schmidt-Nielsen 1997). Bei der Respirometrie (oder indirekten Kalorimetrie) macht man sich diese Tatsache zu Nutzen. Dazu wird der Sauerstoff in der ausgeatmeten Luft gemessen und mit der Sauerstoffkonzentration in der Atemluft verglichen. Auf diese Weise kann der Sauerstoffverbrauch pro Zeiteinheit berechnet werden ($\dot{V}O_2$). Zusätzlich zur Sauerstoffkonzentration werden häufig die Menge des produzierten CO_2 sowie das Atemzugvolumen und die Atemfrequenz bestimmt. Da zur Bestimmung der Atemgase im Vergleich zur direkten Kalorimetrie nur ein geringer technischer Aufwand nötig ist, ist die Respirometrie technisch einfach durchzuführen und wird häufig für die Abschätzung des Energiestoffwechsels verwendet (Schmidt-Nielsen 1997). Außerdem ermöglicht sie es, den Energiestoffwechsel von Tieren unter kontrollierten Bedingungen und sogar während verschiedensten Aktivitäten zu messen.

Die meisten Studien untersuchten den Energieverbrauch von Hunden, die über lange Distanzen unter Verwendung aerober Energiequellen rannten. Bei solchen Ausdauerleistungen befindet sich der Sauerstoffverbrauch in einem Gleichgewicht mit dem Energieverbrauch und kann daher als Maß für den Energieverbrauch unter Belastung verwendet werden (National Research Council 2006). Nur wenige Studien untersuchten den Energiebedarf von Hunden, die unter der Verwendung von aeroben und anaeroben Energiequellen über kurze Distanzen rannten.

2.1.4.5 Herzfrequenz-Methode

Die Messung der Herzfrequenz (HF) ist sehr einfach durchzuführen. Sie erfordert einen geringen technischen Aufwand und wird daher neben dem Sauerstoffverbrauch als alternative Methode zur Abschätzung des Energieverbrauchs von Tieren genutzt (Butler et al. 2004). Basierend auf der Annahme, dass eine Änderung der HF die wichtigste Reaktion des kardiovaskulären Systems auf einen erhöhten Sauerstoffbedarf darstellt, wird die HF u.a. als Maß für den Energieverbrauch verwendet. Die zugrunde liegende Annahme wird durch das Fick'sche Prinzip (Fick 1870) beschrieben:

$$\dot{V}O_2 = HF \times V_s (C_a O_2 - C_v O_2)$$

Gleichung 1: Abschätzung des Sauerstoffverbrauchs ($\dot{V}O_2$) anhand der Herzfrequenz (HF), wobei V_s das Schlagvolumen, $C_a O_2$ den Sauerstoffgehalt im arteriellen Blut und $C_v O_2$ Sauerstoffgehalt im venösen Blut angibt.

Die Verwendung der HF zur Abschätzung der Stoffwechselrate ermöglicht es, die energetischen Kosten sämtlicher Aktivitäten im Lebenszyklus eines Tieres bestimmen zu können (Bevan et al. 1995b, Bevan et al. 2002, Green et al. 2002, Weimerskirch et al. 2002, Butler et al. 2004). Bei der Kalibrierung dieser Methode ist es daher wichtig, dass sämtliche natürlichen Verhaltensweisen des zu messenden Tieres durch den Kalibrierungs-Prozess abgedeckt werden (Froget et al. 2002, Ward 2002, Green et al. 2008).

In vielen dieser Studien wurde der $\dot{V}O_2$ in Abhängigkeit von der HF errechnet, es besteht häufig ein linearer Zusammenhang zwischen diesen beiden Faktoren. Der Einfluss steigender Belastung auf das Verhältnis von $\dot{V}O_2$ und HF wurde durch eine stetige Erhöhung der Geschwindigkeit des Laufbands oder des Schwimmkanals untersucht (Bevan et al. 1995a, Hawkins et al. 2000, Froget et al. 2001).

Bei Fischen (Armstrong 1986, Lucas 1994, Beaumont et al. 2003), Gänsen (Nolet et al. 1992, Bishop 2002, Ward 2002), Enten (Owen 1969, Hawkins et al. 2000), Störchen (Bamford & Maloiy 1980), Pinguinen (Bevan et al. 1995a, Froget et al. 2001, Green 2001, Froget et al. 2002, 2006, Halsey et al. 2007), Albatrossen (Bevan et al. 1994), Seelöwen (Butler et al. 1992, McPhee 2003), Delphinen (Williams et al. 1993), Eichhörnchen (Pauls 1980), Rentieren (Nilssen et al. 1984), Kängurus (McCarron et al. 2001) und Menschen (Shvartz & Reibold 1990, Treuth 1998, Fröhlich 2005) konnte bereits ein linearer Zusammenhang zwischen HF und $\dot{V}O_2$ gezeigt werden. Bei Hühnern wird von einer logarithmischen (Green et al. 2009) und bei Pferden von einer exponentiellen Korrelation berichtet (Coenen 2010).

Zahlreiche dieser Studien wurden an Vögeln durchgeführt. Da Vögel jedoch über zwei unterschiedliche Lokomotionssysteme verfügen, nehmen diese eine Sonderstellung ein. Green et al. (2005) stellten beispielsweise bei schwimmenden und an Land laufenden Pinguinen deutliche Unterschiede im Zusammenhang von $\dot{V}O_2$ und HF zwischen diesen beiden Fortbewegungsarten fest. Aber auch bei verdauenden und laufenden Bantamhühnern wurden verschiedene Zusammenhänge von $\dot{V}O_2$ und HF gemessen (Green et al. 2009). Diese Tatsache bekräftigt einmal mehr die Wichtigkeit der Spezies-spezifischen bzw. Rasse-spezifischen Kalibration der Herzfrequenz-Technik (Green et al. 2009).

2.2 Effekte von Ausdauertraining

Der menschliche Organismus verfügt über die Fähigkeit, sich an die Anforderungen regelmäßigen Trainings anzupassen. Die beanspruchten Systeme (z.B. kardiovaskuläres oder muskuläres System) zeigen bereits nach wenigen Wochen Training physiologische Anpassungsreaktionen, die die Leistungsfähigkeit in diesem Bereich verbessern. Dazu gehören z.B. die Fähigkeit, eine gegebene submaximale Belastung über einen längeren Zeitraum aufrecht zu erhalten oder eine höhere Durchschnittsleistung über eine festgelegte Distanz oder Zeit zu erreichen (Coyle 1995, Hawley 2002).

Der Grad dieser Anpassung und Zunahme der Leistungsfähigkeit steht dabei in Relation zum Trainingsstimulus und hängt von der Effizienz ab, mit der chemische Energie in mechanische Energie für Kontraktionen der Skelettmuskulatur umgewandelt werden kann.

In Studien an Menschen und anderen Säugetieren konnten verschiedene, z.T. sehr komplexe Einflüsse von Training auf den Energiestoffwechsel belegt werden. Ein Training zur Steigerung der Ausdauerleistung bewirkt: a) eine Steigerung der Rate der Energieproduktion, sowohl der aeroben als auch der Sauerstoff-unabhängigen Stoffwechselprozesse; b) die Aufrechterhaltung einer engeren metabolischen Kontrolle (z.B. die Abstimmung von Adenosintriphosphat (ATP)-Produktion und -Hydrolyse); c) eine Minimierung der Zellschädigung; d) eine Erhöhung der Effizienz der Bewegung; und e) eine Verbesserung des Widerstands der beanspruchten Muskulatur gegen Ermüdung (Hawley 2002).

2.2.1 Effekte von Ausdauertraining auf den Energiestoffwechsel

Im Allgemeinen bewirkt Ausdauertraining beim Menschen eine lang anhaltende Erhöhung des Ruhestoffwechsels (Shvartz & Reibold 1990, Alméras et al. 1991, Tremblay et al. 1992, Wilterdink et al. 1992, Pinto & Shetty 1995). Die Ruhestoffwechselrate macht in der menschlichen Gesellschaft einen Großteil des täglichen Energiebedarfs aus. Eine Erhöhung des Ruhestoffwechsels, beispielsweise als Folge von Training, hat daher beim Menschen einen großen Einfluss auf den täglichen Energiebedarf (Speakman & Selman 2003).

Veränderungen des Ruhestoffwechsels sind meist bedingt durch eine Variation der fettfreien Masse eines Individuums (Weyer et al. 2000), wengleich eine beträchtliche individuelle Rest-Variation besteht (Abb. 1). Es gibt jedoch einige Studien, die keine Effekte von Ausdauertraining auf den Ruhestoffwechsel nachweisen konnten (Broeder et al. 1992, Sharp et al. 1992). Langandauernde Erhöhungen der physischen Aktivität von Tieren bewirken eine Erhöhung des Ruhestoffwechsels aufgrund einer Erhöhung der fettfreien Masse und/oder einer Veränderung in verschiedenen physiologischen Prozessen, die Einfluss auf den restlichen Ruhestoffwechsel haben. Dies spiegelt einen Anstieg der massenspezifischen Stoffwechselrate der verschiedenen Gewebe und Organe wieder, die zur fettfreien Masse beitragen (Speakman & Selman 2003).

Obwohl die an Menschen erhobenen Daten widersprüchlich erscheinen, deuten die meisten an Säugetieren durchgeführten Studien darauf hin, dass isolierte Trainingseinheiten ebenso wie intensives Langzeit-Training zu einer Erhöhung des Ruhestoffwech-

sels führen (Speakman & Selman 2003). Relativ wenige Studien haben jedoch den Einfluss von Training auf die Körperzusammensetzung, wie beispielsweise die Muskelmasse, im Zusammenhang mit Änderungen der Stoffwechselrate bei Tieren untersucht (Gleeson et al. 1982, Ballor 1991b, a, Ichikawa et al. 2000).

Bei Studien an Tieren muss zudem zwischen Studien, in denen Tiere erzwungenes Training absolvierten und Studien, in denen die Tiere freiwillig trainierten unterschieden werden. Die an freiwillig trainierenden Tieren durchgeführten Studien konnten die oben genannten Effekte jedenfalls nicht bestätigen (Speakman & Selman 2003).

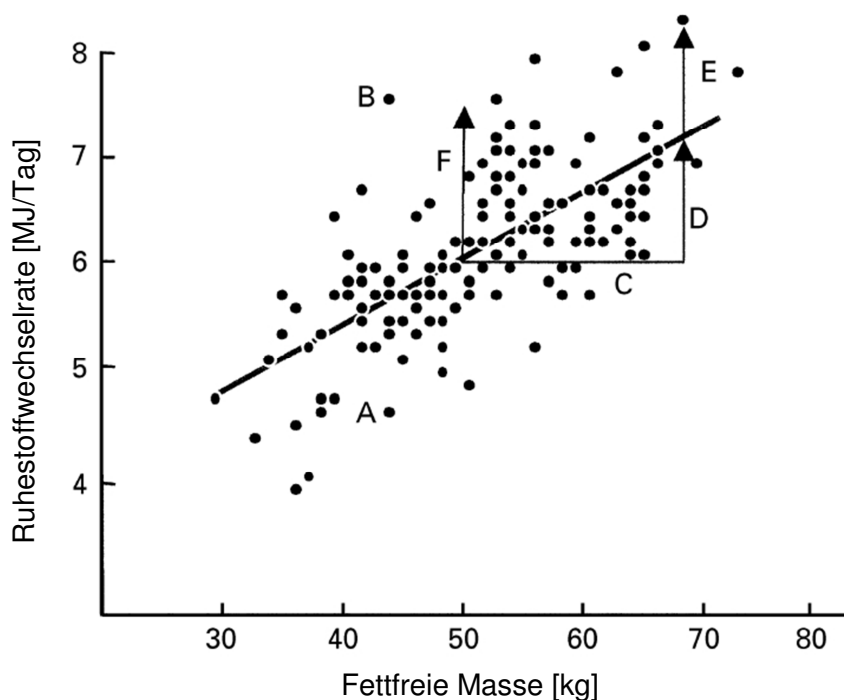


Abb. 1: Ruhestoffwechselrate (RMR, schlafend) in Abhängigkeit von der fettfreien Masse (N= 152). Zwei Individuen A und B weisen stark voneinander abweichende RMR auf, obwohl sie über die identische fettfreie Masse verfügen. Der Langzeiteffekt von Ausdauertraining auf ein Individuum mit 50 kg fettfreier Masse und einer RMR von 6 MJ/Tag wirkt sich in zweierlei Hinsicht aus. Zuerst steigt die fettfreie Masse an (C; stark übertrieben) und führt zu einem Anstieg der RMR (D), das Training stimuliert die Prozesse, indem es eine sog. Rest-Variation bewirkt (E), und auf diese Weise zu einem größeren Anstieg der RMR führt, als durch alleinige Zunahme der fettfreien Masse erwartet worden wäre. Kurzzeitige Effekte von einzelnen Trainingseinheiten bewirken ausschließlich eine Anpassung der Rest-Variation der RMR (F). Speakman und Selman (2003) verändert nach (Weyer et al. 2000)

In der humanen Sportphysiologie ist die Messung des $\dot{V}O_2$, genauer der maximalen Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2max}$), der derzeitige Standard zur Evaluierung der maximalen aeroben Kapazität. Der Parameter $\dot{V}O_{2max}$ gibt die Effizienz und Koordination zwischen respiratorischem, kardiovaskulärem und neuromuskulärem System wieder und beinhaltet auf diese Weise sowohl physiologische, als auch metabolische Informationen (Mitchell et al. 1958). Eine Erhöhung des $\dot{V}O_{2max}$ durch intensives Ausdauertraining konnte beim Menschen bereits wiederholt gezeigt werden (Rowell 1974, Blomqvist & Saltin 1983).

In einer Studie an Ratten erhöhte sich die Ausdauerleistung der Tiere um 403 %, die

$\dot{V}O_2$ max jedoch nur um 14 % und erschien daher als schlechter Vorhersagewert für Ausdauerleistung (Davies et al. 1981). Bei Hunden gibt es zwar Studien, die den Einfluss von Training auf den $\dot{V}O_2$ max untersucht haben, Musch et al. (1985) gelang es beispielweise anhand von Foxhounds einen Einfluss des Trainings auf den $\dot{V}O_2$ max zu zeigen, die Intensität des Trainings variierte jedoch mit Sicherheit zwischen den Studien. In einigen dieser Studien reichte die Höchstgeschwindigkeit der Laufbänder nicht aus, so dass der $\dot{V}O_2$ kein Plateau erreichte. Der so gemessene $\dot{V}O_2$ max müsste daher noch über den in diesen Studien angegebenen Höchstwerten liegen (National Research Council 2006).

Training bewirkt eine Vielzahl physiologischer Adaptationen, lange Phasen der Inaktivität bzw. Trainingspausen bedingen jedoch eine Aufhebung dieser Anpassungen (Coyle et al. 1985). Die Reversibilität solcher Anpassungen des Energiestoffwechsels von Hunden wurde bereits in einigen Studien demonstriert. Proscurshim et al. (1989), die nach zwei monatigem Ausdauertraining eine signifikante Erhöhung des massenspezifischen $\dot{V}O_2$ max von Hunden erreichten, zeigten dass diese Anpassung bereits nach zwei-monatiger Unterbrechung des Trainings vollständig reversibel war. Coyle et al. (1984) wiesen bereits nach 21 bzw. 56-tägiger Unterbrechung des Trainings eine Abnahme des $\dot{V}O_2$ max um 7 % bzw. 16 % nach. Die Fitness von Kanaan Hunden, definiert als die Fähigkeit während einer Stunde bei 8,65 km h⁻¹ und 10° Steigung auf dem Laufband zu laufen und die Körpertemperatur sowie die HF unter 41 °C bzw. 250 Schlägen pro Minute zu halten, verschlechterte sich bereits 3 - 5 Wochen nach Beendigung des Trainings (Sneddon et al. 1989).

Insgesamt ergibt sich aber ein heterogenes, oder teilweise widersprüchliches Bild, wenn Publikationen verglichen werden, die über Effekte von Ausdauertraining auf den Energiestoffwechsel aufgrund unterschiedlicher Trainingsbedingungen berichten, oder über die Untersuchung verschiedener Hunderassen oder gemischten Laufbandgruppen. Es bedarf daher weiteren Studien unter der genauen Angabe von Trainingsdauer und –intensität, die unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden.

2.2.2 Effekte von Ausdauertraining auf die Herzfrequenz

Die Herzfrequenz stellt eine komplexe Antwort auf die metabolischen Bedürfnisse eines Organismus dar. Sie ist abhängig von biotischen (Belastungsart und –Intensität, Geschlecht, Körpertemperatur, Alter, Trainingszustand, Stress, Gesundheitszustand) und abiotischen Faktoren (Atmosphärendruck, Umgebungstemperatur). Die Ruheherzfrequenz von Säugetieren variiert außerdem mit deren Größe (Stahl 1967, Levine 1997). So liegt beispielsweise die Ruheherzfrequenz von Hunden großer Rassen (70 bis 100 Schläge/Minute) deutlich niedriger als die von Hunden kleiner Rassen (100 bis 130 Schläge/Minute) (Spörri 1987).

Bei Bedarf kann das Herz seine Pumpleistung durch Erhöhung der Schlagfrequenz und des Schlagvolumens erheblich steigern. Dadurch kann es seine Funktion sehr schnell an unterschiedliche körperliche Belastungen anpassen (Harmeyer 2005). Die Steuerung der HF erfolgt unbewusst über das vegetative Nervensystem, eine Aktivierung des

Sympathikus bewirkt eine Herzfrequenzerhöhung wohingegen eine Aktivierung des Parasympathikus eine Abnahme der HF bewirkt (Doxey & Boswood 2004). Faktoren wie anhaltende Belastung (Sanders et al. 1977, Miyazaki et al. 2002), niedrige Temperaturen (Korhonen et al. 1985), Verdauung und sozialer, sowie emotionaler Stress (Beerda et al. 1998, Palestini et al. 2005) führen zu einer sofortigen Erhöhung der HF.

Extensives Ausdauertraining bewirkt bei Hunden (Wyatt & Mitchell 1974, Sneddon et al. 1989) und anderen Säugetieren, den Menschen mit eingeschlossen (Scheuer & Tipton 1977, Stein et al. 1999), eine langanhaltende Absenkung der Ruheherzfrequenz. Außerdem wurde Training in vielen Studien mit einem verminderten Herzfrequenzanstieg unter Belastung assoziiert (Wyatt & Mitchell 1974, Stepien et al. 1998). Im Gegensatz dazu konnten Mackintosh et al. (1983) bei Beagles nach einem 7-wöchigen Ausdauertraining keine Änderungen der Ruheherzfrequenzen messen. Bei trainierten Greyhounds ermittelten Pape et al. (1986) sogar höhere Ruheherzfrequenzen als bei untrainierten Vertretern dieser Rasse.

2.2.3 Effekte von Ausdauertraining auf echokardiographische Parameter

Körperliche Arbeit erfordert eine Kreislaufanpassung. Dabei steigt das Herzzeitvolumen annähernd proportional mit dem gesteigerten Sauerstoff (O₂)-Verbrauch der arbeitenden Skelettmuskulatur an. Begrenzend für die Steigerung der Kreislauffähigkeit ist das venöse Angebot, das durch Muskelpumpe und Sogwirkung der Atmung gefördert wird.

Das Herzzeitvolumen steigt unter körperlicher Belastung von rund 5 l/min in Ruhe auf das 4 bis 5-fache an. Neben einer Erhöhung der HF trägt die Steigerung des Schlagvolumens ebenfalls zur Vergrößerung des Herzzeitvolumens bei. Die Verteilung des Blutes verändert sich dabei zugunsten der arbeitenden Skelettmuskulatur (Klinke 2003). Beim untrainierten Menschen kommt es dabei zu einem Anstieg des Schlagvolumens von ca. 65 ml auf 80 ml. Bei Trainierten kann es im Gegensatz dazu von 100 ml auf 150 ml ansteigen. Das Herzminutenvolumen von trainierten Ausdauerathleten steigt von 5 bis 6 l/min in Ruhe bis zu 40 l/min unter größter Belastung an (Ekblom & Hermansen 1968).

Bei zunehmender Arbeitsbelastung kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg des systolischen Blutdrucks, während der diastolische Druck weitgehend unverändert bleibt (Klinke 2003). Die geringe Erhöhung des diastolischen Drucks ist auf eine starke Vasodilatation in der arbeitenden Muskulatur zurückzuführen, die mit einer Verminderung des peripheren Widerstands einhergeht. In Anbetracht der oben genannten Veränderungen unter Belastung erscheint eine Vergrößerung des Durchmesser und der Wanddicke des linken Ventrikels als Anpassungen des Herzens als Folge von Ausdauertraining sinnvoll (Pluim et al. 2000).

Tatsächlich konnten neben einer Erhöhung des Schlagvolumens und des enddiastolischen Volumens sowie einer Absenkung der Ruheherzfrequenz (Gilbert et al. 1977, Blomqvist & Saltin 1983) auch morphologische Änderungen beobachtet werden. Diese schließen eine Zunahme des inneren Kammerdurchmessers, sowie eine Verdickung der links ventrikulären Wand und des Septums mit ein (Keul et al. 1982, Blomqvist & Saltin 1983).

Auch bei Hunden geht langandauerndes Ausdauertraining mit einer Vergrößerung des Herzens einher. Zahlreiche Studien belegten eine Größenzunahme des Herzens in Relation zur Körpermasse bei trainierten Hunden (Grober 1908, Külbs 1912, 1929, Thörner 1930, Steinhaus et al. 1932, Bove et al. 1979, Arokoski et al. 1993, Stepien et al. 1998). In einer Umkehr der Effekte kommt es durch Inaktivität nach einer Trainingsperiode zu einer Verkleinerung des Herzens von Hunden (Steinhaus et al. 1932, Wyatt & Mitchell 1974, Stepien et al. 1998). Coyle et al. (1984) beobachteten bei intensiv trainierten Ausdauersportlern bereits 12 - 21 Tage nach Beendigung des Trainings einen Abfall des Schlagvolumens auf ein Niveau, das sich nicht mehr von dem der Kontrolle unterschied.

Übereinstimmend mit den morphologischen Parametern führt intensives Training zu einer Erhöhung des Herzminutenvolumens und des Schlagvolumens (Barnard et al. 1980). In einer Studie an Mischlingshunden wurde jedoch als Reaktion auf intensives Training eine Zunahme der linksventrikulären Wanddicke ohne gleichzeitige Zunahme des enddiastolischen Volumens gemessen (Wyatt & Mitchell 1974). Die enormen Größenunterschiede der Haushunde von Zwerghunderassen wie 0,5 kg schweren Chihuahuas bis zu Riesenrassen wie 100 kg schweren Deutschen Doggen resultieren in entsprechenden Unterschieden in Größen und Morphologie der inneren Organe. Dies spiegelt sich ebenso in den Funktionsparametern dieser Organe wieder. Um solche Adaptationen von Organen wie dem Herz beurteilen zu können müssen die richtigen Referenzwerte herangezogen werden um zwischen rassespezifischen Adaptationen und konditionsabhängigen Abweichungen morphologischer und funktioneller Parameter unterscheiden zu können. Zu diesem Zweck wurden zahlreiche Studien durchgeführt um Referenzwerte für funktionelle Parameter wie der Herzfrequenz verschiedener Hunderassen unter unterschiedlichen Bedingungen zu etablieren (Boon et al. 1983, Hanton & Lodola 1998, Torre et al. 2000).

Die Verwendung verschiedener Rassen, unterschiedlicher experimenteller Trainingsbedingungen und verschiedener Forschungsinteressen führten jedoch zu Ergebnissen, die auf den ersten Blick uneinheitlich oder widersprüchlich erscheinen. Snyder et al. (1995) stellten beispielsweise in einer Studie an nicht trainierten Greyhounds substantielle Unterschiede in linksventrikulärer Kammergröße und Wanddicke im Vergleich zu kürzlich veröffentlichten Normwerten für Mischlinge und zahlreiche andere Rassen fest. Damit wird deutlich, dass Rasse und Körperbau bei der Interpretation echokardiographischer Studien an Hunden unbedingt berücksichtigt werden sollten.

2.2.4 Effekte von Ausdauertraining auf die Muskeldicke

Die Struktur der Muskulatur spiegelt die typischen Bedürfnisse im Zusammenhang mit der Lebensweise eines Tieres wieder. Die Skelettmuskulatur von Säugetieren ist ein sehr heterogenes Gewebe, das sich aus einer Vielzahl an schnellen und langsamen Muskelfasertypen und Untergruppen zusammensetzt. Darüber hinaus stellen Muskelfasern sehr wandlungsfähige Strukturen dar, welche ihre phänotypischen Eigenschaften an veränderte Anforderungen anpassen können (Pette & Staron 2000). Die Muskelfasertypen können basierend auf der Kontraktionsgeschwindigkeit oder auf deren metaboli-

schen Funktion klassifiziert werden (Booth et al. 2010). Dabei unterscheidet man drei Haupt-Fasertypen (Typ 1, Typ 2A und Typ 2B Fasern), die sich durch eine unterschiedliche Zusammensetzung an schweren Myosin-Ketten (myosin heavy chain, MHC) unterscheiden. Muskelfasern des Typ 1 und 2A werden durch aeroben, oxidativen Stoffwechsel charakterisiert, während Typ 2B-Fasern anaeroben, glykolytischen Stoffwechsel aufweisen (Hill 1998).

Die metabolische Kapazität des Muskelgewebes wird unter anderem durch das kapillare Netzwerk bestimmt, das eine große Rolle im peripheren Gas- und Substrataustausch spielt. Um dem Bedarf des Muskels zu genügen wird das kapillare Netzwerk optimiert (Hoppeler & Kayar 1988, Baba et al. 1995), dies kann sowohl durch anhaltende elektrische Stimulation (Reichmann et al. 1985) als auch durch körperliche Betätigung erreicht werden.

Aktive Tiere weisen gegenüber weniger aktiven Tieren im Allgemeinen eine größere relative Muskelmasse auf (Kayar et al. 1989, Weibel et al. 1992). Faktoren wie Aktivität (Training), Temperatur und Ernährungszustand haben den stärksten Einfluss auf die Muskulatur und beeinflussen deren Zusammensetzung und Größe schnell und reversibel (Pette 2001, Hoppeler & Flück 2002, Boonyarom & Inui 2006). In einer Studie an Grönlandhunden konnte vom Sommer, den die Hunde größtenteils angekettet verbrachten, gegenüber dem Winter, in dem sie drei- bis viermal die Woche einen Schlitten zogen, an der Muskulatur von Schulter und Vorderbein keine Zunahme, an der des Hinterbeins jedoch eine Zunahme von 10 % gemessen werden (Gerth et al. 2009a). Die Messungen der Muskeldicke ausgewählter Lokomotionsmuskeln wurden mittels Ultraschall durchgeführt. Durch morphometrische Messungen des Muskelfaser-Durchmessers konnten diese Beobachtungen bestätigt werden.

Die Art des Trainings spielt dabei eine große Rolle, so bewirkt gleichförmiges, repetitives Training bei geringer Belastung beispielsweise eine Differenzierung der Muskelfasern hin zu einem Ermüdungs-resistenten Phänotyp (Pette 2002). Diese zelluläre Spezialisierung erlaubt es den Muskelfasern eine große Anzahl langsamer Kontraktionen zu bewältigen. Umgekehrt bewirkt ein Trainingsplan, der eine hohe Belastung vorsieht, einen Kraftzuwachs via Faserhypertrophie (Flück 2006). Neben den funktionellen Änderungen bewirkt Training in Abhängigkeit von Qualität, Intensität und Dauer ebenso metabolische Veränderungen der Muskelfasern in Richtung aerob-oxidativem oder anaerob-glykolytischem Stoffwechsel (Pette 2002). Die Muskulatur von Hunden enthält überwiegend aerobe, oxidative Muskelfasern (Gunn 1978, Armstrong et al. 1982, Snow 1987). Dadurch können Hunde freie Fettsäuren, relativ zur metabolischen Körpermasse gesehen, doppelt so schnell metabolisieren wie Menschen (Bruijne 1982) und somit Fett als Energiequelle besser nutzen als die menschliche Muskulatur. Deshalb gilt es zu bedenken, dass Rückschlüsse aus Studien am Menschen nicht unbedingt auf den Hund übertragbar sind (Hill 1998).

Als Folge der Formbarkeit der Muskulatur sind strukturelle und funktionelle Anpassungen reversibel: Die Modifikationen werden jedoch nur so lange aufrecht erhalten wie der Stimulus besteht (Hoppeler & Flück 2002). Durch Immobilisation kommt es beispielsweise innerhalb von sechs Wochen zu einem Verlust von 40 % des Muskelvolumens, die

größten Verluste treten vermutlich innerhalb der ersten ein bis zwei Wochen auf (Jones et al. 2008). Bei Tieren atrophieren sowohl schnelle als auch langsame Muskelfasern, während beim Menschen vorzugsweise Verluste langsamer Typ 1 Fasern auftreten (Haggmark et al. 1986). Bei Entlastungshaltungen ist das Ausmaß der Muskelatrophie verschiedener Muskeln davon abhängig, wie stark der entsprechende Muskel unter normalen Umständen durch das Körpergewicht belastet wurde. Je aktiver der Muskel, desto schneller atrophiert er (Thomason et al. 1987).

Die trainingsinduzierte Erhöhung der Muskel-Kapillarisierung nach moderatem, mehrere Monate andauerndem Ausdauertraining ist ebenfalls innerhalb von 8 Wochen Inaktivität ganz oder teilweise reversibel (Klausen et al. 1981, Schantz 1986). Länger andauerndes, intensiveres Training bewirkt jedoch eine Erhöhung der Kapillardichte im Muskel um 40 - 50 %, die über eine 3-monatige Inaktivitätsphase auf diesem hohen Niveau aufrecht erhalten wird (Ingjer 1979, Coyle et al. 1984). Gerth et al. (2009a) vermuten einen Langzeiteffekt von Training auf das kapillare Netzwerk, das sich in Phasen geringer Aktivität nicht ohne weiteres herunter regulieren lässt.

2.2.5 Effekte von Ausdauertraining auf die DNA-Schädigung

In jeder Zelle, die mit Sauerstoff in Berührung kommt, können ungewollt Sauerstoffradikale entstehen. Radikale enthalten auf ihrer äußeren Elektronenschale unpaare Elektronen, wodurch sie ein großes oxidatives Potenzial besitzen und zur Schädigung von Zellkomponenten beitragen können (Packer et al. 2008). Es handelt sich dabei meist um Sauerstoffradikale (reactive oxygen species, ROS) und Stickstoffradikale (reactive nitrogen species, RNS). Bei körperlicher Arbeit kann die Sauerstoff-Aufnahme des Organismus um das 10 - 15fache und die O₂-Versorgung des Muskelgewebes um das 100fache gesteigert werden (Klinke 2003). Freie Sauerstoffradikale gehen aus ca. 1 - 2 % des in den Körper aufgenommenen Sauerstoffs hervor, wobei in der Regel wiederum Superoxidradikale (O₂^{•-}) entstehen. Diese entstehen vorwiegend bei der Übertragung der Elektronen auf den Sauerstoff beim Ubichinon-Cytochrom b in der Atmungskette (Hruszkewycz & Bergtold 1988). Exzessive Radikalbildung führt unter anderem zur Oxidation von Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren (Gomez-Cabrera et al. 2008, Liu et al. 2008, Sachdev & Davies 2008). Die Folgen sind oxidativer Stress, der zu früh-zeitiger Muskelermüdung und Muskelatrophie führt (Klinke 2003). Um der Wirkung freier Radikale und/oder Oxidantien entgegen zu wirken beherbergt die Zelle jedoch auch antioxidative Mechanismen. Dabei handelt es sich einerseits um wenig spezifische Mechanismen wie die Vitamine C und E sowie Glutathion, andererseits um hoch spezifische Enzyme wie die Superoxid-Dismutase und Katalase (Packer et al. 2008). Mit Hilfe des Enzyms Superoxid-Dismutase kann das O₂^{•-} weiter zum Wasserstoffperoxid (H₂O₂) reagieren und anschließend durch die Glutathion-Peroxidase oder die Katalase beseitigt werden. Die klassische Definition von oxidativem Stress ist ein Ungleichgewicht zwischen der Produktion von Oxidantien und dem Auftreten von zellulären Antioxidantien (Sies 1985). Kontrollmaßnahmen werden jedoch über eigene individuelle Signalwege und Redoxreaktionen gesteuert und nicht über Mechanismen, die direkte Auswirkungen auf das Gleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien haben würden. Jones et al.

(2006) definierten oxidativen Stress daher als eine Unterbrechung der Signalwege und der Kontrolle von Redoxreaktionen. Kommt es bei belastungsintensivem Training, hervorgerufen durch einen Anstieg der Stoffwechselrate, zu einer Erhöhung der mitochondrialen O_2 -Aufnahme und folglich zu einer verstärkten Bildung von ROS und RNS, wird verstärkt oxidativer Stress hervorgerufen (Leeuwenburgh & Heinecke 2001, Packer et al. 2008).

Andere Ursachen des oxidativen Stress während physischer Anstrengung können, durch Neutrophile vermittelte, entzündliche Reaktionen sein (Jenkins 1988) sowie der Zusammenhang von Metmyoglobin und Methämoglobin mit der Lipidperoxidation (Cooper et al. 2002) und die Aktivität der Xanthin-Oxidase (Heunks et al. 1999, Viña et al. 2000b, Viña et al. 2000a). Zudem wird durch die Ausschüttung von Übergangsmetallen wie z.B. Eisen, das aus zerstörten Erythrozyten frei wird, die Entstehung von Hydroxyl-Radikalen ($OH\bullet$) durch die Fenton-Reaktion begünstigt (Jenkins & Halliwell 1994).

Auch in Erythrozyten, die Sauerstoff transportieren und ihm daher ständig ausgesetzt sind, kann es durch eine spontane Oxidation von Hämoglobin (Fe^{2+}) zu Methämoglobin (Fe^{3+}) zur Bildung eines $O_2^{\bullet-}$ kommen (Horn et al. 2005). Beim Elektronentransport in den Mitochondrien können ebenfalls Radikale entstehen. Die Theorie der mitochondrialen Entstehung von ROS durch Sport wird durch die Anpassung mitochondrialer Enzyme (Mn-Superoxid-Dismutase und Glutathion-Peroxidase) aufgrund von sportlicher Betätigung gestützt (Higuchi et al. 1985, Ji 1999). Diese Hypothese wird von zahlreichen Autoren bestätigt (Sen et al. 1994, Sen 1995, Packer 1997, Ji 1999).

Obgleich Wasserstoffperoxid im Vergleich zu freien Radikalen relativ reaktionsträge ist, stellt es als Vorstufe des $OH\bullet$ eine Gefahr für die Zelle dar. Unter physiologischen Bedingungen entsteht das $OH\bullet$ durch Aktivität der Xanthin-Oxidase. Unter der Wirkung des $OH\bullet$ werden Fettsäuren in der Zellmembran der Erythrozyten vernetzt, als Folge dessen wird die Erythrozytenmembran zerstört und die Zelle geht zu Grunde (Horn et al. 2005).

Des Weiteren kann es durch das hoch reaktive $OH\bullet$ u.a. zu Schädigungen der DNA kommen, da es in der Lage ist, die Basen und das Rückgrat der DNA direkt anzugreifen (von Sonntag 1989, Marnett 2000). Eine Veränderung der DNA durch ROS spielt wahrscheinlich nicht zuletzt bei der Entstehung von Krebs eine Rolle (Cerutti 1985, Janssen et al. 1993, Loft & Poulsen 1996). Über die Haber-Weiss-Reaktion entsteht $OH\bullet$ direkt an der DNA aus Wasserstoffperoxid unter Anwesenheit von Metall-Ionen, die als Komplexe an die DNA gebunden sind. Das entstandene $OH\bullet$ kann seine schädigende Wirkung sofort an Komponenten der DNA entfalten. Etwa 20 % der von $OH\bullet$ induzierten Reaktionen an der DNA bewirken Schädigungen am Zucker-Phosphat-Gerüst (Aruoma & Halliwell 1998), wodurch DNA-Einzel- und Doppelstrangbrüche sowie alkalilabile Stellen entstehen, die zum Verlust einer Base führen. Den größten Anteil der Schädigungen stellen Basenmodifikationen dar (Cadet et al. 1997, Cadet et al. 1999), von denen am häufigsten 8-Hydroxyguanin (7,8-dihydro-8-oxo-Guanin) vorkommt. Es besitzt prämutagene Eigenschaften, indem es bei der DNA-Replikation fälschlich mit Adenin paart und dadurch zu einem Basenaustausch bis hin zu einer Missense- oder Non-sense-Mutation führen kann.

Beim Menschen kann große körperliche Belastung zu DNA-Schädigungen führen

(Hartmann et al. 1994). Regelmäßiges Training bewirkt jedoch einen Anstieg der Aktivität von DNA-Reparaturenzymen und eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen oxidativen Stress in Proteinen (Radák et al. 2002, Sachdev & Davies 2008). Bei gut trainierten Ausdauersportlern wurde weder unmittelbar nach einem 2,5 stündigen Laufbandtraining, noch 3 Stunden nach dem Training eine erhöhte Anzahl an DNA-Strangbrüchen gemessen (Peters et al. 2006). Ein Vergleich von trainierten und untrainierten Probanden, die bis zur Erschöpfung auf einem Laufband liefen, zeigte, dass beide Gruppen 24 Stunden nach der Belastung zwar eine erhöhte DNA-Schädigung aufwiesen, der Anstieg in der trainierten Gruppe jedoch geringer ausfiel als in der untrainierten (Niess et al. 1996).

Bei der Betrachtung von belastungsinduziertem oxidativen Stress muss man jedoch zwischen regelmäßiger, moderater körperlicher Betätigung (klassisches Ausdauertraining) und maximalen, oder beinahe maximalen, Einheiten hochintensiver körperlicher Anstrengung unterscheiden. Regelmäßiges, moderates Ausdauertraining bewirkt bei Menschen und Tieren Anpassungen, die aufgrund einer drastischen Erhöhung mitochondrialer Biogenese und einem Anstieg der Mitochondrienzahl in der Muskulatur zu einer deutlich erhöhten Ausdauerleistung führen (Davies et al. 1981, Davies et al. 1982b, Davies et al. 1982a, Maguire et al. 1982). Adaptive Mechanismen (Salo et al. 1991, Viguie et al. 1993, Ji 2002, Ji et al. 2006) sind in der Lage, den antioxidativen Schutz zu verbessern und auf diese Weise oxidativen Stress zu vermindern. Sie reduzieren die basale Produktion von Oxidantien und verringern die Freisetzung von Radikalen während der oxidativen Phosphorylierung (Leeuwenburgh & Heinecke 2001). Moderates Training senkt die altersabhängige Entwicklung von oxidativem Stress bei Mäusen, erhöht die Lebenserwartung, und beugt dem Abfall mitochondrialer Funktionen vor (Navarro et al. 2004). Die mit Ausdauertraining einhergehende mitochondriale Biogenese wird außerdem vermutlich durch das belastungsinduzierte Ubisemichinon-Radikal stimuliert (Davies et al. 1981, 1982a, Maguire et al. 1982, Salo et al. 1991).

Hochintensive körperliche Belastung steht unter dem Verdacht, das empfindliche Gleichgewicht zwischen Oxidantien und antioxidativen Mechanismen zu durchbrechen, so dass die mitochondriale Atmungskette und andere Stoffwechselreaktionen zur Entstehung von freien Radikalen beitragen (Packer et al. 2008). Solch eine hohe Anzahl freier Radikale verursacht Gewebeschäden und benötigt effektive Protein-, Lipid-, und DNA-Reparatur-Systeme sowie eine ausreichende Erholung, bevor die Anpassungen an das Training wieder aufgenommen werden können (Sachdev & Davies 2008). Die Folgen primärer DNA-Schädigung sind verschiedenartig. Der Schaden kann entweder repariert oder durch Apoptose eliminiert werden. Andererseits können Zellen mit primärer DNA-Schädigung repliziert werden und führen so zur irreversiblen, fort-bestehenden Mutation von Genen oder ganzen Chromosomen (Hoeijmakers 2001, Knasmüller et al. 2004).

Das Konzept der Hormesis bietet hierbei eine überzeugende Hypothese zu den schützenden Wirkungen von körperlichem Fitnesstraining. Hormesis stellt ein Dosis-abhängiges Phänomen dar, bei dem eine geringe Dosis einer Substanz oder eines Umweltreizes die Anpassung stimuliert, wohingegen eine hohe Dosis diese Anpassung verhindert (Mattson 2008). Demzufolge können niedrige Konzentrationen an ROS, induziert

durch moderates Training, adaptive Mechanismen stimulieren und somit zu einer Verringerung der oxidativen Schädigung beitragen (Gomez-Cabrera et al. 2008).

2.2.6 Effekte von Ausdauertraining auf die Aktivität

Die quantitative Erfassung und Beurteilung der körperlichen Aktivität eines Individuums in seiner natürlichen Umgebung ist wichtig für das Verständnis der Beziehung zwischen physischer Aktivität und Gesundheitszustand, sowie für die Beurteilung der Auswirkungen von sportlicher Betätigung (Westerterp 2009). Caspersen et al. (1985) definierten die körperliche Aktivität als eine durch Skelettmuskulatur erzeugte Körperbewegung, die Energieverbrauch bewirkt. Der Tagesenergiebedarf eines Tieres wird daher im Wesentlichen von seiner Aktivität bestimmt. Die zur Lokomotion aufgewendete Energie stellt dabei die variabelste Komponente des Gesamtenergieverbrauchs dar (Westerterp 2008).

Verschiedenste Techniken, wie beispielsweise Verhaltensbeobachtungen, Befragungen in Form von Tagebüchern, rückblickende Befragungen und physiologische Messwerte wie Herzfrequenz, Kalorimetrie und Bewegungssensoren, finden vor allem zur Beurteilung der Aktivität von Menschen Verwendung (Westerterp 2009). Um die Aktivitäten von Tieren zu messen wurden Lichtschranken, Laufräder, auf Ultraschall (Doppler) basierende Detektoren, komplexe Videoanalysen, sowie mechanische Sensoren wie beispielsweise Kraft-Plattformen und Wackel-Käfige eingesetzt (Dourish 1987). Einige dieser Systeme verlangen, dass sich das Tier für die Dauer der Aktivitätsmessung in einer begrenzten Räumlichkeit aufhält. Laufräder zeichnen jedoch keine Aktivität auf, wenn sich das Tier nicht im Laufrad befindet, selbst wenn es in diesem Moment anderen Aktivitäten nachgeht. Derartige Versuchsaufbauten machen eine 24-stündige Beobachtung und die Erfassung des individuellen Tagesrhythmus eines Tieres unmöglich (Hienz et al. 1992). Daher wächst das Interesse an der Nutzung physiologischer Eckdaten wie Herzfrequenz, Kalorimetrie und Bewegungssensoren, die auch zur Abschätzung des Aktivitäts-assoziierten Energieverbrauchs an freilaufenden Tieren eingesetzt werden können.

Zur Aufzeichnung von körperlicher Aktivität werden daher immer häufiger Accelerometer eingesetzt. Anhand dieser Geräte ist es möglich, die körperliche Aktivität objektiv zu erfassen, sowie Frequenz, Dauer und Intensität der Aktivität zu beurteilen (Westerterp & Plasqui 2004). Accelerometer fanden bereits in einer Vielzahl von Studien zur Erfassung der Aktivität von Tieren Verwendung (Hienz et al. 1992, Müller & Schrader 2003, Wilson et al. 2006, Halsey et al. 2009b). Wilson et al. (2006) prägten den Begriff der gesamten dynamischen Beschleunigung des Körpers (overall dynamic body acceleration, ODBA). Dies bezeichnet die dynamische Beschleunigung, die aus dem Zentrum der Körpermasse eines Tieres hervorgeht und durch die Bewegung von Körperteilen verursacht wird. Gemessen wird die ODBA mit Hilfe eines Bewegungssensors, der an einer festgelegten Stelle des Tieres angebracht ist und dessen Beschleunigung in allen drei räumlichen Ebenen aufzeichnet. Bislang wurden jedoch nur für drei Spezies gute Korrelationen zwischen Energieverbrauch und ODBA publiziert: Kormorane (*Phalacrocorax carbo*; Wilson

et al. 2006), Menschen (Halsey et al. 2008) und Bantamhühner (*Gallus gallus domesticus*; Halsey et al. 2009a).

Der Aktivitäts-abhängige Energieverbrauch (activity induced energy expenditure, AEE) kann anhand der „doubly labelled water“ (DLW)-Methode abgeschätzt werden. Mit Hilfe der Gleichung $AEE = 0,9 \times TEE - BEE$ lässt sich der AEE aus der Messung des Gesamtenergieverbrauchs (total energy expenditure, TEE) in Kombination mit einer Messung des Basalstoffwechsels (basal energy expenditure, BEE) berechnen (Westerterp 2009). Die DLW-Methode (2.1.4.2) stellt mittlerweile die Standardmethode zur Evaluierung von Methoden, die zur Messung der körperlichen Aktivität in Feldversuchen verwendet werden, dar (Melanson & Freedson 1996). Leider limitieren die hohen Kosten dieser Methode einen routinemäßigen Einsatz.

Es hat sich gezeigt, dass der AEE bei Personen mit minimalem Aktivitätsniveau ca. 5 % und bei Personen mit einer hohen körperlichen Aktivität 45 - 50 % des durchschnittlichen täglichen Energieverbrauchs ausmacht (Westerterp 2003). Das durchschnittliche Aktivitätsniveau liegt beim 1,75-fachen des basalen Energieverbrauchs (Schulz & Schoeller 1994, Black et al. 1996, Westerterp & Speakman 2008), der AEE macht ein Drittel des durchschnittlichen Tagesenergieverbrauchs aus (Westerterp & Speakman 2008).

In allen Studien, in denen der Effekt von Training auf den Gesamtenergieverbrauch von Probanden mit sitzender Tätigkeit anhand der DLW-Methode untersucht wurde, stellte sich heraus, dass der trainingsabhängige Energieverbrauch selbst während Training auf der höchsten Belastungsstufe stets geringer war als der trainingsunabhängige Energieverbrauch (Westerterp & Plasqui 2004). Fitnesstraining hat bei jungen Erwachsenen einen Einfluss auf den Gesamtenergieverbrauch, während die trainingsunabhängige Aktivität unbeeinflusst bleibt (Meijer et al. 1991). Bei älteren Personen wird die Aktivität während des Fitnesstrainings jedoch durch einen entsprechenden Abfall der trainingsunabhängigen Aktivität kompensiert (Westerterp 2008).

Der Einfluss von Ausdauertraining auf die trainingsunabhängige Aktivität von Hunden wurde bislang noch nicht untersucht.

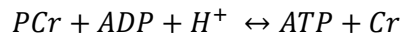
2.3 Effekte von Guanidinoacetat-Supplementierung

Der Körper verfügt über vier verschiedene chemische Energiequellen, die während körperlicher Arbeit verstärkt mobilisiert werden können. Es handelt sich dabei um die energiereichen Phosphate Adenosintriphosphat (ATP) und Kreatinphosphat (PCr) sowie um Kohlenhydrate und Fette (Klinke 2003).

Die physiologische Bedeutung der energiereichen Phosphate ATP und PCr liegt in ihrer schnellen Aktivierbarkeit zu Arbeitsbeginn, insbesondere noch bevor das Herz-Kreislauf-System energiereiche Substrate und vor allem Sauerstoff an die Muskelzellen heranbringen kann. Der ATP-Speicher ist bereits nach wenigen Kontraktionen (2-3 Sekunden) erschöpft (Klinke 2003), kann jedoch durch Übertragung einer energiereichen Phosphatgruppe von PCr auf Adenosindiphosphat (ADP) resynthetisiert werden.

Die Aufgaben von Kreatin (Cr) und PCr im Stoffwechsel sind vielfältig. Kreatinphosphat spielt hauptsächlich zu Zeiten eines hohen Energieumsatzes die Rolle eines kurzzeitigen

Energiepuffers im Energiestoffwechsel der Skelettmuskulatur. Dieses Puffersystem wirkt dann, wenn der ATP-Verbrauch die ATP-Produktion durch mitochondriale Atmung übersteigt. Auf diese Weise hält PCr die ATP-Homöostase bei entsprechend hohem Energieumsatz aufrecht, v.a. in sich schnell kontrahierenden Muskelfasern. Der größte Anteil an Kreatin (ca. 95 %) befindet sich in der Skelettmuskulatur und kommt dort zu 60 - 70 % als PCr in der Zelle, der Rest als freies Cr vor (Balsom et al. 1994). Kreatin wird durch das Enzym Kreatinkinase (CK) zu PCr phosphoryliert. Zwischen Cr und PCr besteht ein reversibles Gleichgewicht:



Das Kreatin-Kreatinphosphat-System hat darüber hinaus eine Funktion als zelluläres Energie-Transport-System inne („Kreatin-Kreatinphosphat-Shuttle“). Obwohl die Mechanismen noch nicht gänzlich erforscht wurden, sind PCr und Cr möglicherweise mit der zellulären Atmung verknüpft und dienen als Boten in einem Phosphat-Shuttle zwischen Zytosol und Mitochondrium (Branch & Williams 2002). Auf diese Weise verknüpft das Kreatin-Kreatinphosphat-System über subzellulär vorkommende CK-Isoformen Stellen, an denen Energie produziert wird, mit Stellen, an denen sie benötigt wird (Wallimann et al. 1992). Die Rolle von Cr und PCr als Energie-Transport-System wird sowohl durch die Tatsache, dass Isoformen der CK in gesonderten zellulären Bereichen existieren und somit andere metabolische Funktionen inne haben, als auch durch die Undurchlässigkeit der Mitochondrienmembran für Adenin-Nukleotide unterstützt (Greenhaff 2001). Es werden daher die zytosolischen Isoformen der CK, die in Muskulatur und Gehirn vorkommen und eigens sowohl an Orten der Energieproduktion als auch des Energieverbrauchs lokalisiert sind, und die mitochondrialen Isoformen unterschieden (Wallimann et al. 1985, Wallimann et al. 1992).

Zusätzlich fungiert das Kreatin-Phosphokreatin-System als eine Art Protonen-Puffer, der vor allem zu Beginn körperlicher Belastung den pH-Wert aufrecht erhält. Dies ist vor allem in Zellen, in denen eine große Menge an ATP innerhalb kurzer Zeit verbraucht wird, von Bedeutung, da durch die Hydrolyse von ATP nicht nur ADP, sondern auch Protonen (H^+) entstehen. Da die CK zur Resynthese von ATP beides benötigt, stellt eine enge funktionelle Verknüpfung der CK und der ATPase einen effektiven Schutz vor einer Azidifizierung der Zellen dar (Wallimann et al. 1992). Falls die PCr-Speicher im Verlauf einer intensiven sportlichen Belastung jedoch aufgebraucht werden, kann zwar durch die Übertragung einer energiereichen Phosphatgruppe von einem ADP-Molekül auf ein anderes zusätzlich ATP hergestellt werden, es entsteht dabei allerdings auch Adenosinmonophosphat (AMP). Adenosinmonophosphat wird schließlich zu Ammoniak, Hypoxanthin und Harnsäure abgebaut, dabei entstehen durch die Xanthin-Oxidase-Aktivität Sauerstoffradikale (Sahlin et al. 1991). Indem PCr die Entstehung von AMP verhindert, kann folglich auch die Produktion von ROS limitiert werden.

In Studien am Menschen konnte bereits gezeigt werden, dass die Supplementierung mit Cr zu einer Erhöhung des Muskel-Kreatin-Gehaltes führt und eine deutliche Verbesserung der maximalen Leistungsfähigkeit bewirkt (Balsom et al. 1993a, Greenhaff et al. 1994, Vandenbergh et al. 1996, Kraemer & Volek 1999, Kreider 2003). Der Anstieg von PCr durch Supplementierung ist sogar größer als der Gesamtkreatin-Gehalt, der durch

entsprechendes Training erreicht werden kann. Weniger gut trainierte Menschen können durch Supplementierung mit Cr sogar Energiespeicher erzeugen, die sonst nur von Spitzensportlern durch hartes Training erreicht werden (Engelhardt et al. 1998a). Es hat sich gezeigt, dass in der schnell-kontrahierenden Muskulatur höhere Kreatin-Konzentrationen als in langsamen Muskelfasern erreicht werden und sich die leistungssteigernde Wirkung durch eine erhöhte Verfügbarkeit von PCr dadurch hauptsächlich auf schnelle Muskelfasern auswirkt (Casey et al. 1996). Somit bewirkt Kreatin eine signifikant größere Zunahme an Muskelkraft und FFM. Volek et al. (1999) konnten nach 12-wöchigem Krafttraining unter Kreatin-Supplementierung eine signifikante Zunahme der Muskelfaser-Querschnittsfläche bei Typ I-, Typ IIA- und Typ IIAB-Fasern beobachten.

Dies macht Cr sowohl im Sport zu einem begehrten leistungssteigernden Mittel, als auch in Medizin und Geriatrie zu einem Muskelaufbau-fördernden Präparat, das vor allem im Bereich der Rehabilitation vielversprechenden Einsatz findet. An dieser Stelle sollte allerdings noch erwähnt werden, dass es Studien gibt, die darauf hinweisen, dass die Supplementierung mit Cr, vor allem bei submaximaler Belastung, keinen Effekt auf die Leistungsfähigkeit oder den Stoffwechsel hat (Balsom et al. 1993b, Stroud et al. 1994).

Kreatin (Methylguanidinoacetat, methylguanidine acetic acid) ist ein Aminosäurederivat, das sowohl endogen synthetisiert als auch als Bestandteil einer omnivoren Ernährung aufgenommen wird (Walker 1979, Balsom et al. 1994). Der Abbau von Cr erfolgt im Muskel. Normalerweise wird Cr dort schnell rephosphoryliert, ein Teil wird jedoch kontinuierlich zu Kreatinin dehydriert und schließlich mit dem Urin ausgeschieden (Walker 1979). Die tägliche renale Ausscheidung von Kreatinin ist innerhalb eines Individuums relativ konstant, kann aber in Abhängigkeit von der Gesamtmuskelmasse zwischen verschiedenen Individuen variieren (Heymsfield et al. 1983).

Kreatin ist vor allem in Rindfleisch (4,5 g/kg), Schweinefleisch (5 g/kg) und Kaltwasserfisch wie Thunfisch, Lachs und Kabeljau (1,5- 2,0 g/kg) enthalten (Branch & Williams 2002), durch die Zubereitung von Nahrungsmitteln wird deren Kreatingehalt jedoch vermindert (Balsom et al. 1994, Greenhaff 1997). Während der Herstellung von kommerziell erhältlichem Hundetrocken- und Nassfutter sowie von Trockenfleischprodukten können bis zu 80 % des ursprünglich enthaltenen Cr verloren gehen (Howard 1997). Schätzungsweise werden ungefähr 2/3 des täglichen Kreatinbedarfs durch *de novo* Synthese gebildet, der Rest muss mit der Nahrung aufgenommen werden (Wyss & Kaddurah-Daouk 2000). Kreatin wird von Hunden sowohl aus frischem Fleisch als auch aus synthetisch hergestelltem Cr gut ins Plasma aufgenommen (Harris & Lowe 1995). Durch Fütterung von kommerziell produziertem Futter können allerdings nur ca. 5 % der nötigen Kreatin-Zufuhr über die Nahrung gedeckt werden. Aufgrund der geringen Haltbarkeit von Cr besteht keine vernünftige Möglichkeit, diese Lücke durch Supplementierung mit Cr zu decken.

Guanidinoacetat (GAA) stellt eine stabile Vorstufe in der endogenen Synthese von Cr dar und kommt in allen Vertebraten vor. Auf natürlichem Wege wird GAA in der Niere durch die L-Arginin-Glycin-Aminotransferase (AGAT) aus Arginin und Glycin synthetisiert. Wird GAA jedoch mit der Nahrung aufgenommen, wird es im Darm absorbiert und gelangt ins Blut (Tsubakihara et al. 1999, Wyss & Kaddurah-Daouk 2000). Der einzig

mögliche Stoffwechselweg von GAA führt in die Leber, in der es zu Cr methyliert wird. Für die Methylierung von GAA wird das Enzym Guanidinoacetat-N-Methyltransferase (GAMT) sowie eine aktivierte Form der Aminosäure Methionin, das S-Adenosylmethionin (SAM) benötigt (Walker 1979). Das auf diese Weise im Körper synthetisierte Cr gelangt von der Leber ins Blut und von dort in die Zielorgane, u.a. Skelettmuskulatur, Herzmuskel, Gehirn, Nerven, Netzhaut des Auges.

GAA stellt daher eine haltbare und stabile Alternative zur Supplementierung mit Cr dar. Die effektive Umwandlung von GAA in Kreatin wurde in mehreren Studien nachgewiesen (Daly 1985, Komoto et al. 2003). Aus einer Langzeit-Studie am Menschen über 200 Tage mit täglicher Verabreichung von 30 mg GAA ist keine toxische Wirkung von GAA bekannt (Borsook & Borsook 1951). Peterson et al. (1955) wiesen bereits nach einer einzelnen Gabe von GAA eine signifikante Erhöhung des PCr-Gehalts in der Skelettmuskulatur von adulten Ratten nach. Auch bei Hunden konnte eine signifikante Erhöhung des Muskel-Kreatin-Gehalts durch GAA-Supplementierung erreicht werden (Dobenecker 2011, persönliche Mitteilung).

2.4 Arbeitshypothesen

2.4.1 Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch

Bei zahlreichen Vögeln, Fischen und Säugetieren, den Menschen eingeschlossen, konnte ein linearer Zusammenhang zwischen Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch gezeigt werden. Bei Pferden wurde von einer exponentiellen Korrelation berichtet (Coenen 2010).

Beyreuther (2007) ermittelte auch für FBI-Hunde eine lineare Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch. Dies sollte im Rahmen dieser Studie unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen und in unterschiedlichen Belastungs- und Trainingszuständen untermauert werden. Zukünftig eröffnet eine solche Korrelation weitaus einfachere und kostengünstigere Möglichkeiten zur Abschätzung des Energiebedarfs bei Haus- und Arbeitshunden, als es mit bisherigen Methoden möglich ist. Auch ein routinemäßiger Einsatz in der Praxis sowie die Abschätzung des Energieverbrauchs des Tieres in seiner heimischen Umgebung durch den Besitzer sind aufgrund der unkomplizierten Handhabung denkbar. Zudem ermöglicht die Herzfrequenzmethode neue Perspektiven in der Diätplanung adipöser Hunde und stellt somit einen Schritt zur Bekämpfung des wachsenden Problems der Adipositas und nicht zuletzt eine lebensverlängernde Maßnahme bei Hunden dar.

2.4.2 Effekte von Ausdauertraining und deren Reversibilität

Die Arbeitshypothese war, dass Ausdauertraining bei Hunden zu einer Anhebung des Ruhestoffwechsels führt und eine höhere oxidative Leistungsfähigkeit auf dem Laufband bewirkt. Dies ist vorteilhaft für den Organismus, da durch oxidativen/aeroben Abbau von Glykogen und Fett die ATP-Ausbeute gegenüber dem anaeroben Stoffwechsel ca. 20-mal höher ist. In Analogie zur Humanphysiologie wurde parallel hierzu eine Verringe-

rung der Herzfrequenz in Ruhe und eine Vergrößerung echokardiographischer Messwerte (Herzschlagvolumen, Dicke des Septums und der Wand des linken Ventrikels) erwartet.

Aufgrund bekannter Effekte von Ausdauertraining auf die Muskulatur von Hund und Mensch (Ingjer 1979, Cabric & James 1983, Hamilton & Booth 2000, Gerth et al. 2009a) wurde eine Zunahme der Muskeldicke postuliert. Ebenso wurden gegenüber dem untrainierten Zustand eine Reduktion belastungsinduzierter oxidativer Schädigung und eine Erhöhung der durchschnittlichen Tagesaktivität erwartet.

Da Ausdauertraining im Allgemeinen kardiovaskuläre Funktionen verbessert und die metabolische Anpassung der trainierten Skelettmuskulatur fördert, wurde die Reversibilität dieser spezifischen Veränderungen durch eine 9-wöchige Trainingspause angenommen. Aus der humanen Sportphysiologie ist bekannt, dass die durch kurzfristiges Training hervorgerufenen Effekte durch eine inaktive Phase von mehreren Wochen bis Monaten reversibel sind (Jones et al. 2008). Bei intensiv trainierten Ausdauersportlern wurde bereits 12 - 21 Tage nach Beendigung des Trainings ein Abfall des Schlagvolumens auf das Niveau der Kontrolle beobachtet (Coyle et al. 1984). Die trainingsinduzierte Erhöhung der Muskel-Kapillarisation nach moderatem, mehrere Monate andauerndem Ausdauertraining ist beispielsweise innerhalb von 8 Wochen Inaktivität ganz oder teilweise reversibel (Klausen et al. 1981, Schantz 1986).

2.4.3 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat

In Studien am Menschen wurde gezeigt, dass die Supplementierung mit Kreatin zu einer Erhöhung des Muskel-Kreatin-Gehaltes führt und eine deutliche Verbesserung der maximalen Leistungsfähigkeit bewirkt (Kreider 2003). Damit einhergehend bewirkt Kreatin eine signifikant größere Zunahme an Muskelkraft und fettfreier Masse. Volek et al. (1999) konnten nach 12-wöchigem Krafttraining unter Kreatin-Supplementierung eine signifikante Zunahme der Muskelfaser-Querschnittsfläche bei Typ I-, Typ IIA- und Typ IIAB-Fasern beobachten.

Aufgrund der bekannten Effekte der Kreatin-Supplementierung beim Menschen wurde bei den GAA-supplementierten Hunden, verglichen mit den nicht supplementierten Hunden, eine gesteigerte Laufleistung auf dem Laufband sowie eine größere Zunahme der fettfreien Masse erwartet.

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Tiere

Für die vorliegende Studie standen 10 klinisch gesunde, weibliche Foxhound-Boxer-Ingelheim Labrador (FBI) Hunde zur Verfügung (Tabelle 4). Das Versuchsvorhaben wurde durch die Regierung von Oberbayern im Sinne des Tierschutzgesetzes genehmigt (Anzeige-Nr. 55.2.-1-54-2531-67-10).

Tabelle 4: Name des Hundes, Tätowierungsnummer, Geburtsdatum und Gewichte zu Beginn des Versuchs für die 10 Versuchstiere.

Hund	Tätowierungs-Nummer	Geburts-Datum	Gewicht (kg)
Salina	M51 0906	29.06.2006	28,02
Stella	M51 1406	29.06.2006	27,88
Trisha	M51 1706	29.06.2006	27,15
Happy	M51 1206	30.06.2006	26,22
Polly	M51 1906	30.06.2006	30,75
Flora	M51 2006	30.06.2006	26,78
Mimi	M51 2106	30.06.2006	25,84
Cappucina	M51 0604	03.06.2004	30,79
Joyce	M51 0504	04.06.2004	34,77
Kira	M51 0404	05.06.2004	31,98

3.1.1 Tierhaltung

Alle zehn Hunde wurden unter kontrollierten, identischen Bedingungen gehalten, wobei sie nachts einzeln oder zu zweit in temperierten Innenboxen untergebracht wurden. Tagsüber hatten sie freien Auslauf in Gruppen von 4 bis 9 Tieren in ca. 100 m² großen, befestigten Ausläufen.

Gefüttert wurden die Hunde einmal täglich morgens, bevor sie ins Freigehege gebracht wurden. Da die Hunde für die Messungen nüchtern sein mussten, wurden sie während den Messphasen erst abends nach den letzten Messungen gefüttert. Die Menge an kommerziellem Trockenalleinfutter wurde entsprechend des individuellen Energiebedarfs eingestellt, wobei ein optimaler Ernährungszustand (BCS 5/9) angestrebt wurde.

3.1.2 Gruppeneinteilung

3.1.2.1 Kontrollgruppe

Von den zehn Hunden wurden drei zufällig ausgewählt und der Kontrollgruppe zugeteilt. Die Hunde der Kontrollgruppe wurden über den gesamten Studienzeitraum nicht trainiert und erhielten keine Supplementierung. An den Hunden der Kontrollgruppe wurden in

den Messphasen (3.2.6) sämtliche Messungen, abgesehen von den Belastungsmessungen auf dem Laufband sowie des Comet Assays, durchgeführt. Aufgrund der geringen Gruppengröße können anhand der Kontrollgruppe keine statistischen Aussagen getroffen werden, sie wurde vielmehr zum Erkennen größerer saisonaler Effekte auf Energiestoffwechsel, Gewicht und Aktivität der Hunde mitgeführt.

3.1.2.2 Laufbandgruppe

Die restlichen sieben Hunde wurden der Laufbandgruppe zugeteilt. An ihnen wurden die Effekte des Laufbandtrainings, deren Reversibilität und die Auswirkungen der Supplementierung mit Guanidinoacetat (GAA) auf sämtliche untersuchten Parameter gemessen. Die Hunde der Laufbandgruppe durchliefen unterschiedliche Trainings- und Messphasen (3.2).

3.2 Versuchsaufbau

3.2.1 Allgemein

Der Versuch gliederte sich in 2 Versuchsperioden, die in jeweils 6 bzw. 4 Phasen (Gewöhnung bzw. Anfütterung, Training, Messungen sowie die Trainingspause in der nicht supplementierten Periode) aufgeteilt wurden (Abb. 2).

In Periode 1 wurden die Effekte des Laufbandtrainings auf Stoffwechsel und Leistungsfähigkeit der Hunde sowie deren Reversibilität anhand der Veränderung des Sauerstoffverbrauchs und anderer messbarer physiologischer Parameter deutlich gemacht. Um diese Effekte unter standardisierten Bedingungen messen zu können, wurden ein Schwellentest (kurzer Belastungstest auf dem Laufband unter schrittweiser Steigerung der Geschwindigkeit, 3.2.6.5) und ein Maximaltest (kurzer Belastungstest auf dem Laufband bei konstant hoher Geschwindigkeit, 3.2.6.5) durchgeführt.

Nach einer ca. 10-wöchigen Gewöhnungsphase, in der die Hunde mit Messgeräten, Handling und Laufen auf dem Laufband vertraut gemacht wurden, erfolgte die Messphase „untrainiert I“ zur Erhebung der Basiswerte. Nach Abschluss der Messungen absolvierten die Hunde ein Ausdauertraining auf dem Laufband (Trainingsphase I). Das Training erfolgte nach einem zuvor erarbeiteten Trainingsprotokoll (Tabelle 5). Die darauffolgende Messphase „trainiert I“ (nicht supplementiert) diente der Erfassung sämtlicher Effekte des Laufbandtrainings auf die gemessenen Parameter. Anschließend erfolgte eine sog. Trainingspause, eine Phase in der die Hunde 9 Wochen lang nicht trainiert wurden. In der daran anknüpfenden Messphase „untrainiert II“ (nicht supplementiert) sollte die Reversibilität der angenommenen Stoffwechseländerungen überprüft werden.

In Periode 2 wurden die Effekte von GAA und die kombinierten Effekte von GAA-Supplementierung und gleichzeitigem Laufbandtraining auf alle gemessenen Untersuchungsparameter untersucht. Dazu fand zu Beginn dieser Periode eine Anfütterungsphase statt, in der den Hunden der Laufbandgruppe täglich eine definierte Menge GAA individuell mit dem Futter verabreicht wurde. In der Messphase „untrainiert III“ (supplementiert) sollten die Effekte dieser Substanz auf alle Untersuchungsparameter in untrainiertem Zustand und ohne zusätzliches Training gemessen werden. Den Hunden der

Kontrollgruppe wurde kein GAA verabreicht. Im Anschluss daran erfolgte die Trainingsphase II mit identischem Training gemäß Trainingsprotokoll aus Periode 1 (Tabelle 5). Die daran anknüpfende Messphase „trainiert II“ (supplementiert) diente der Erfassung der Effekte von GAA auf sämtliche Parameter in Kombination mit Ausdauertraining.

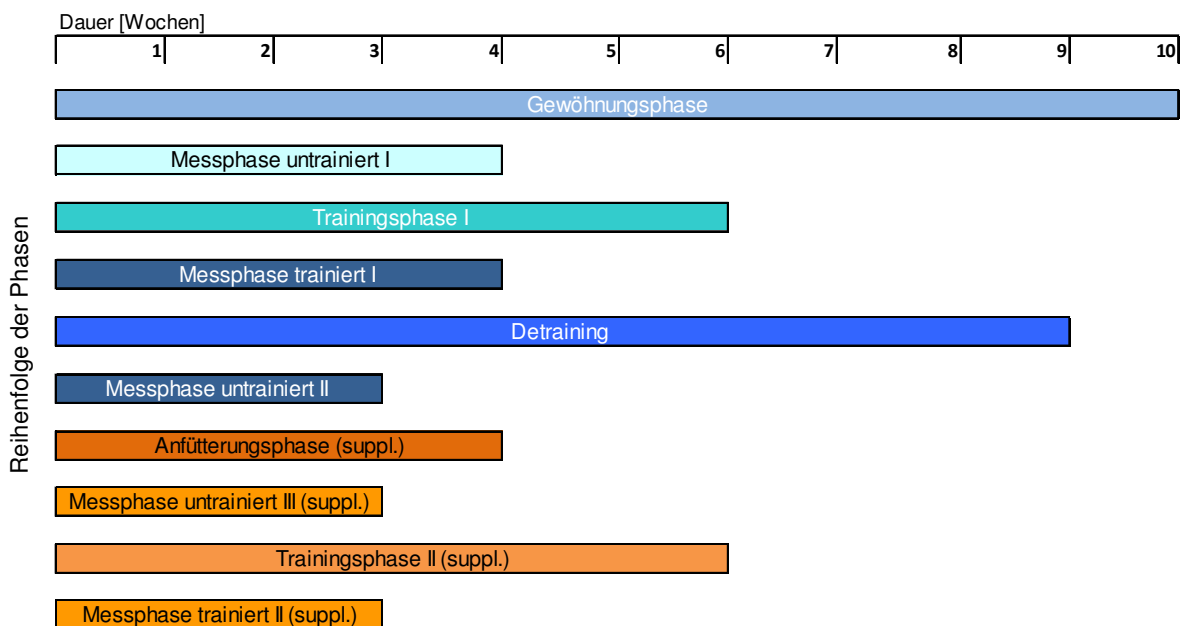


Abb. 2: Zeit- und Arbeitsplan, Überblick über Dauer und Reihenfolge der einzelnen Arbeitsphasen. Blau: nicht supplementiert, Orange: supplementiert

3.2.2 Gewöhnungsphase

Die Gewöhnungsphase erstreckte sich über einen Zeitraum von ca. 10 Wochen. Da Stress v.a. einen großen Einfluss auf die Herzfrequenz hat wurde sehr viel Wert auf eine ausreichend lange Eingewöhnung der Hunde gelegt.

In der Gewöhnungsphase wurden sowohl die Hunde der Laufbandgruppe als auch die Hunde der Kontrollgruppe schrittweise an alle Messgeräte, das Tragen der Respirometriemaske und das Handling bei den einzelnen Untersuchungen gewöhnt. Die Hunde der Laufbandgruppe wurden außerdem an das Laufen auf dem Laufband in den drei Grundgangarten Schritt, Trab, Galopp mit und ohne Respirometrie-Maske und Messgerät gewöhnt. Es stellte sich jedoch heraus, dass die Mehrzahl der Hunde nicht mit Messausrüstung auf dem Laufband galoppieren wollte. Selbst diejenigen, die während der Gewöhnungsphase freudig auf dem Laufband galoppierten, ließen sich mit Respirometrie-Maske auf der Schnauze und Messgerät auf dem Rücken nicht mehr zum Galoppieren motivieren. Sämtliche Messungen wurden daher in den Gangarten Schritt und Trab durchgeführt.

Das Laufband war eine Sonderanfertigung der Firma WT-Metall, Bamberg, Deutschland (Abb. 3; links). Es war 5 m lang und 80 cm breit, erreicht eine Höchstgeschwindigkeit von 18 km/h und ist in der Steigung von 0° bis ca. 20° verstellbar. Für den gesamten Versuch wurde die Steigung des Laufbands jedoch bei 0° belassen. Um bei einem plötzlichen Stopp ein Abstürzen der Hunde zu verhindern, befand sich am Ende des Laufbandes eine Lichtschranke, die bei einer Unterbrechung das Laufband sofort zum Still-

stand brachte. Zusätzlich trugen die Hunde ein Geschirr, das über eine kurze Leine mit einer vom Anfang bis zum Ende des Laufbandes reichenden Kette verbunden wurde und an dieser in Laufrichtung frei vor- und zurückgleiten konnte. Auf diese Weise wurden die Hunde während des Trainings und den Messungen gesichert, ohne sie in ihrer Bewegungsfreiheit einzuschränken. Dadurch konnten sie ihre Position auf dem Laufband frei wählen und durch ein Zurückfallen auf dem Laufband Erschöpfung bzw. Unlust signalisieren (Abb. 3; rechts).



Abb. 3: (links) Laufband mit Lichtschranke, Windmaschine und Sicherheitsleine; (rechts) der Hund konnte seine Position auf dem Laufband frei wählen.

Die während der Respirometrie unter Belastung verwendete Atemmaske (Abb. 7, rechts) ermöglichte den Tieren zwar das Hecheln, die Verdunstung und die damit verbundene Abkühlung waren jedoch stark eingeschränkt. Um dennoch während des Laufens auf dem Laufband annähernd natürliche Verhältnisse zu schaffen, befand sich unmittelbar vor dem Laufband eine Windmaschine (Trotec, TTW 25000 S, Heinsberg, Deutschland), die entsprechend der Geschwindigkeit des Laufbandes geregelt wurde und auf diese Weise auf Höhe des Hundes eine Windgeschwindigkeit produzierte, die der Laufgeschwindigkeit entsprach. Die Windgeschwindigkeit auf Höhe des Hundes wurde zu Beginn der Studie mit einem Anemometer (Windmaster 2, Kaindl electronic, Rohrbach) für die entsprechenden Laufgeschwindigkeiten gemessen und am Regler der Windmaschine markiert. Im Verlauf der Studie wurden die Windgeschwindigkeiten regelmäßig überprüft.

3.2.3 Trainingsphase

Während der 6-wöchigen Trainingsphase absolvierten die 7 Hunde der Laufbandgruppe ein Ausdauertraining auf dem Laufband. Jeder Hund wurde dreimal pro Woche trainiert, wobei darauf geachtet wurde, dass jeweils mindestens ein Regenerationstag ohne Laufbandtraining zwischen den Trainingstagen lag. In Zusammenarbeit mit Dipl. Sportwissenschaftler Pierre König, TU München, wurde ein Trainingsprotokoll erarbeitet (Tabelle 5), das nach Absolvieren eines sechswöchigen Ausdauertrainings messbare Effekte auf Stoffwechsel und andere physiologische Parameter hervorrufen sollte.

Tabelle 5: Dauer und Geschwindigkeit der einzelnen Trainingsbestandteile über die 6-wöchige Trainingsphase mit jeweils 3 Trainingseinheiten pro Woche.

Woche	Trainingseinheit 1	Trainingseinheit 2	Trainingseinheit 3
1	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 5 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 5 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 5 km/h
2	<i>aerobes Training</i> , Dauer: jeweils 20 min, Ge- schwindigkeit: 5 - 6 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 6 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 6 km/h
3	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 6 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 6 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 40 min, Geschwindigkeit: 6 km/h
4	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 30 min, Geschwindigkeit: 7 km/h	<i>Minutenlauf</i> , Dauer: 3, 2, 1, 1, 2, 3 min, Ge- schwindigkeit: 5 bzw. 10 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 30 min, Geschwindigkeit: 7 km/h
5	<i>Minutenlauf</i> , Dauer: 3, 2, 1, 1, 2, 3 min, Geschwindigkeit: 5 bzw. 12 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 30 min, Geschwindigkeit: 8 km/h	<i>Minutenlauf</i> , Dauer: 3, 2, 1, 1, 2, 3 min, Geschwindigkeit: 5 bzw. 13 km/h
6	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 30 min, Geschwindigkeit: 9 km/h	<i>1-Minuten-Sprint</i> , Dauer: 3x 1 min Sprint, dazwi- schen jeweils 5 min Erholung, Geschwindigkeit: 5 bzw. 17,5 km/h	<i>aerobes Training</i> , Dauer: 30 min, Geschwindigkeit: 10 km/h

3.2.3.1 Aerobes Training

Zu Beginn der Trainingsphase wurden die Hunde dreimal pro Woche jeweils 40 min aerob bei ca. 60 - 65 % der geschätzten maximalen Leistungsfähigkeit, entspricht 5 - 6 km/h Laufgeschwindigkeit, trainiert. Die Geschwindigkeit wurde ab der Trainingswoche 4 stetig auf maximal 10 km/h erhöht, wobei die Dauer der Trainingseinheit auf 30 min verkürzt wurde (Abb. 4).

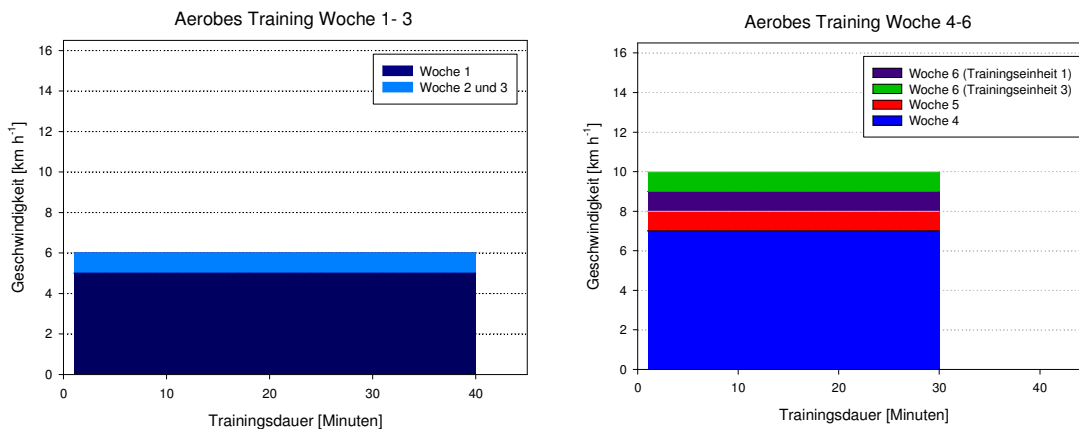


Abb. 4: Übersicht über Dauer und Geschwindigkeit des aeroben Trainings im Verlauf des 6-wöchigen Ausdauertrainings.

3.2.3.2 Minutenläufe

Bei den „Minutenläufen“ liefen die Hunde zunächst mit absteigender Dauer 3, 2, 1 Minuten bei einer Geschwindigkeit von 10 - 13 km/h. Zwischen den einzelnen Intervallen wurden entsprechend lange 3- bzw. 2- oder 1-minütige Erholungsphasen bei einer Geschwindigkeit von 5 km/h eingehalten. Anschließend wurden die Sprints mit aufsteigender Dauer von 1, 2, 3 Minuten und den entsprechend langen Erholungsphasen durchgeführt (Abb. 5).

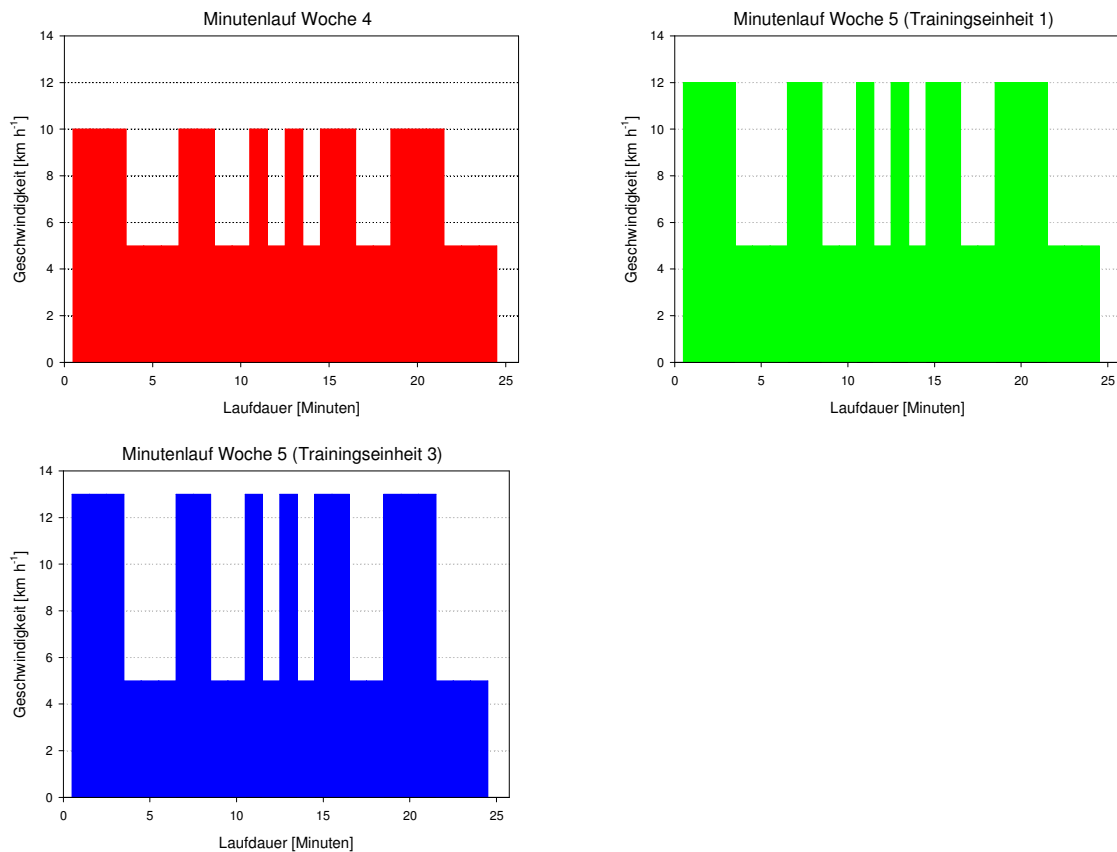


Abb. 5: Übersicht über Dauer und Geschwindigkeit der Sprint- und Erholungsphasen während des Minutenlaufs im Verlauf des 6-wöchigen Ausdauertrainings.

3.2.3.3 1-Minuten Sprints

Bei den 1-Minuten-Sprints sollten die Hunde jeweils dreimal 1 Minute bei 90 – 95 % ihrer geschätzten durchschnittlichen Leistungsfähigkeit sprinten, dies entspricht auf dem Laufband ungefähr einer Geschwindigkeit von 17,5 km/h. Zwischen den einzelnen Sprints sowie nach dem letzten Sprint wurde eine 5-minütige Erholungsphase bei 5 km/h eingelegt (Abb. 6).



Abb. 6: Übersicht über Dauer und Geschwindigkeit der Sprint- und Erholungsphasen während des 1-Minuten Sprints.

3.2.4 Trainingspause

In der 9-wöchigen Trainingspause wurden die Hunde nicht trainiert, hatten jedoch über den gesamten Zeitraum die Möglichkeit, sich wie gewohnt frei in den Ausläufen zu bewegen. Durch diese Phase des Nicht-Trainierens sollte die Reversibilität der angenommenen Stoffwechseländerungen überprüft werden.

3.2.5 Supplementierung

Den Übergang von Periode 1 (nicht supplementiert) zu Periode 2 (supplementiert) bildete eine 4-wöchige Anfütterungsphase. Die Hunde der Laufbandgruppe bekamen mit Beginn dieser Phase eine GAA-Dosis von 0,3 mmol/kg KM/Tag mit dem Futter verabreicht. Das bereits abgewogene Pulver wurde in Wasser gelöst und unmittelbar vor dem Verzehr über das Trockenfutter gegeben. Auf einen restlosen Verzehr der Ration wurde stets geachtet.

Die Anfütterungsphase diente dazu, nach der Anflutung von GAA und der Auffüllung der Körperspeicher einen konstanten Pegel zu erreichen. In der auf diese Phase folgenden Messphase „untrainiert III“ (supplementiert) sollte der isolierte Effekt von GAA auf sämtliche untersuchten Parameter in untrainiertem Zustand überprüft werden. Im Anschluss erhielten die Tiere ein sechswöchiges Laufbandtraining mit GAA-Supplementierung, das nach demselben Trainingsprotokoll erfolgte wie die Trainingsphase I.

3.2.6 Messungen

In den Messphasen wurden sämtliche Parameter unter den entsprechenden Trainingsbedingungen gemessen.

3.2.6.1 Sauerstoffverbrauchs- und Herzfrequenzmessungen

Die Sauerstoffverbrauchs- und Herzfrequenzmessungen erfolgten stets parallel und in nüchternem Zustand, d.h. die letzte Fütterung lag mindestens 14 h zurück. In jeder Trainingsphase wurden mindestens drei Wiederholungsmessungen je Hund durchgeführt. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die einzelnen Hunde jeweils annähernd zur glei-

chen Tageszeit gemessen wurden. Da für die Auswertung der Sauerstoffverbrauchs-messungen vor allem der massenspezifische Wert von Interesse war, wurde das in der Software (MetaSoft, STATERA-Edition) hinterlegte Gewicht jedes Hundes wöchentlich aktualisiert.

3.2.6.2 Sauerstoffverbrauch

Der Sauerstoffverbrauch ($\dot{V}O_2$) wurde mit einem tragbaren, mobilen Spiroergometer (MetaMax 3X, Cortex Biomedical GmbH, Leipzig, Deutschland) gemessen. Es besteht aus einer Basiseinheit (120 x 110 x 45 mm, 570 g ohne Akku) und einem Volumensensor (Triple®-V, Genauigkeit $\pm 2\%$), der auf eine luftdichte Atemmaske aufgesteckt wird. Die Basiseinheit und der Volumensensor werden mit einer Absaugstrecke für die Entnahme der Atemgasproben verbunden. Die Basiseinheit beinhaltet eine Pumpe um die Atemgasproben aus der Maske zu entnehmen, die Elektronik des Volumensensors, einen CO_2 - sowie einen O_2 -Sensor (Genauigkeit $\pm 0,1\text{ Vol.}\%$). Die Analyse der Atemgasproben erfolgte im zehner-Sekunden-Takt im Basisgerät über ein Mischkammersystem. Ein darüber hinaus enthaltener Datenlogger zeichnet die Daten auf und übermittelt sie über einen kabellosen Sender direkt an einen PC, auf dem sie mit der firmeneigenen Software angezeigt und analysiert werden können. .

Das System ist ursprünglich für den Gebrauch am Menschen entworfen. Deshalb sind viele Messparameter in der Software auf die Physiologie des Menschen ausgelegt (Atemfrequenz, Atemzugvolumen). Messwerte, die außerhalb des für Menschen typischen Messbereiches liegen, werden von der Original-Software automatisch als Messfehler eliminiert. Daher wurde die Software in Zusammenarbeit mit der Herstellerfirma speziell für den Gebrauch an Hunden angepasst. Der untere Grenzwert für das Atemzugvolumen wurde auf 100 ml gesetzt und der Grenzwert für die maximale Atemfrequenz wurde auf 240 Atemzüge/Minute gesetzt. Hunde erreichen beim Hecheln Atemfrequenzen, die den physiologischen Bereich des Menschen weit übersteigen. Beim Atemzugvolumen verhält es sich genau umgekehrt. Da das Hecheln eine Totraumatemung zur Thermoregulation darstellt, wird die Atmung flacher und das geatmete Volumen sehr viel geringer als es bei einem erwachsenen Menschen unter physiologischen Bedingungen zu erwarten wäre. Bei den Ruhe- und Belastungsmessungen kamen zwei verschiedenen große Atemmasken zum Einsatz (Abb. 7)

Für den Einsatz am Hund wurde eine adäquate Atemmaske entwickelt. Die luftdichte Atemmaske wurde speziell für Hunde dieser Größe konstruiert, wobei besonderes Augenmerk darauf gelegt wurde, dass die Hunde den Fang öffnen und hecheln konnten. Die Atemmaske besteht aus einem plastikummantelten Drahtbeißkorb, der mit einer luftundurchlässigen Ummantelung (tesa Universal Gewebepack extra Power, tesa SE, Hamburg, Deutschland) versehen und mit Glatthautneopren an die Form der Hundeschnauze angepasst wurde (Abb. 7).

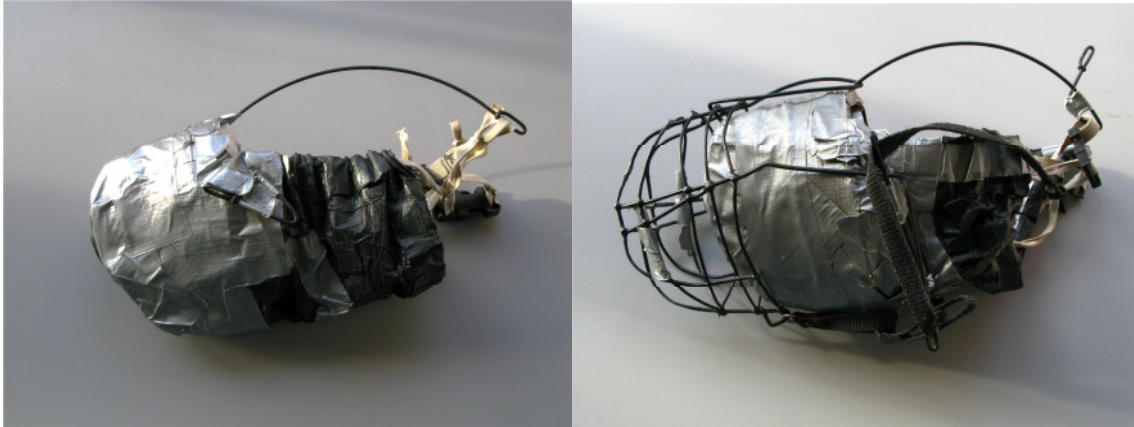


Abb. 7: Atemmaske für Ruhemessungen (links), etwas größere Atemmaske mit Sensorschutz (ohne Volumen-Sensor) für Belastungsmessungen (rechts).

Für die Ruhemessungen wurde stets die kleinere, für die Belastungsmessungen auf dem Laufband die größere Maske in Kombination mit einem Sensorschutz eingesetzt. Das Respirometrie-Messgerät ist so kompakt, dass Atemmaske und Messgerät während der Belastungsmessungen von allen Hunden ohne Einschränkung in der Bewegungsfreiheit getragen werden konnten. Das Grundgerät wurde dazu in einem Rucksack auf dem Rücken der Hunde befestigt (Abb. 8).



Abb. 8: Anordnung der Messgeräte am Hund während den Belastungsmessungen, (links) Atemmaske mit Sensorschutz, (rechts) Grundgerät im Rucksack auf dem Rücken des Hundes.

Vor jeder Einzelmessung wurde eine Umgebungsluftmessung durchgeführt, hierbei wurden die ermittelten Werte mit den in der Software hinterlegten Sollwerten abgeglichen. Auf diese Weise wurde eine fehlerhafte Messung, zum Beispiel aufgrund eines defekten Sensors, verhindert. Zusätzlich wurde wöchentlich eine Kalibration des Luftdruck-sensors, des Volumensensors und des Sauerstoffsensors nach Herstellerangaben durchgeführt. Alle zur Kalibration verwendeten Geräte sind im Cortex-Kalibrier-Set (Cortex; Calibration Kit, CPX Systems CE 0124) enthalten.

3.2.6.3 Herzfrequenz

Die Messung der Herzfrequenz (HF) wurde mittels einer POLAR-Uhr (Modell POLAR S610i, Polar Electro GmbH, Büttelborn) und einem POLAR-Herzfrequenz-Gurt durchgeführt. In dem elastischen Herzfrequenz-Gurt sind zwei Messelektroden und ein Sender integriert. Die Elektroden übermitteln die HF-Signale drahtlos an die POLAR-Uhr. Diese wurden in fünf-Sekunden Intervallen abgespeichert und anschließend am PC mit der Software (Polar Precision Performance SW, Polar Electro GmbH, Büttelborn) über eine Infrarot-Schnittstelle ausgelesen und weiterverarbeitet. Da in den Auswertungsschritten die HF-Daten zusammen mit den $\dot{V}O_2$ -Werten analysiert wurden, mussten die HF-Werte zunächst von fünf-Sekunden-Intervallen in zehn-Sekunden-Intervalle zusammengefasst werden.

Um einen ausreichenden Kontakt des Herzfrequenz-Gurtes mit der Körperoberfläche des Hundes zu gewährleisten, wurden die Elektroden des Gurtes und die Kontaktzone am Brustkorb der Hunde vor dem Anlegen mit Ultraschallgel (Gelbildner PNC 400) benetzt. Beim Anlegen des Gurtes wurde darauf geachtet, dass sich der Sender immer auf der linken Brustkorbseite unmittelbar hinter dem Ellbogengelenk oberhalb des Sternums befand. Um bei den Belastungsmessungen ein Verrutschen des Herzfrequenz-Gurtes nach hinten zu verhindern, wurde zusätzlich ein Brustgurt angebracht.

3.2.6.4 Sauerstoff- und Herzfrequenzmessungen in Ruhe

Die Ruhemessungen erfolgten über eine Dauer von mindestens 30 min je Hund und wurden entsprechend verlängert, wenn es zu Unterbrechungen bzw. Unruhe kam. Die Hunde befanden sich dabei vorzugsweise in Bauch- oder Seitenlage, aber auch in sitzender Position. Um unnötige Aufregung während den Ruhemessungen zu vermeiden, wurden sämtliche Messungen am gleichen Platz und in ruhiger Atmosphäre durchgeführt.

Vor Beginn der Ruhemessungen wurden dem Hund der POLAR-Brustgurt und die POLAR-Uhr für die HF-Messungen angelegt und ebenso die Atemmaske mit Volumensensor für die $\dot{V}O_2$ -Messungen; das Messgerät lag währenddessen neben dem Hund (Abb. 9). Der Untersuchende befand sich während der gesamten Messung direkt bei den Hunden.



Abb. 9: FBI-Hündin „Trisha“ während einer Ruhemessung.

Sowohl $\dot{V}O_2$ - als auch HF-Daten wurden mit der entsprechenden Software ausgelesen und in Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corp., USA) exportiert. Für die weitere Analyse der $\dot{V}O_2$ -Daten wurden ausschließlich die Werte der relativen bzw. massenspezifischen $\dot{V}O_2$ (ml/min/kg) verwendet. Alle Werte einer Messung wurden fortlaufend über fünf Minuten gemittelt und der minimale 5-Minuten-Mittelwert abgespeichert. Anschließend wurde für jeden Hund der Durchschnitt sämtlicher 5-Minuten-Minima einer Messperiode, in der Regel aus drei Messwerten bestehend, berechnet. Diese Mittelwerte verschiedener Messphasen wurden mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung (univariate RM ANOVA) auf signifikante Unterschiede geprüft. Die Trainings- und Supplementierungszustände stellten dabei die Messwiederholungen dar.

3.2.6.5 Sauerstoff- und Herzfrequenzmessungen unter Belastung

Um sowohl die Leistungsfähigkeit der Hunde, als auch die maximale Anhebung des Stoffwechsels der Tiere unter standardisierten Bedingungen messen zu können, wurden zwei verschiedene Belastungstests etabliert:

3.2.6.5.1 Schwellentest

Der Schwellentest ermöglichte die Evaluierung der Leistungsfähigkeit der Hunde bei drei verschiedenen Geschwindigkeiten. Zu Beginn wurde eine 5-minütige Ruhemessung durchgeführt, um einen Ruhe-Basiswert zu erhalten. Anschließend liefen die Hunde aufeinanderfolgend jeweils 5 Minuten bei einer Geschwindigkeit von 5, 10 und 15 km/h. Bei 5 km/h zeigten die Tiere einen zügigen Schritt, bei 10 km/h einen regelmäßigen Trab und bei 15 km/h einen raumgreifenden Trab und sehr selten einen Galopp. In den letzten 15 Sekunden vor Beendigung einer 5-Minuten-Schwelle wurde die Laufgeschwindigkeit stetig bis zum Erreichen der nächst höheren Geschwindigkeit erhöht. Nach Beendigung der 15 km/h-Schwelle bzw. bei vorzeitigem Abbrechen durch den Hund wurde das Laufband gestoppt und eine 10-minütige Erholungsmessung angeschlossen. Die Erholungsmessungen sollten Aufschluss darüber geben, wie schnell die Hunde nach der Be-

lastung wieder zu dem vor der Belastung gemessenen Ruhe-Basis-Wert zurückkehrten. Die Erholungsmessung fand ebenso wie die 5-minütige Ruhemessung zu Beginn des Schwellentests an dem Platz statt, an dem sonst die 30-minütigen Ruhemessungen durchgeführt wurden.

Zur Analyse des Sauerstoffverbrauchs während des Schwellentests wurden von jeder 5-Minuten-Schwelle die jeweils letzten 2 Minuten herangezogen. Diese Zeitspanne wurde ausgewählt, da zu Beginn einer jeden Schwelle der Sauerstoffverbrauch meist leicht erhöht ist, nach ca. 3 Minuten jedoch wieder absinkt und über die letzten 2 Minuten relativ konstant bleibt (Abb. 10). Für jeden Hund und jede der drei Laufgeschwindigkeiten wurden die 2-Minuten-Mittelwerte einer Messphase, in der Regel aus 3 Einzelmessungen, zu einem Durchschnittswert zusammengefasst. Diese Durchschnittswerte aller Hunde wurden getrennt nach Laufgeschwindigkeit in einer univariaten RM ANOVA mit denen anderer Messphasen verglichen.

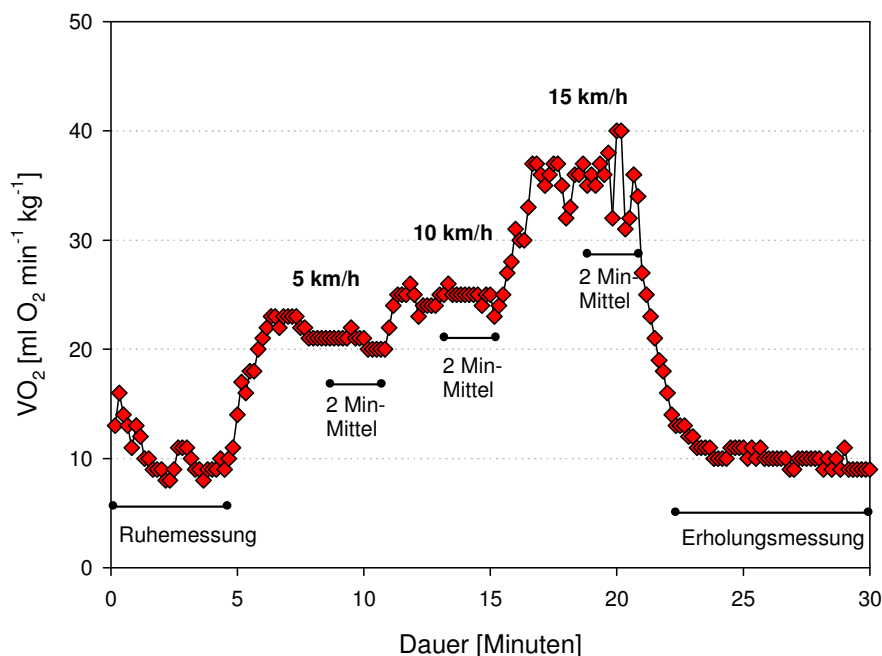


Abb. 10: Typische Verlaufskurve des Sauerstoffverbrauchs ($\dot{V}O_2$) während des Schwellentests. Auswertung der 2-Minuten Mittelwerte bei den Geschwindigkeiten 5, 10 und 15 km/h.

3.2.6.5.2 Maximaltest

Der Maximaltest diente dazu, die maximale Anhebung des Stoffwechsels der Hunde zu messen. Wie beim Schwellentest wurde zu Beginn des Maximaltests eine 5-minütige Ruhemessung durchgeführt. Anschließend mussten die Tiere bei einer konstanten Geschwindigkeit von 16,5 km/h so lange auf dem Laufband laufen, bis sie deutliche Ermüdungserscheinungen zeigten, d.h. sich zum Ende des Laufbands zurückfallen ließen, stark hechelten oder ein Weiterlaufen verweigerten. Dann wurde das Laufband angehalten und die Hunde für eine Erholungsmessung vom Laufband zu dem Platz geführt, an dem die Ruhemessungen stattfanden. Die Zeit vom Anschalten des Laufbandes bis zum Erreichen der festgelegten Höchstgeschwindigkeit wurde standardisiert. Innerhalb der ersten Minute sollten die Tiere eine Geschwindigkeit von 10 km/h erreichen, innerhalb

der zweiten Minute dann die Höchstgeschwindigkeit von 16,5 km/h.

Die Analysen der $\dot{V}O_2$ - und HF-Daten des Maximaltests wurden identisch durchgeführt, dazu wurden mehrere Parameter festgelegt. So wurde der höchste Wert („peak“), der während des Laufens bei 16,5 km/h erreicht wurde und der Wert („end“), bei dem die Tiere Ermüdungserscheinungen zeigten, ermittelt. Außerdem wurde der Mittelwert aus den bei 16,5 km/h gemessenen Werten gebildet sowie die Laufdauer bei dieser Geschwindigkeit protokolliert. Die Werte, die während des Laufs bei 16,5 km/h aufgezeichnet wurden, stiegen über die gesamte Laufdauer an bzw. fielen ab. Um diese Änderung über die Zeit erfassen zu können, wurde eine Regressionsgerade durch die gemessenen Werte gelegt und deren Steigung protokolliert (Abb. 11).

Für jeden Hund wurde der Mittelwert eines jeden Parameters aus den drei Maximaltests, die während einer Messphase absolviert wurden, errechnet. Die Werte der einzelnen Messphasen wurden anschließend mit einer univariaten RM ANOVA analysiert.

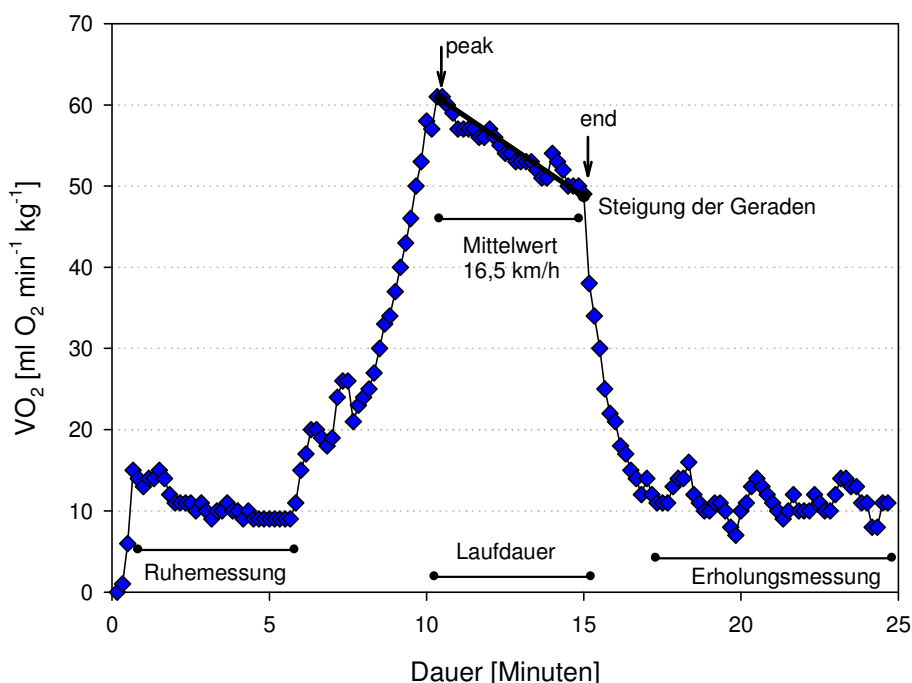


Abb. 11: Typische Verlaufskurve des Sauerstoffverbrauchs ($\dot{V}O_2$) während des Maximaltests. Auswertung der Parameter „peak“, „end“, „Mittelwert 16,5 km/h“, „Laufdauer“ und „Steigung der Geraden“.

3.2.6.6 Echokardiographie

Um Auswirkungen des Ausdauertrainings auf den kardiovaskulären Versorgungsapparat zu erfassen, wurde eine vollständige Echokardiographie mit drei Wiederholungsmessungen am stehenden Hund durchgeführt.

Die Echokardiographie wurden mit Hilfe einem Sonosite Titan (SonoSite, Bothell, WA, USA) durchgeführt. Es wurde ein kardiologischer Konvexschallkopf (C11) mit einem Frequenzbereich von 5 - 8 MHz und einer maximalen Eindringtiefe von 10 cm verwendet. Um eine Signalübertragung zwischen Schallkopf und Brustkorb herzustellen, wurde Ultraschallgel (Gelbildner PNC 400) verwendet.

Die im Sonosite Titan gespeicherten Bilder wurden mit Site Link Image Manager (Version 2.2.1, Sonosite, USA) auf einen Computer übertragen und zur späteren Bearbeitung

abgespeichert. Für jeden Hund wurden 3 Bilder einer Messphase ausgewählt, vermessen und der Mittelwert der Messwerte gebildet. Die Vermessung der Wand des linken Ventrikels und des Septums wurde mit SigmaScanPro (Version 5, Jandel Scientific, SPSS Inc., Chicago, USA Schriftgröße) durchgeführt. Die Messwerte wurden anschließend in Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., USA) exportiert und von Pixel entsprechend der gewählten Eindringtiefe in mm umgerechnet. Die Mittelwerte aller Hunde wurden mit Hilfe einer univariaten RM ANOVA mit den Ergebnissen der anderen Messphasen verglichen.

3.2.6.6.1 Vermessung linker Ventrikel

Die Vermessung des linken Ventrikels wurde von der rechten Seite des Brustkorbs (rechts parasternal, Kurzachse) durchgeführt. Auf Höhe der Chordae tendinae wurde unter Verwendung der Darstellungsform M-Mode die Wanddicke des linken Ventrikels in Systole (LVs) und Diastole (LVd) sowie die Dicke des Septums in Systole (Ss) und Diastole (Sd) gemessen (Abb. 12, A).

3.2.6.6.2 Volumenfluss

Das Schlagvolumen (SV), das Geschwindigkeits-Zeit-Integral („velocity-time-integral“, VTI), die maximale Flussgeschwindigkeit (Vmax) sowie der Aortendurchmesser (LVOT) wurden von der linken Seite des Brustkorbs (links parasternal, Längsachse) gemessen. Unter Verwendung des „continuous wave“ (CW) Dopplers wurden SV, VTI und Vmax bestimmt. Der LVOT wurde in der Darstellungsform brightness modulation (B-Mode) gemessen (Abb. 12, B).

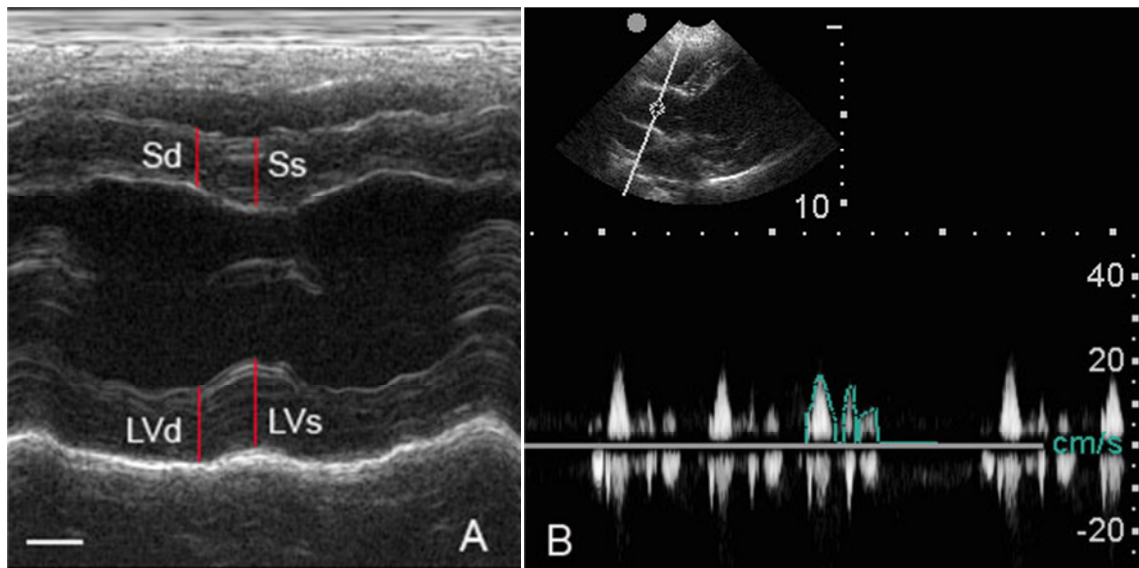


Abb. 12: M-Modus Echokardiographie. (A) Vermessung des linken Ventrikels und des Septums in Diastole (LVd, Sd) und Systole (LVs, Ss); (B) Messung der Volumenfluss-Parameter (SV, VTI, Vmax). Messbalken, 1 cm.

3.2.6.7 Muskelultraschall

Die Messung der Muskeldicke ausgewählter Lokomotionsmuskeln an Vorder- und Hintergliedmaße fand an jeweils drei Tagen statt, wobei an jedem einzelnen Messtag je Hund und Muskel drei Messungen durchgeführt wurden. Die Messungen wurden im Stehen an der linken Körperhälfte mit Hilfe eines Ultraschallgerätes (Titan, SonoSite, Bothell, WA USA) und einem linearen Breitband-Schallkopf (7,5 - 10 MHz) durchgeführt. An der Vordergliedmaße wurde die Schulterblattmuskulatur (M. supraspinatus (SS), M. infraspinatus (IS)) in der Mitte der Länge der Spina scapulae (SC) des Schulterblattes und die Oberarmmuskulatur (M. brachialis (BR) mit Anteilen des M. triceps brachii) genau in der Mitte der Länge des Oberarms gemessen. An der Hintergliedmaße wurde die Oberschenkelmuskulatur (M. biceps femoris mit Anteilen des M. vastus lateralis des M. quadriceps femoris (QC)) exakt in der Mitte der Länge des Oberschenkels und die Lendenmuskulatur (M. longissimus lumborum (LL) mit Anteilen des M. iliocostalis lumborum und dem Lendenteil des M. obliquus externus abdominis) auf Höhe des Dornfortsatzes des 6. Lendenwirbels gemessen. Um reproduzierbare Ergebnisse zu gewährleisten, wurden an den Punkten, an denen die Messungen vorgenommen wurden, mit einer Schermaschine eine sichtbare Markierung ins Fell geschoren. An dieser Stelle wurden die Ultraschallmessungen senkrecht zur Längsachse des jeweiligen Knochens durchgeführt, an der Lendenmuskulatur senkrecht zur Wirbelsäule, den Schallkopf ca. 20° nach lateral gekippt.

Die aufgezeichneten Bilder wurden mit Site Link Image Manager (Version 2.2.1, SonoSite, USA) auf einen Computer übertragen und zur weiteren Bearbeitung abgespeichert. Für jeden Hund wurden je Messtag und untersuchtem Muskel jeweils 3 Bilder ausgewählt, vermessen und ein Mittelwert der Messwerte gebildet. Aus den drei Mittelwerten der einzelnen Messtage eines Hundes wurde dann jeweils ein Gesamtmittelwert gebildet. Die Gesamtmittelwerte der untersuchten Hunde aus verschiedenen Messphasen wurden mit einer univariaten RM ANOVA statistisch analysiert.

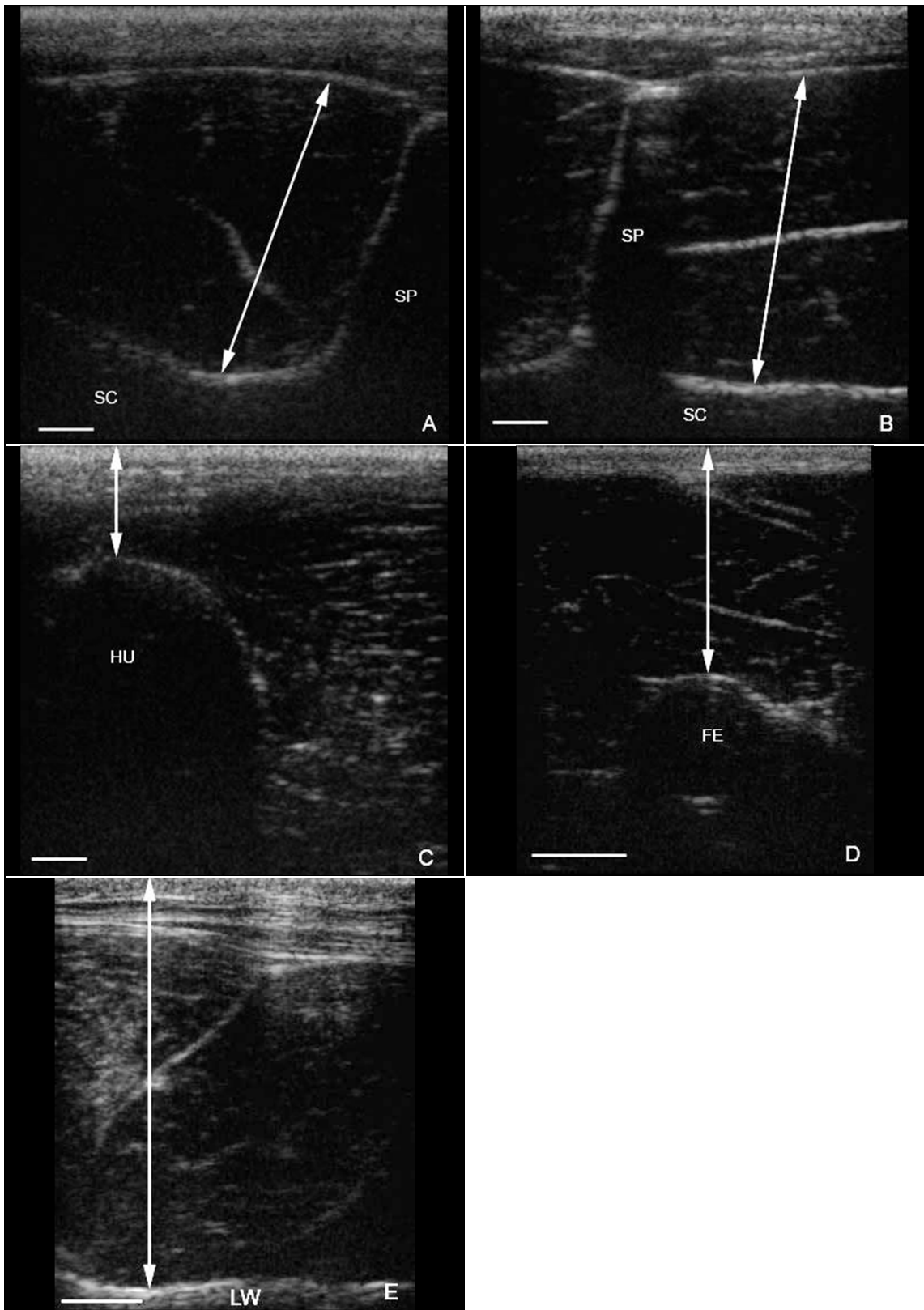


Abb. 13: Ultraschallbilder der Messstellen und Muskeldickemessungen des (A) *M. supraspinatus* und (B) *M. infraspinatus* über der Scapula (SC), caudal bzw. cranial begrenzt von der Spina scapulae (SP). (C) Muskeln (*M. brachialis* und *M. triceps brachii*) lateral des Humerus (HU). (D) Muskeln (*M. biceps femoris*, *M. vastus lateralis* und *M. quadriceps femoris*) lateral des Femurs, und (E) Muskeln (*M. longissimus lumborum* und *M. iliocostalis lumborum*) dorsolateral des 6. Lendenwirbels (LW): Die gemessene Distanz vom Knochen (A, B: Scapula (SC); C: Humerus (HU); D: Femur (FE); E: Wirbelkörper des 6. Lendenwirbels (LW)) ist durch weiße Pfeile gekennzeichnet. Hautschichten sind am oberen Bildrand sichtbar. Messbalken, 1 cm.

3.2.6.8 Muskelbiopsien

Um den Kreatingehalt in der Muskulatur bestimmen zu können wurden während der GAA-Supplementierung in untrainiertem und trainiertem Zustand und nach einer 4-monatigen Unterbrechung der Supplementierung und des Trainings Muskelbiopsien entnommen. Es wurde eine halbautomatische, programmierbare 14 gauge Biopsienadel mit einer Stiletthöhle von 1,5 cm Länge (Achieve, 5 cm Länge; Cardinal Health, McGaw Park, USA) zur Entnahme der Proben aus dem Hinterbein (M. adductor magnus) verwendet. Die Biopsien wurden nach der Methode von Bergström (1962) am stehenden Hund unter Lokalanästhesie (2-3 ml Lidocainhydrochlorid 2 %, Infiltration) von caudal aus dem Muskelbauch des M. adductor magnus entnommen. Anschließend wurden die Proben innerhalb von 15 Sekunden aus der Biopsienadel in ein Cryo-Micro-Test-Tube (Eppendorf GmbH, Deutschland) überführt und in flüssigen Stickstoff gegeben. Sämtliche Proben wurden bis zur Analyse bei -80 °C aufbewahrt.

Die Hunde erhielten im Anschluss an die Probenentnahme drei Tage lang Meloxicam (Metacam, Boeringer Ingelheim GmbH, Schweiz) zur Analgesie und anti-inflammatorischen Wirkung.

Die Extraktion der Proben sowie die Analyse von Kreatin, Kreatinphosphat, Gesamtkreatin und ATP wurden von Tim Constantin-Teodosiu an der Universität von Nottingham nach Harris et al. (1974) durchgeführt.

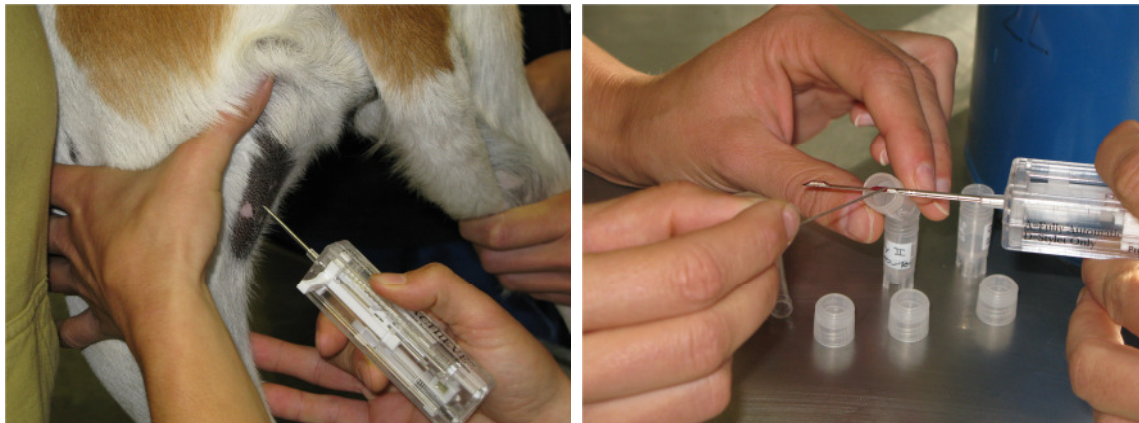


Abb. 14: Entnahmestelle der Muskelbiopsien und Überführung der entnommenen Biopsie in Cryo-Micro-Test-Tubes.

3.2.6.9 Comet Assay

Zur Bewertung der in vivo Schädigung der DNA durch oxidativen Stress unter Belastungsbedingungen wurden Comet Assays (Einzelzellgel-Elektrophoresen) durchgeführt. Der Comet Assay wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Michael Gröger, Sektion Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung, Universitätsklinikum Ulm, durchgeführt. Dieser übernahm auch die Auswertung der fertigen Objektträger. Sämtliche Verarbeitungsschritte der entnommenen Blutproben sowie die Herstellung der verwendeten Lösungen wurden nach dem in Ulm etablierten Protokoll durchgeführt (Abb. 15). Die Dauer der Alkalidenaturierung sowie der Elektrophorese wurden nach einigen Probeläufen, in Absprache mit Dr. Michael Gröger, für die Verwendung von gerinnungsgehemmtem Hunde-Vollblut modifiziert (Anhang 9.1).

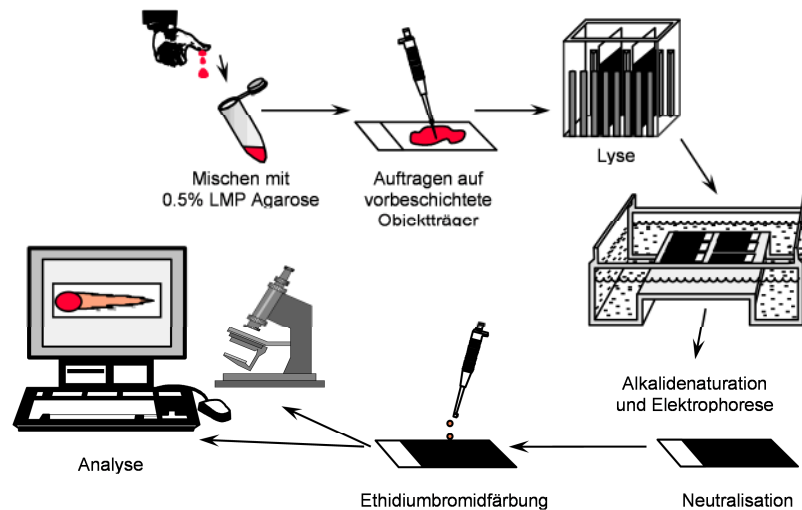


Abb. 15: Schematischer Ablauf des Comet Assays (Einzelzell-Gelelektrophorese) in der alkalischen Version (verändert nach Speit & Hartmann (1999)). LMP-Agarose: low melting point Agarose.

Um die DNA-Schädigung durch oxidativen Stress messen zu können wurde den Hunden unmittelbar vor der Belastung (Min 0), unmittelbar nach dem Absolvieren eines Schwelentest (3.2.6.5) (Min 15) und zwei Stunden nach Belastungsende (Min 120) Blut abgenommen.

In Abb. 16 ist das Ergebnis eines Comet Assays beispielhaft dargestellt. Der abgebildete Kometenschweif entsteht dadurch, dass chromosomale DNA aus dem Bereich des Kometenkopfs bzw. des ehemaligen Zellkernes in Richtung Anode wandert. Anhand des Tailmoments wird der Grad der DNA-Schädigung bestimmt. Als Tailmoment bezeichnet man das Produkt aus der relativen Fluoreszenzintensität des Kometenschweifes gegenüber dem Kometenkopf und der auf den Schwerpunkt des Kopfes korrigierten Wanderungslänge der DNA.

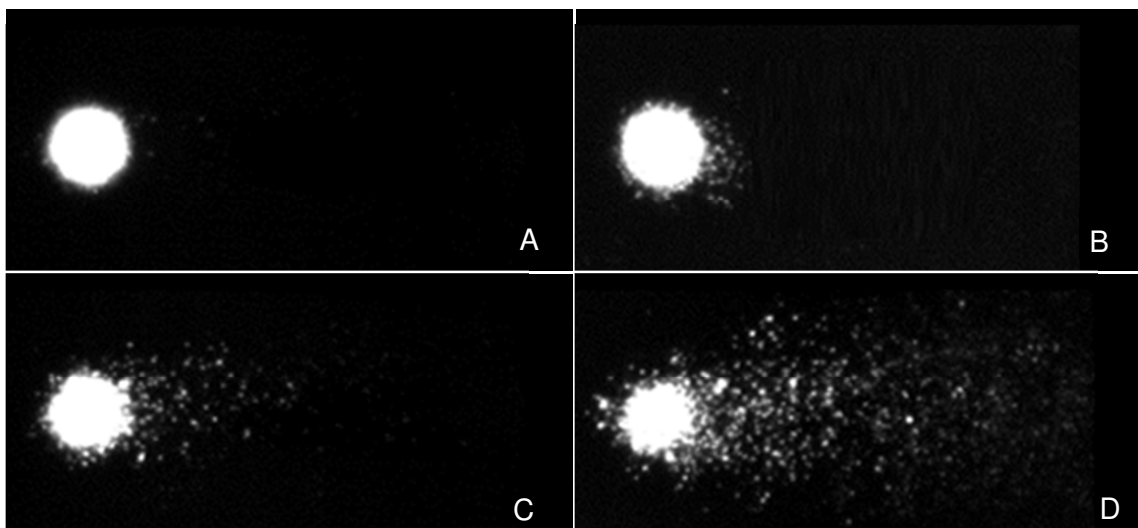


Abb. 16: Ergebnisse des Comet Assays bei unterschiedlich starken DNA-Schädigungsgraden (verändert nach Gröger (2007)). Im mikroskopischen Bild erkennt man bei einer 400fachen Vergrößerung einen „Kometen“, wobei es sich beim „Kometenkopf“ um den ursprünglichen Zellkern und beim „Kometenschweif“ um die in Richtung Anode gewanderte chromosomale DNA handelt. (A) ungeschädigte (Tailmoment $\sim 0,1$), (B) schwach geschädigte (Tailmoment $\sim 0,4$), (C) mittel geschädigte (Tailmoment $\sim 0,8$) und (D) stark geschädigte DNA (Tailmoment > 1).

3.2.6.10 Aktivität

Um einen möglichen kompensatorischen Effekt von Training (und Temperatur) auf die Gesamtaktivität der Hunde festzustellen wurden „Accelerometer“ eingesetzt. Das sind piezoelektrische Geräte, die die Beschleunigung der Tiere und somit deren Aktivität aufzeichnen. Die aufgezeichnete Beschleunigung wird dabei in g oder mg , als Vielfaches oder Bruchteil des Mittelwertes der Erdbeschleunigung angegeben, anstatt in der sonst üblichen SI-Einheit ms^{-2} .

Für diese Studie mussten Geräte von zwei verschiedenen Herstellern verwendet werden. Obwohl die Geräte so klein sind, dass sie von den Tieren am Halsband getragen werden können und zum Schutz vor der Zerstörung durch Hundezähne in Aluminiumgehäusen untergebracht wurden, gelang es den Hunden einige Geräte zu zerstören. Daher wurden zu Beginn der Studie ActiTracs (IM Systems, Inc., Baltimore, USA) verwendet und diese ab Mitte Dezember 2009 komplett durch Acticals (Philips Healthcare, Andover, USA) ersetzt.

Bauartbedingt unterscheiden sich die beiden Messgeräte in der Art der Aufzeichnung und Auswertung. Bei den ActiTracs wird die Aktivität bidirektional erfasst und mit 40 Hz mit einer Messgenauigkeit von 0,012 g aufgezeichnet. Die Geräte wurden so eingestellt, dass ein kumulativer Wert über eine Minute gebildet wurde. Die Sensibilität der ActiTracs konnte an den jeweiligen Einsatzbereich angepasst werden, indem man den unteren Schwellenwert (0,312 - 20,0 mg) veränderte. Nach einigen Vorversuchen wurde dieser Wert auf 2,5 mg festgelegt. Der Lichtsensor wurde ausgeschaltet. Da nicht ausreichend ActiTracs zur Verfügung standen um jeden Hund damit zu bestücken, wurden die Geräte im Wochenrhythmus ausgelesen und ausgetauscht. Das Auslesen und Initialisieren der Geräte erfolgte mit einem Adapter und der Software des Herstellers (Version 8.5.5, IM Systems, Inc., Baltimore, MD, USA). Die Daten können unter Angabe der Beschleunigung in mg oder in Activity Counts ausgelesen werden, wobei ausschließlich Activity Counts zur weiteren Aufarbeitung verwendet wurden.

Acticals zeichnet eine omnidirektionale Beschleunigung auf, der Messbereich erstreckt sich von 0,05 bis 2 g . Am sensibelsten reagieren die Geräte jedoch auf Bewegungen in der Längs- und Querachse der Geräte. In jedem Gerät ist ein piezo-elektrischer Sensor enthalten, der, sobald sich die Beschleunigung ändert, eine Spannung erzeugt. Über einen 32 Hz Analog-zu-Digital Konverter wird ein kumulativer Aktivitätswert über 1 Sekunde gebildet. Um diese Geräte auszulesen und zu initialisieren wurde ein drahtloses Übertragungsgerät (ActiReader) in Kombination mit der Software des Herstellers (Actical Software, Version 2.12) verwendet. Die Daten konnten ausschließlich im Dateiformat Activity Count ausgelesen werden. Da von diesen Geräten eine ausreichende Anzahl zur Verfügung stand, trugen alle Hunde über den restlichen Versuchszeitraum eines am Halsband. Die Geräte wurden im Abstand von 2 Monaten ausgelesen und neu gestartet. Um die Messwerte der beiden Geräte vergleichen zu können wurden für eine Woche jeweils beide Geräte an einem Hund angebracht, dies wurde bei allen Hunden so gehandhabt. Anschließend sollte anhand einer Regressionsrechnung die Umrechnung der ActiTrac-Werte in Actical-Werte ermöglicht werden. Die Streuung vor allem in den unteren Bereichen war jedoch zu groß, um ein belastbares Modell zu erstellen. Dies ist ver-

mutlich auf den unterschiedlichen unteren Schwellenwert der Geräte zurück zu führen (ActiTrac 2,5 mg, Actical 0,05 g). Die folgenden Analysen wurden daher ausschließlich mit den Actical-Daten aus der zweiten Studiehälfte durchgeführt.

Zur Aktivitätsanalyse wurden Activity Counts pro Minute verwendet, die sich aus der Summe der aufgezeichneten 1-Sekunden-Werte ergaben. Da sich die Hunde von 7:00 bis 15:30 Uhr in den Freiläufen aufhielten wurde dieser Zeitraum für die Datenerhebung der Aktivität festgelegt. Die Minutenwerte wurden über diesen Zeitraum aufsummiert und in Activity Counts/Stunde umgerechnet. Auf diese Weise konnten die Aktivitätswerte der einzelnen Mess- und Trainingsphasen sowie der Trainingspause miteinander verglichen werden.

Bei der Analyse der „freien Aktivität“ wurden die Aktivitätswerte, die während des Laufbandtrainings oder den Messungen aufgezeichnet wurden, ausgeschlossen. Es wurden also nur die Minutenwerte berücksichtigt, bei deren Aufzeichnung sich die Hunde im Freigehege befanden.

Während der Trainingsphase wurden zusätzlich die Aktivitätswerte während des Trainings, die sog. „Aktivität Training“ berücksichtigt. Es wurden ausschließlich die Werte summiert, während deren Aufzeichnung das Tier ein Laufbandtraining absolvierte.

Sämtliche Tageswerte eines Hundes wurden über die einzelnen Trainings- bzw. Messphasen gemittelt. Die Tagesmittel aller Hunde wurden dann phasenweise in einer univariaten ANOVA miteinander verglichen. Ebenso wurden die Ergebnisse „freie Aktivität“ und „Aktivität Training“ aus der Trainingsphase verglichen.

3.2.6.11 Temperatur

Sowohl die Innen- als auch die Außentemperatur in der direkten Umgebung der Hunde wurden stündlich über den gesamten Versuchszeitraum aufgezeichnet. Dazu wurden Temperatur-Datenlogger (i-Button DS2422, Maxim Integrated Products, Inc., USA) verwendet. Im Außenbereich wurden die Datenlogger in einem schattigen Bereich des Auslaufs an einer Holzwand fixiert. Im Innenbereich wurde ein i-Button im Hundestall und einer in der Nähe des Laufbands bzw. des Bereichs, in dem die Ruhemessungen durchgeführt wurden, angebracht.

Ein i-Button besteht aus einem Edelstahlgehäuse, ähnlich einer Knopfzellenbatterie und beinhaltet einen „On-Chip Direct-to-Digital“ Temperatur Konverter mit einer Auflösung von 11-Bit (0,0625 °C). Die Temperatur-Datenlogger haben einen Messbereich von -40 °C bis +85 °C. Die Daten wurden mit einer speziellen Software (OneWireViewer, Version 3.13.40) ausgelesen und am PC weiter verarbeitet. Aus den stündlichen Temperaturwerten wurden für die einzelnen Messphasen Tagesmittelwerte (8 - 18 Uhr) berechnet und in einer ANOVA miteinander verglichen.

3.2.6.12 Blutentnahmen

Um den Gesundheitsstatus der Tiere zu überprüfen wurden ab der Messphase untrainiert II regelmäßig Blutproben (heparinisiertes Vollblut, Serum und Blutausstriche) zur Analyse der klinischen Chemie und Hämatologie an das Idexx Vet Med Labor (Vet Med Labor GmbH Division of IDEXX Laboratories, Ludwigsburg, Deutschland) geschickt.

Um den Gehalt von GAA und dessen Stoffwechselprodukten im Blut bestimmen zu können wurden Blutproben (Serum und Plasma auf Trockeneis) zur Analyse von Kreatin, Kreatinin, GAA und Homocystein an das Medizinische Labor Bremen, Prof. Dr. med. W. N. Kühn-Velten geschickt. Bei der Entnahme der Blutproben wurde auf einen zügigen Ablauf und unmittelbares Kühlen nach der Blutentnahme geachtet. Sobald das Blut fertig verarbeitet war, wurde es auf Trockeneis gelegt.

3.3 Statistische Analyseverfahren

Sämtliche Berechnungen, statistische Auswertungen sowie Tabellen- und graphische Darstellungen der erhobenen Daten erfolgten mit den Programmen Microsoft Word 2010 (Microsoft Corp., USA), Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., USA), SigmaPlot 10.0 (Systat Software Inc., USA), SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., USA) und SPSS 17.0. (SPSS Inc, USA).

3.3.1 Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch

Um eine Korrelation von HF und $\dot{V}O_2$ bei FBI-Hunden aufzuzeigen wurde für jeden Trainingszustand (nicht supplementiert: „untrainiert I+II“, „trainiert I“; supplementiert: „untrainiert III“, „trainiert I“) eine Korrelationsanalyse durchgeführt.

Anschließend wurde, für jeden Trainingszustand separat, eine univariate Regressionsanalyse durchgeführt, wobei der $\dot{V}O_2$ in Abhängigkeit von der HF aufgetragen wurde. Die Regressionsgeraden wurden in einer univariaten ANOVA miteinander verglichen. Bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Regressionsgeraden, wurden diese Trainingszustände in einem Graphen zusammengefasst.

3.3.2 Analyse der Trainings- und Supplementierungseffekte

Für die statistische Analyse einer Messung wurden für jeden Hund die Gesamtmittelwerte der Messwiederholungen eines jeden Parameters gebildet. Wurden bei den einzelnen Messwiederholungen mehrere Messungen durchgeführt, wurde aus diesen Messwerten zuvor ein Mittelwert gebildet und für die weiteren Schritte der Gesamtmittelwert aus den Messwiederholungen verwendet. Um die Trainings- und Supplementierungszustände miteinander vergleichen zu können wurden die Gesamtmittelwerte aller Hunde einer Gruppe (Versuchs- oder Kontrollgruppe) getrennt nach Parametern statistisch analysiert. Die Daten wurden zunächst auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov) und Varianzhomogenität (Levene-Test) getestet. Unterschiede zwischen Gruppen wurden mit einfaktoriellem Varianzanalysen mit Messwiederholungen (univariate RM ANOVA) analysiert. Bei sämtlichen statistischen Analysen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ angenommen. Erwiesen sich die Daten als nicht normalverteilt wurde mit dem natürlichen Logarithmus dieser Daten gearbeitet. Stellten sich die Daten nach dem logarithmieren noch immer als nicht normalverteilt heraus wurde eine nicht parametrische ANOVA mit Messwiederholungen (Friedmann RM ANOVA on ranks) durchgeführt.

Die statistische Auswertung lässt sich in drei Abschnitte aufteilen. Zuerst erfolgte die Analyse der Werte aus den nicht supplementierten Messphasen, dann die der supple-

mentierten Messphasen und als letzter Schritt der Vergleich zwischen den supplementierten und den nicht supplementierten Messphasen.

Nicht supplementiert:

Zunächst wurden die Werte aus den Messphasen „untrainiert I“ (nicht supplementiert), „trainiert I“ (nicht supplementiert) und „untrainiert II“ (nicht supplementiert) miteinander verglichen. Dann folgte eine univariate RM ANOVA für die Werte aus den Messphasen „untrainiert I“ (nicht supplementiert) und „untrainiert II“ (nicht supplementiert). Ergaben sich hierbei keine signifikanten Unterschiede wurden die Datenreihen zusammengekommen und in den folgenden Schritten als gemeinsamer Mittelwert („untrainiert I+II“, nicht supplementiert) behandelt. Es folgte eine univariate RM ANOVA für die Werte der Messphasen „untrainiert I+II“ (nicht supplementiert) und „trainiert I“ (nicht supplementiert).

Supplementiert:

In einer univariaten RM ANOVA wurden die Werte der Messphasen „untrainiert III“ (supplementiert) und „trainiert II“ (supplementiert) analysiert.

Vergleich nicht supplementiert und supplementiert:

Mit Hilfe einer univariaten RM ANOVA wurden die Ergebnisse der Messphase „untrainiert I+II“ (nicht supplementiert) mit „untrainiert III“ (supplementiert) und „trainiert I“ (nicht supplementiert) mit „trainiert II“ (supplementiert) verglichen.

Die statistische Auswertung wurde in Absprache mit dem statistischen Beratungslabor (StaBlab, LMU München) durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Massenspezifischer Sauerstoffverbrauch

In den folgenden Abbildungen wurden die Ergebnisse nicht supplementierter Hunde (●) und supplementierter Hunde (▼) dargestellt. Die unterschiedlichen Trainingszustände wurden dabei farblich gekennzeichnet („untrainiert“ ● oder ▼; „trainiert“ ● oder ▼ und „untrainiert“ nach einer Trainingspause, bzw. Aussetzen der Supplementierung ●).

4.1.1 Ruhestoffwechsel

4.1.1.1 Ergebnisse der Laufbandgruppe

Das Training hatte keinen signifikanten Effekt auf den massenspezifischen Ruhestoffwechsel (RMR) von Hunden (Abb. 17; links). Da sich auch die Messwerte von untrainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause nicht statistisch unterschieden, wurden diese für weitere Analysen als „untrainiert I+II“ zusammengefasst.

Der Vergleich der massenspezifischen RMR zwischen untrainierten (I+II) und trainierten Hunden ergab ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Abb. 17; rechts).

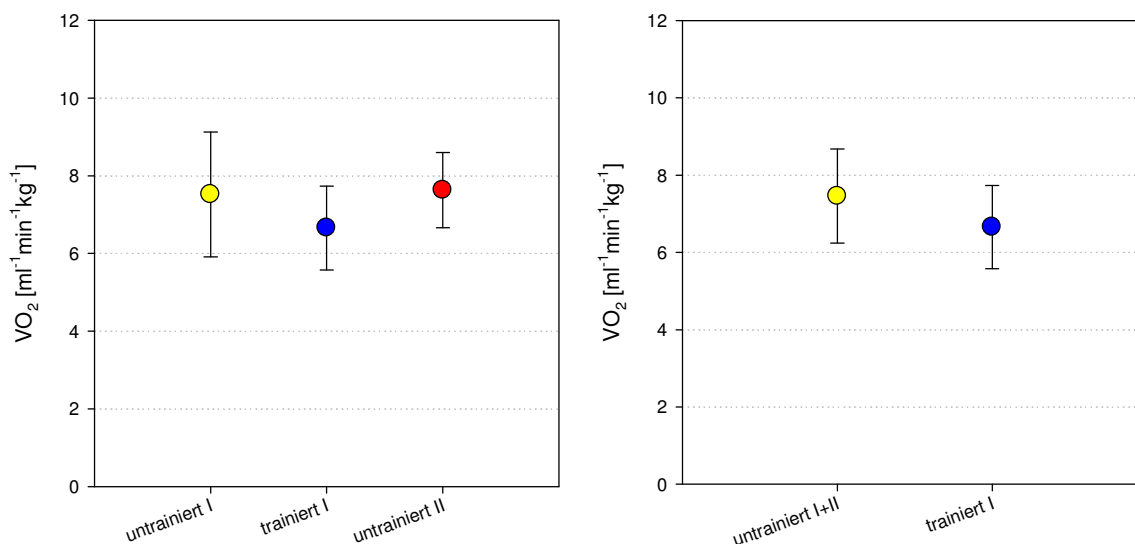


Abb. 17: Effekte von Training und Trainingspause auf den massenspezifischen RMR; (links) „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7) und „untrainiert II“ (●, N = 7); (rechts) „untrainiert I+II“ (●, N = 10) und „trainiert I“ (●, N = 7).

Wenn trainierte und untrainierte Hunde der supplementierten Gruppe verglichen wurden, bewirkte Training einen signifikanten Abfall des massenspezifischen RMR ($F_{1,6} = 13,580$, $p = 0,010$, univariate RM ANOVA, Abb. 18; a).

In einem Gesamtvergleich der Effekte von Training und GAA-Supplementierung bewirkte Training sowohl bei supplementierten als auch bei nicht supplementierten Hunden einen signifikanten Abfall des massenspezifischen RMR gegenüber untrainierten Hunden ($F_{1,6} = 7,941$, $p = 0,030$, univariate RM ANOVA, Abb. 18; b). Dieser Effekt wurde ebenfalls durch eine signifikante Interaktion zwischen Trainingszustand und Supplementierung ($F_{1,6} = 7,876$, $p = 0,031$, 9.2.1.1) bestätigt. Die Supplementierung mit GAA bewirkte einen signifikanten Abfall der massenspezifischen RMR gegenüber nicht supplementierten Hunden ($F_{1,6} = 41,985$, $p = 0,001$, univariate RM ANOVA, Abb. 18, c).

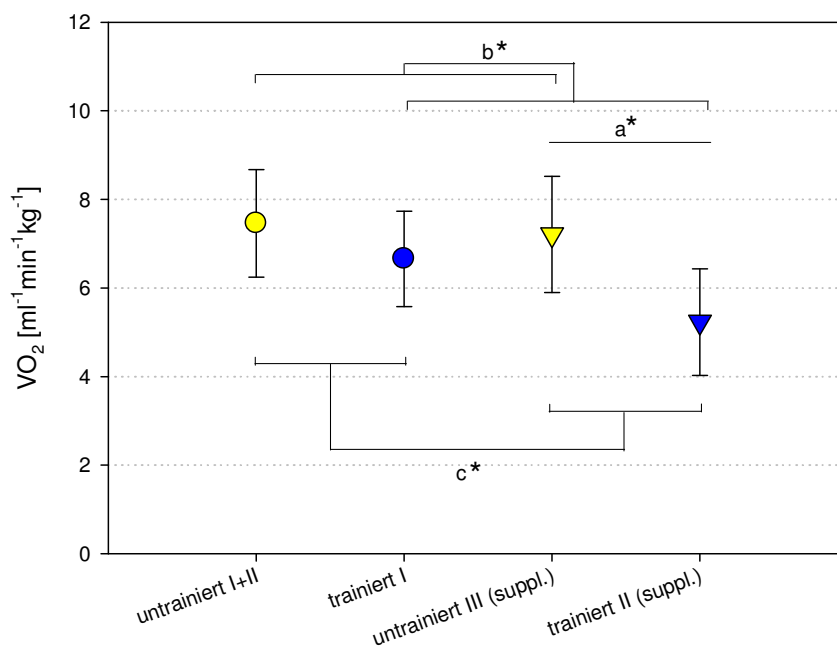


Abb. 18: Vergleich der Effekte von GAA-Supplementierung und Training auf den massenspezifischen RMR. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 10) und „trainiert I“ (●, N = 7), Supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼ N = 7). (a) Training bewirkte bei supplementierten Hunden einen signifikanten Abfall des massenspezifischen RMR; (b) Training bewirkte bei supplementierten als auch bei nicht supplementierten Hunden einen signifikanten Abfall des massenspezifischen RMR; (c) Supplementierung mit GAA bewirkte einen signifikanten Abfall der massenspezifischen RMR gegenüber nicht supplementierten Hunden.

4.1.1.2 Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe

Der Vergleich des massenspezifischen Sauerstoffverbrauchs in Ruhe der Hunde der Kontrollgruppe mit denen der Laufbandgruppe wurde in Abb. 19 aufgetragen. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe (♦) wurden dabei farblich den Ergebnissen der Laufbandgruppe (●, bzw. ▼) zugeordnet („untrainiert“ ● oder ▼; „trainiert“ ● oder ▼ und „untrainiert“ nach einer Trainingspause, bzw. Aussetzen der Supplementierung ●). Die Hunde der Kontrollgruppe wurden jedoch nicht trainiert und erhielten keine Supplementierung.

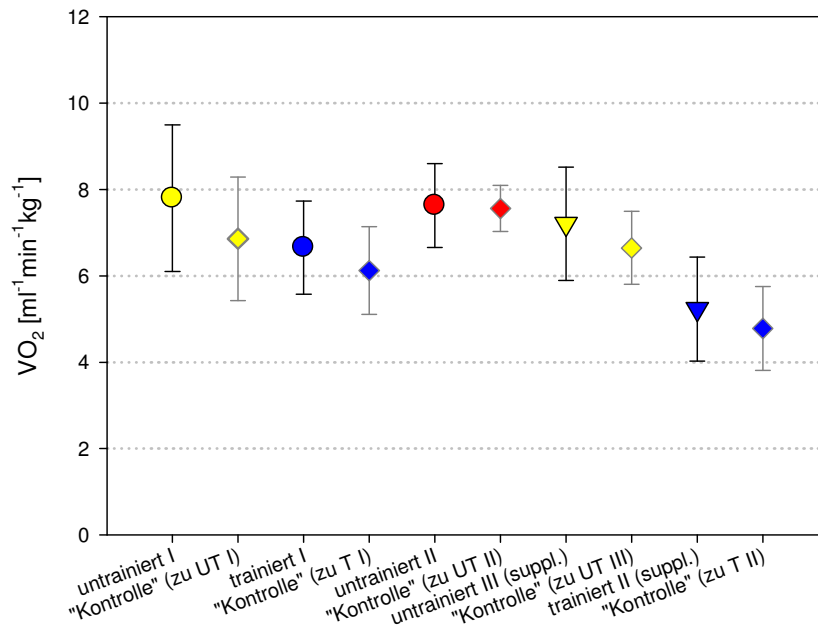


Abb. 19: Vergleich des massenspezifischen Sauerstoffverbrauchs in Ruhe von Hunden der Laufbandgruppe (●) und der Kontrollgruppe (♦). Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (♦, N = 3).

4.1.2 Leistungsstoffwechsel

4.1.2.1 Schwellentest

Die 9 Wochen Trainingspause reichten aus, um Trainingseffekte wieder vollständig aufzuheben, so dass sich untrainierte Hunde („untrainiert I“) und Hunde nach der Trainingspause („untrainiert II“) nicht im $\dot{V}O_2$ bei 5, 10, und 15 km/h unterschieden (Abb. 20). Die Gruppen „untrainiert I“ und „untrainiert II“ wurden daher unter „untrainiert I+II“ zusammengefasst.

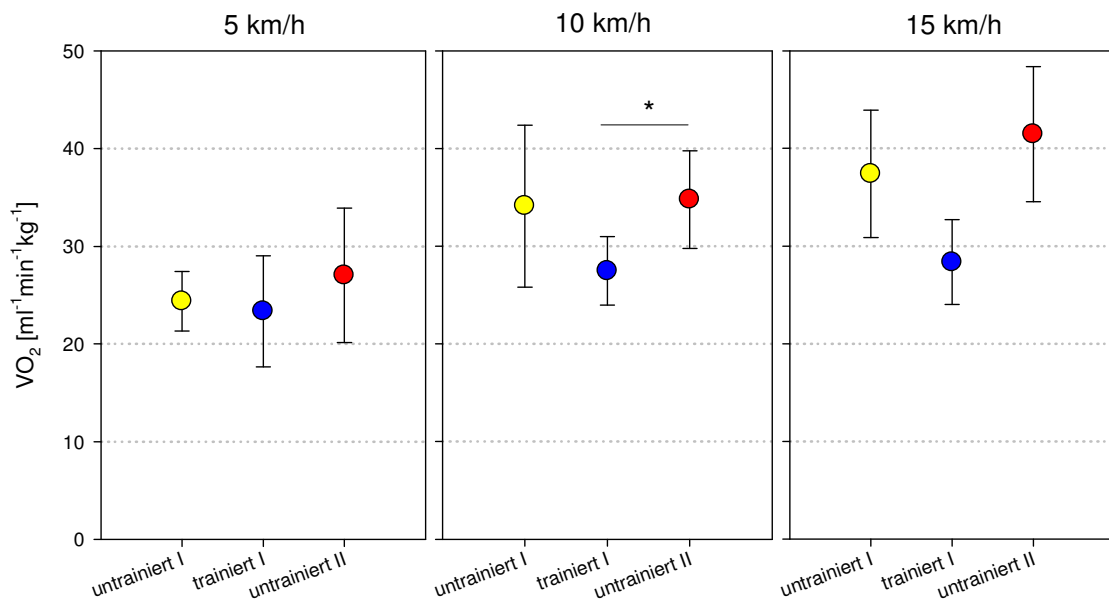


Abb. 20: Massenspezifischer Sauerstoffverbrauch von untrainierten Hunden, trainierten Hunden und Hunden nach einer Trainingspause bei verschiedenen Geschwindigkeiten; „untrainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 6$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$), „trainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$) und „untrainiert II“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 4$, $N_{10\text{km/h}} = 6$, $N_{15\text{km/h}} = 7$).

Training bewirkte einen signifikanten Abfall des $\dot{V}O_2$ gegenüber untrainierten (I+II) Hunden bei einer Laufgeschwindigkeit von 10 km/h ($F_{1,6} = 12,957$, $p = 0,011$, univariate RM ANOVA). Auch auf den $\dot{V}O_2$ bei einer Laufgeschwindigkeit von 15 km/h wurde ein signifikanter Trainingseffekt ermittelt ($F_{1,5} = 26,367$, $p = 0,004$, univariate RM ANOVA, Abb. 21).

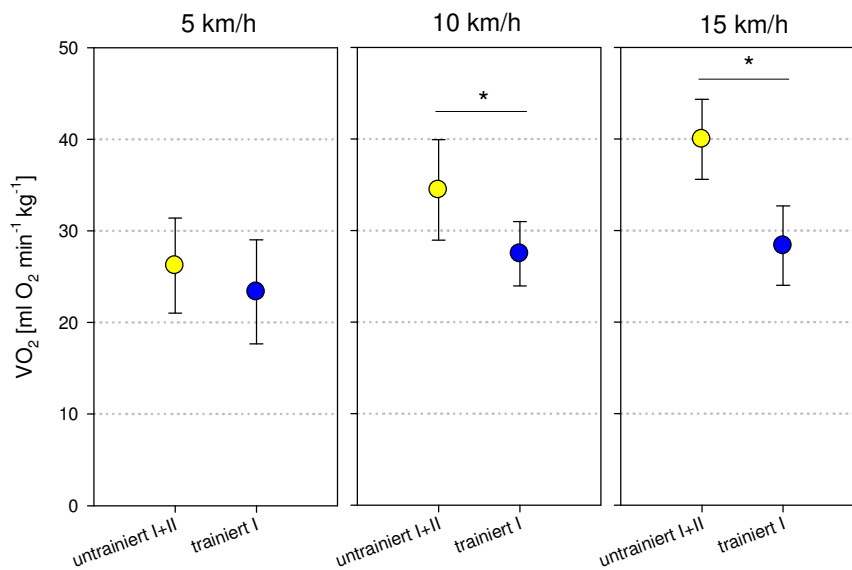


Abb. 21: Massenspezifischer Sauerstoffverbrauch von untrainierten (I+II) und trainierten FBI-Hunden bei verschiedenen Geschwindigkeiten, „untrainiert I+II“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$) und „trainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 6$).

Bei GAA-supplementierten Hunden hatte Training keine signifikanten Effekte auf den $\dot{V}O_2$ bei den Laufgeschwindigkeiten 5, 10 und 15 km/h (Abb. 22).

Zwischen Trainingszustand und Supplementierung bei einer Laufgeschwindigkeit von 15 km/h bestand eine signifikante Interaktion ($F_{1,2} = 23,513$, $p = 0,040$, univariate RM ANOVA, 9.2.1.2), da Ausdauertraining bei nicht supplementierten Hunden zu einer Absenkung des $\dot{V}O_2$ bei 15 km/h führte, bei supplementierten Hunden jedoch nicht absank.

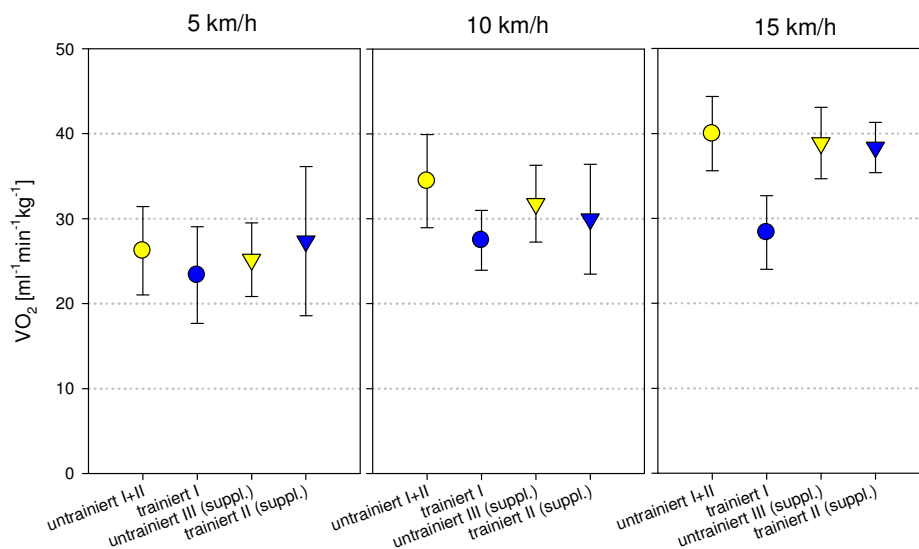


Abb. 22: Vergleich der Effekte von GAA-Supplementierung und Training auf den massenspezifischen Sauerstoffverbrauch bei verschiedenen Geschwindigkeiten. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$) und „trainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 6$); supplementiert: „untrainiert III“ (▼, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 6$, $N_{15\text{km/h}} = 4$) und „trainiert II“ (▼, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 6$, $N_{15\text{km/h}} = 3$).

4.1.2.2 Maximaltest

Die Messwerte aller Parameter, von untrainierten Hunden („untrainiert I“) und Hunden nach der Trainingspause („untrainiert II“) zeigten beim Maximaltest keine Unterschiede. Somit kommt es durch die Trainingspause zu einem Rückgang der erreichten Trainings-erfolge. Aus diesem Grund wurden für die folgenden Analysen die Messwerte von „untrainiert I“ und „untrainiert II“ zusammengefasst (Abb. 23).

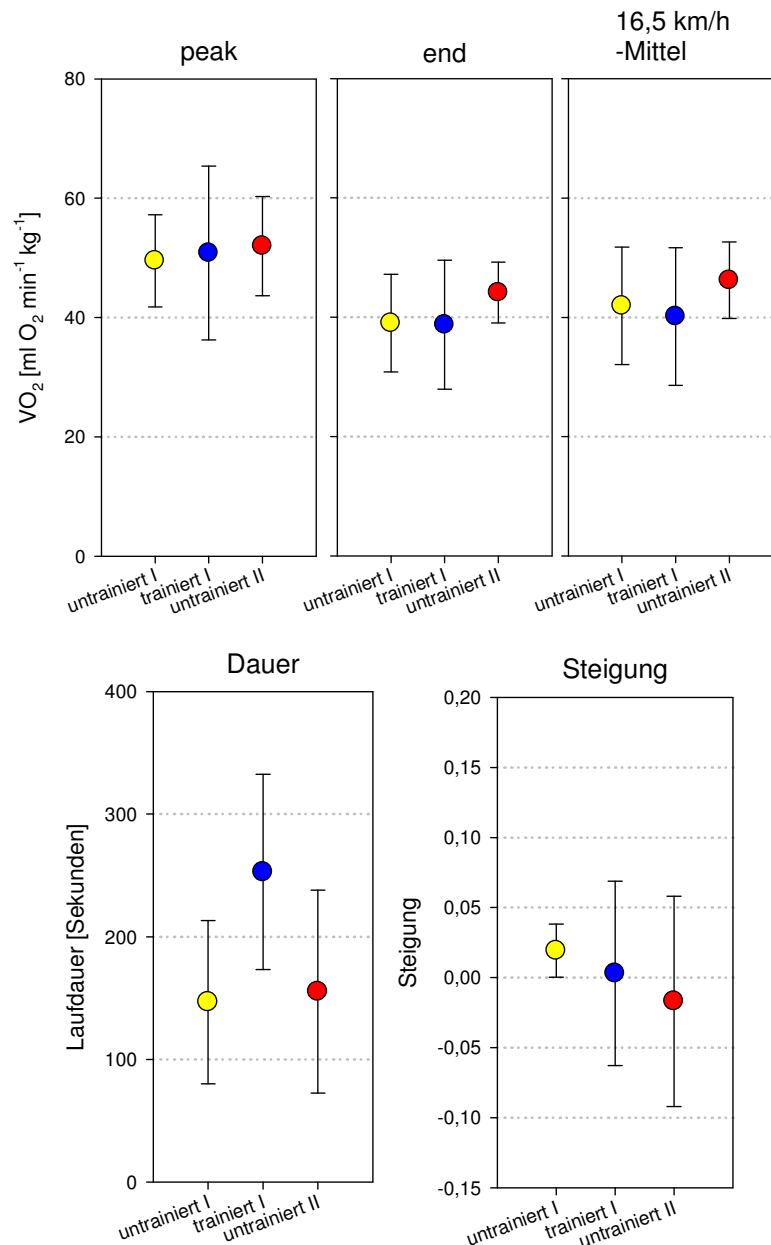


Abb. 23: Effekte von Training und Trainingspause auf die Parameter des Maximaltests, „untrainiert I“ (●, N = 3), „trainiert I“ (●, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 6).

Das Training hatte einen signifikanten Effekt auf die Laufdauer bei 16,5 km/h (d.f. = 1, $p = 0,014$, Friedman RM ANOVA on ranks). Dies entsprach einer Steigerung der Laufdauer während des Maximaltests um 97,55 % gegenüber untrainierten Hunden. Auf alle anderen gemessenen Parameter bestand kein signifikanter Effekt (Abb. 24).

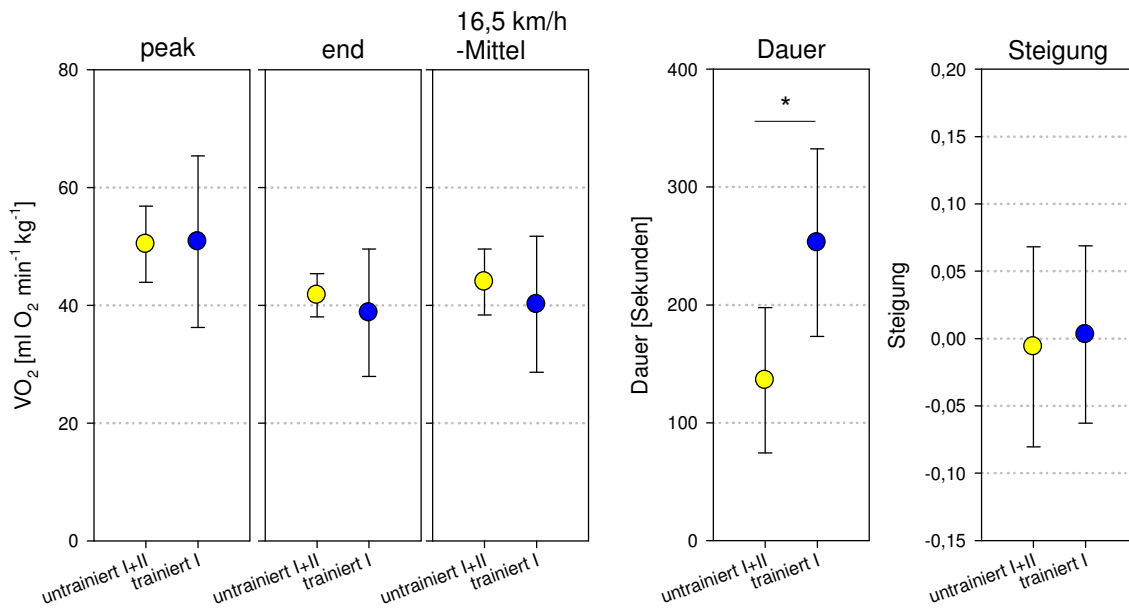


Abb. 24: Effekt von Training auf die Parameter des Maximaltest, „untrainiert I+II“ (●, N = 6) und „trainiert I“ (●, N = 7).

Beim Vergleich von trainierten und nicht-trainierten Hunde der supplementierten Gruppe konnten keine signifikanten Effekte des Trainings auf die gemessenen Parameter aufgezeigt werden (Abb. 25 und Abb. 26).

Training in Kombination mit GAA-Supplementierung resultierte in einer signifikanten Erhöhung ($F_{1,3} = 18,058$, $p = 0,024$, univariate RM ANOVA) der Laufdauer („Dauer“) bei einer Geschwindigkeit von 16,5 km/h (Abb. 26).

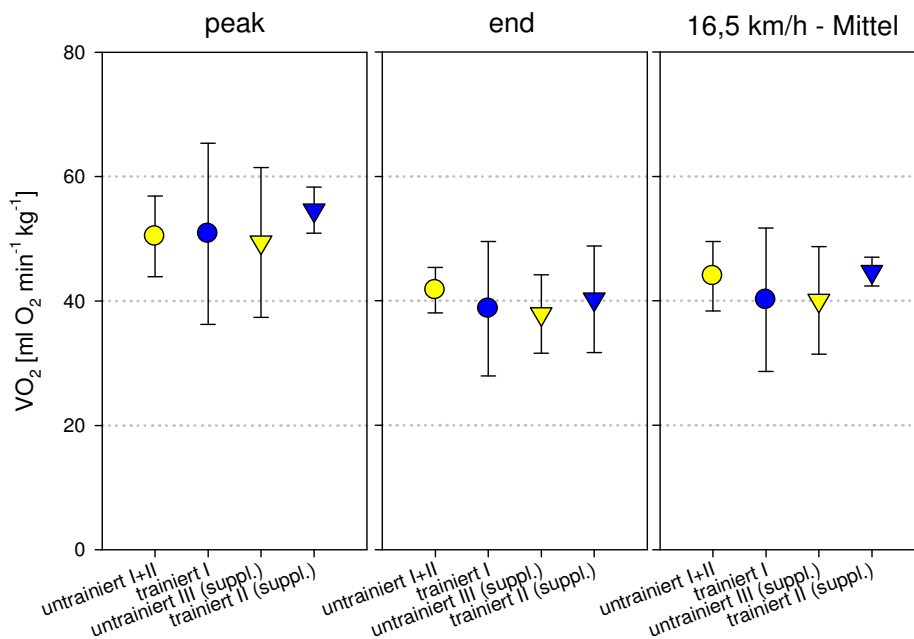


Abb. 25: Vergleich der Effekte von Training und Supplementierung während des Maximaltests. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 6) und „trainiert I“ (●, N = 7); supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 4) und „trainiert II“ (▼, N = 4).

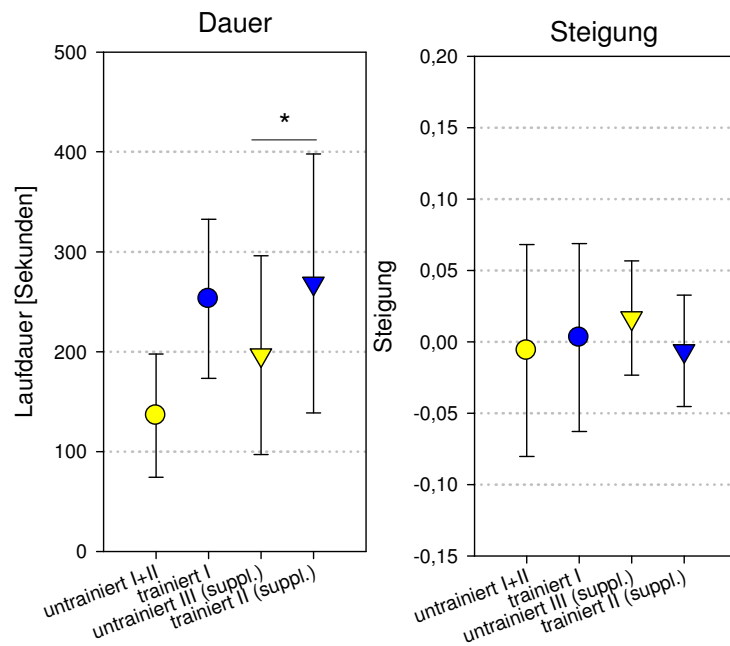


Abb. 26: Vergleich der Effekte von Training und Supplementierung während des Maximaltests. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 6) und „trainiert I“ (●, N = 7); supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 4) und „trainiert II“ (▼, N = 4).

4.2 Verhältnis von Ruhe- zu Leistungsstoffwechsel (metabolic scope)

Das Verhältnis des Ruhe (RMR)- zum Leistungsstoffwechsel (MR) der Hunde lässt sich berechnen, in dem der Quotient MR/RMR gebildet wird. Zur Berechnung des Quotienten wurde der während des Maximaltests bei 16,5 km/h erreichte Mittelwert des $\dot{V}O_2$ (MR), sowie der Mittelwert der Ruhemessungen (5-Minuten Minimum, RMR) verwendet. Die Mittelwerte für RMR und MR wurden dabei zunächst für jeden Hund einzeln aus den Werten sämtlicher Messphasen („untrainiert I+II“, „trainiert I“, „untrainiert III“ (suppl.) und „trainiert II“ (suppl.)) gebildet. Für die sieben Hunde der Laufbandgruppe ergab sich auf diese Weise eine Obergrenze der Stoffwechselrate vom 6,45-fachen des Ruhestoffwechsels (Tabelle 6).

Tabelle 6: Verhältnis des Ruhe- zum Leistungsstoffwechsel (metabolic scope). Die Mittelwerte für RMR und MR wurden aus den Werten sämtlicher Messphasen („untrainiert I+II“, „trainiert I“, „untrainiert III“ (suppl.) und „trainiert II“ (suppl.)) berechnet. Angabe des Mittelwertes und der Standardabweichung.

Hund	RMR	MR	MR/RMR
Cappucina	5,58	34,80	6,24
Kira	7,57	39,44	5,21
Flora	7,62	43,65	5,73
Stella	6,01	40,67	6,77
Salina	7,75	47,44	6,12
Mimi	7,71	40,06	5,19
Polly	6,29	62,16	9,88
Mittelwert	6,93	44,03	6,45
Standardabweichung	0,93	8,89	1,62

4.3 Herzfrequenz

4.3.1 Ruheherzfrequenz

4.3.1.1 Ergebnisse der Laufbandgruppe

Training hatte keinen signifikanten Effekt auf die Ruheherzfrequenz von Hunden. Die Ruheherzfrequenzen von untrainierten Hunden („untrainiert I“) und Hunden nach der Trainingspause („untrainiert II“) wurden unter „untrainiert I+II“ zusammengefasst. Es bestand ebenfalls kein signifikanter Trainingseffekt auf die Ruheherzfrequenz zwischen untrainierten (I+II) und trainierten Hunden (Abb. 27).

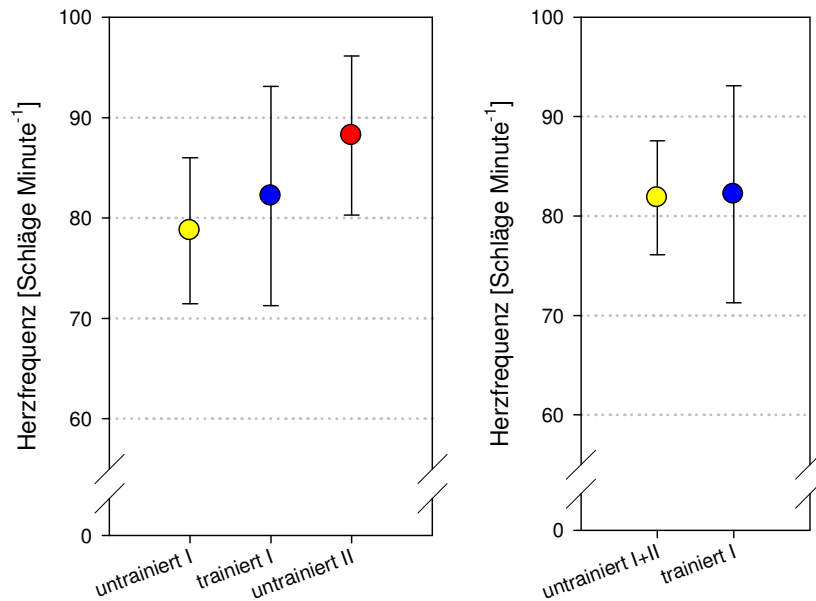


Abb. 27: Effekte von Training und Trainingspause auf die Ruheherzfrequenz von FBI-Hunden. (links) Trainingszustände „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7) und untrainiert II“ (●, N = 7); (rechts) Trainingszustände „untrainiert I+II“ (●, N = 10) und „trainiert I“ (●, N = 7).

Wenn trainierte und nicht-trainierte Hunde der supplementierten Gruppe verglichen wurden, hatte Training keinen signifikanten Effekt auf die Ruheherzfrequenz.

In einem Gesamtvergleich der Effekte von Training und GAA-Supplementierung zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 28).

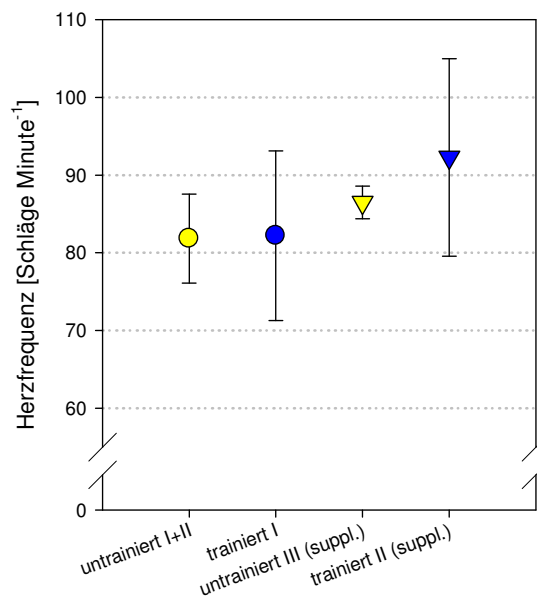


Abb. 28: Vergleich der Effekte von Training und Supplementierung auf die Ruheherzfrequenzen. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 10) und „trainiert I“ (●, N = 7), Supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7).

4.3.1.2 Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe

In Abb. 29 ist der Vergleich der Ruheherzfrequenz der Hunde der Kontroll- und der Laufbandgruppe dargestellt. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe (♦) wurden dabei farblich den Ergebnissen der Laufbandgruppe (● nicht supplementiert, bzw. ▼ supplementiert) zugeordnet („untrainiert“ ● oder ▼; „trainiert“ ● oder ▼ und „untrainiert“ nach einer Trainingspause, bzw. Aussetzen der Supplementierung ●). Die Hunde der Kontrollgruppe wurden

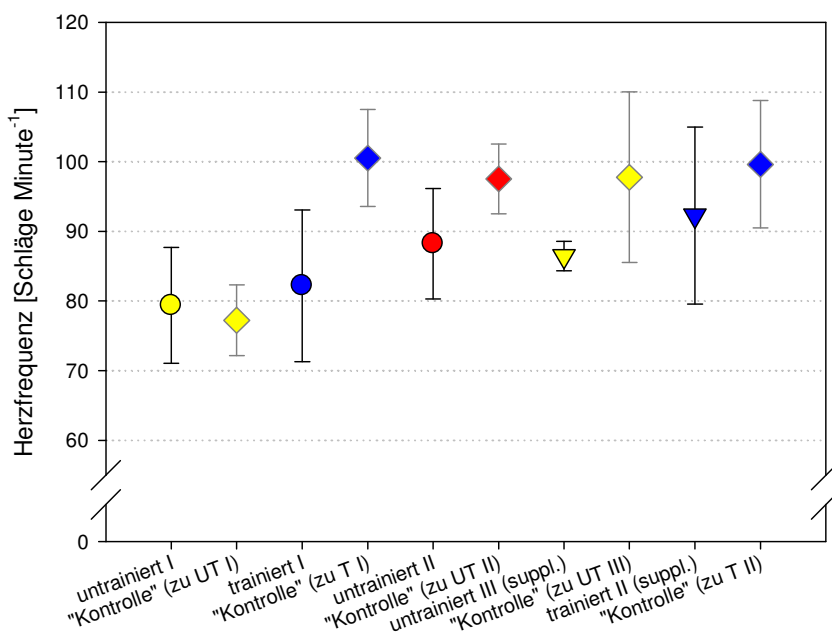


Abb. 29: Vergleich der Ruheherzfrequenzen von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (♦, N = 3).

4.3.2 Herzfrequenz unter Belastungsbedingungen

4.3.2.1 Effekte von Training und Supplementierung im Schwellentest

Verglichen wurden Hunde vor dem Training, in trainiertem Zustand und nach einer Trainingspause. Laufbandtraining hatte bei keinem der Vergleiche einen signifikanten Effekt auf die Herzfrequenz (Abb. 30).

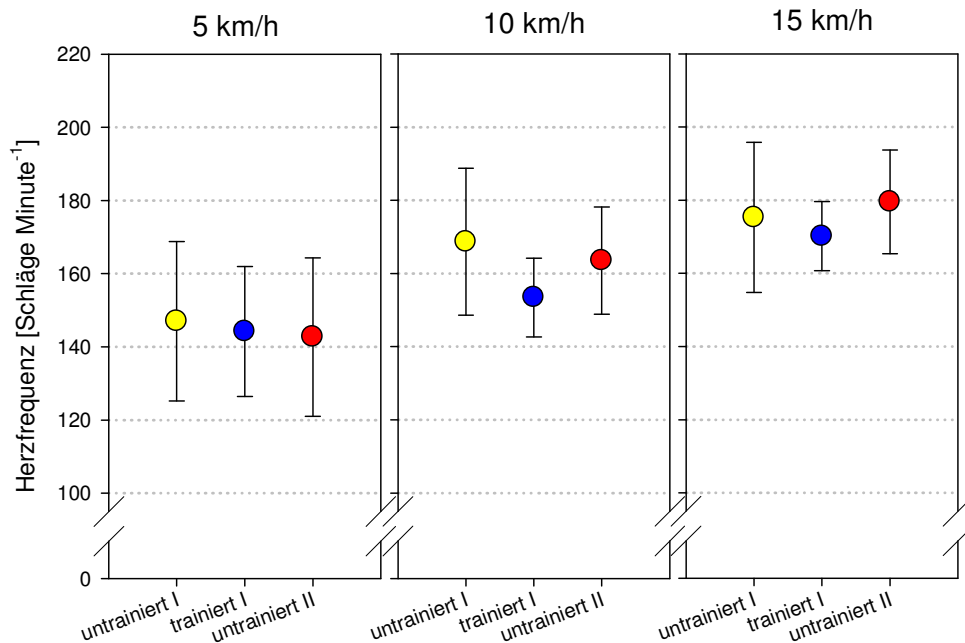


Abb. 30: Vergleich der Herzfrequenz von untrainierten Hunden, trainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause bei verschiedenen Geschwindigkeiten, „untrainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 6$), „trainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$) und „untrainiert II“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 6$).

Da sich die HF von untrainierten Hunden („untrainiert I“) und Hunden nach der Trainingspause („untrainiert II“) nicht signifikant unterschieden wurden die Messwerte für die folgenden Analysen unter „untrainiert I+II“ zusammengefasst. Beim Vergleich der HF unter Belastung von untrainierten (I+II) und trainierten Hunden bestand ebenfalls kein signifikanter Trainingseffekt (Abb. 31).

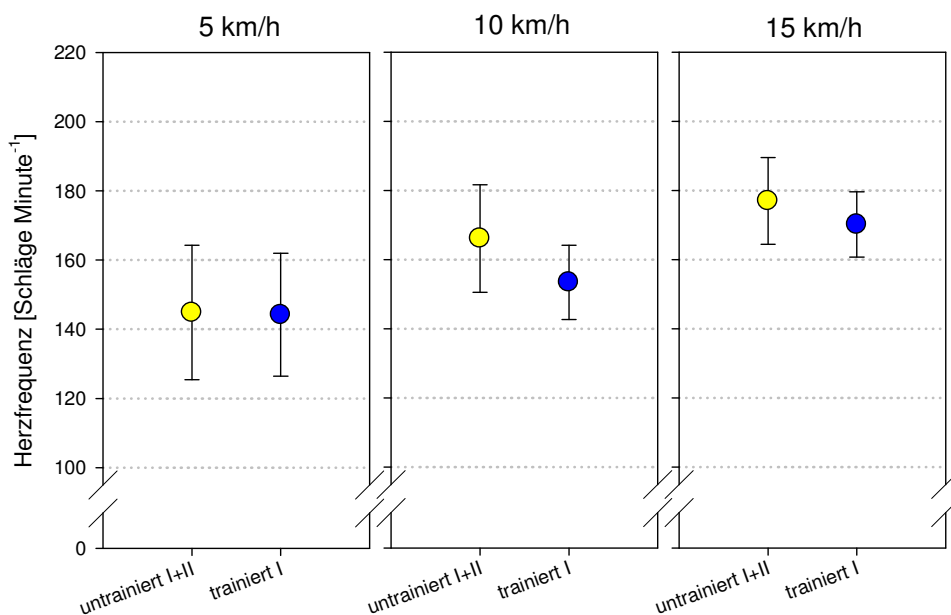


Abb. 31: Effekt von Training auf die Ruheherzfrequenz von FBI-Hunden bei verschiedenen Geschwindigkeiten, „untrainiert I+II“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$) und „trainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$).

Wurden trainierte und untrainierte Hunde der supplementierten Gruppe verglichen, hatte Training keinen signifikanten Effekt auf die HF unter Belastung (Abb. 32).

In einem Gesamtvergleich der Effekte von Training und GAA-Supplementierung zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 32).

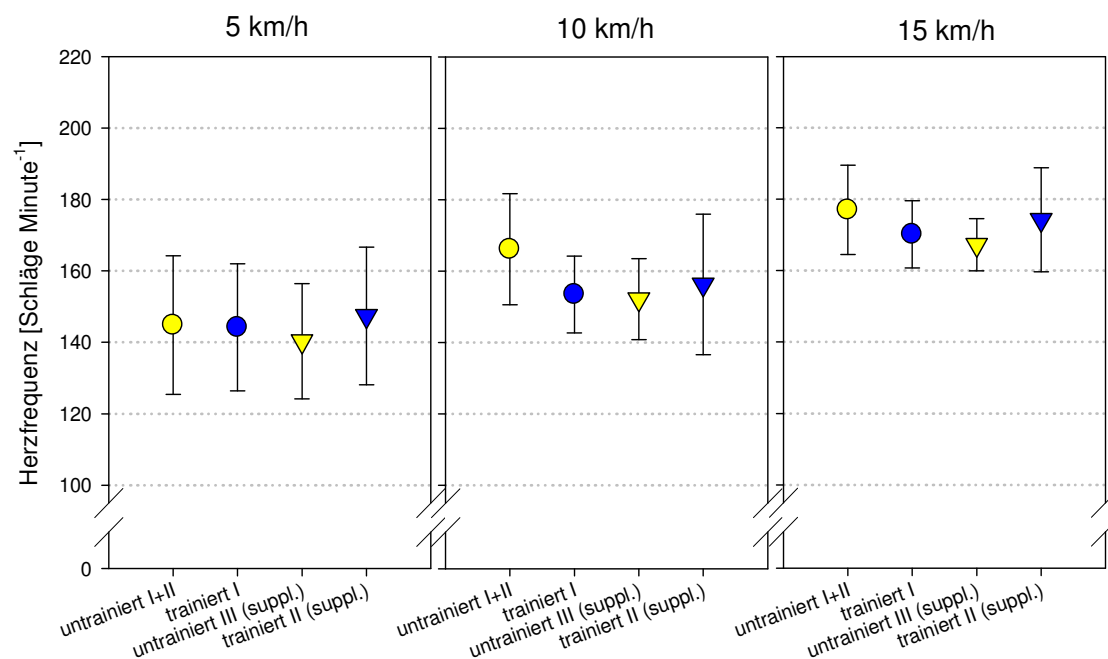


Abb. 32: Effekte von Training und Supplementierung auf die Herzfrequenz unter Belastung bei verschiedenen Geschwindigkeiten. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$) und „trainiert I“ (●, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 7$, $N_{15\text{km/h}} = 7$); supplementiert: „untrainiert III“ (▼, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 6$, $N_{15\text{km/h}} = 4$) und „trainiert II“ (▼, $N_{5\text{km/h}} = 7$, $N_{10\text{km/h}} = 6$, $N_{15\text{km/h}} = 3$).

4.3.2.2 Effekte von Training und Supplementierung im Maximaltest

Laufbandtraining hatte keine signifikanten Effekte auf die Parameter des Maximaltests. Zwischen untrainierten und abtrainierten Hunden bestand allerdings ein signifikanter Effekt auf die Parameter „peak“ ($F_{2,4} = 13,926$, $p = 0,016$, univariate RM ANOVA) und „end“ ($F_{2,4} = 9,512$, $p = 0,030$, univariate RM ANOVA). In einem Post-Hoc-Test (Bonferroni) konnte jedoch kein signifikanter Effekt auf den Parameter „end“ zwischen untrainierten Hunden, trainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause gefunden werden (Abb. 33).

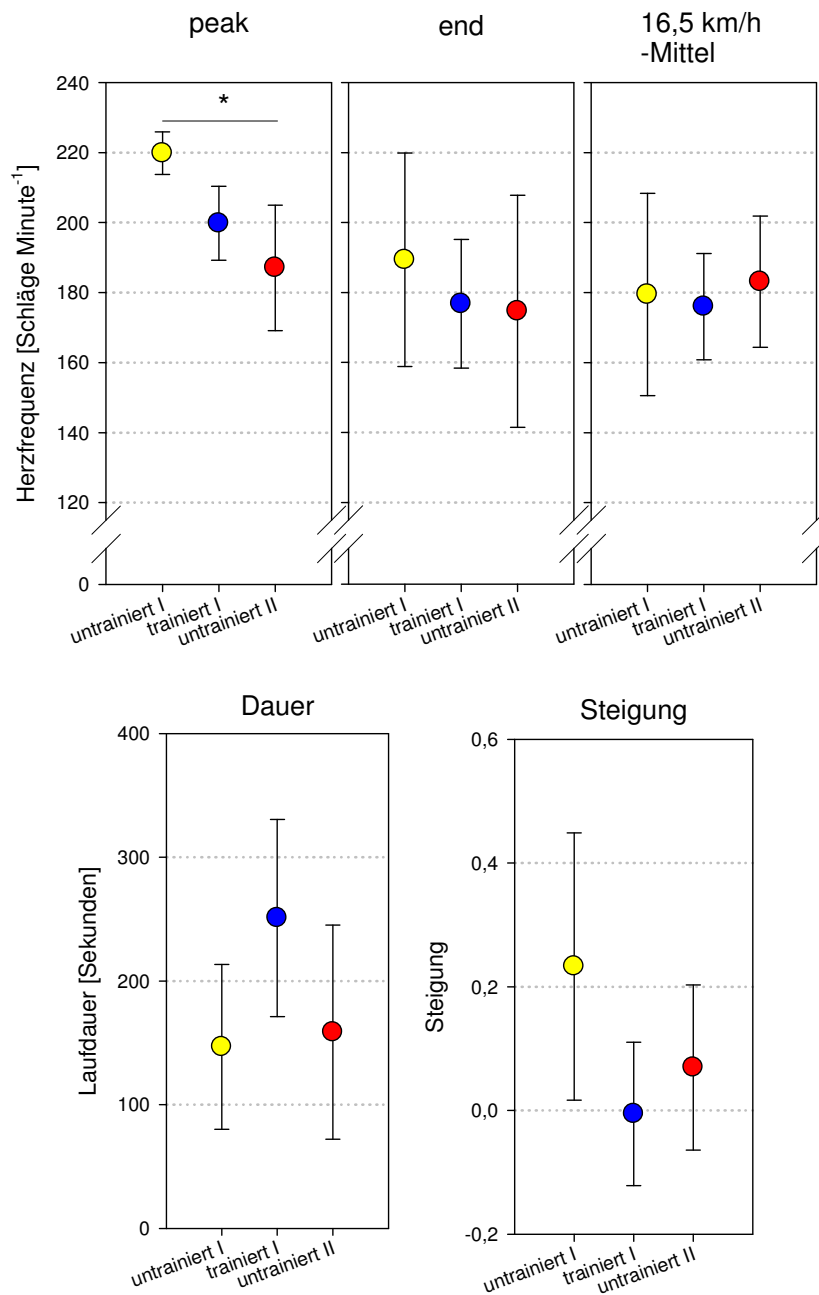


Abb. 33: Effekt von Training und Trainingspause auf die Parameter des Maximaltest, „untrainiert I“ (●, N = 3), „trainiert I“ (●, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 6).

Die Messwerte aller Parameter (außer „peak“) von untrainierten Hunden („untrainiert I“) und Hunden nach der Trainingspause („untrainiert II“), wurden unter „untrainiert I+II“ zusammengefasst.

Der Vergleich von untrainierten (I+II) und trainierten Hunden zeigte einen signifikanten Trainingseffekt ($F_{1,5} = 37,157$, $p = 0,002$, univariate RM ANOVA) auf die Laufdauer („Dauer“) bei einer Geschwindigkeit von 16,5 km/h (Abb. 34).

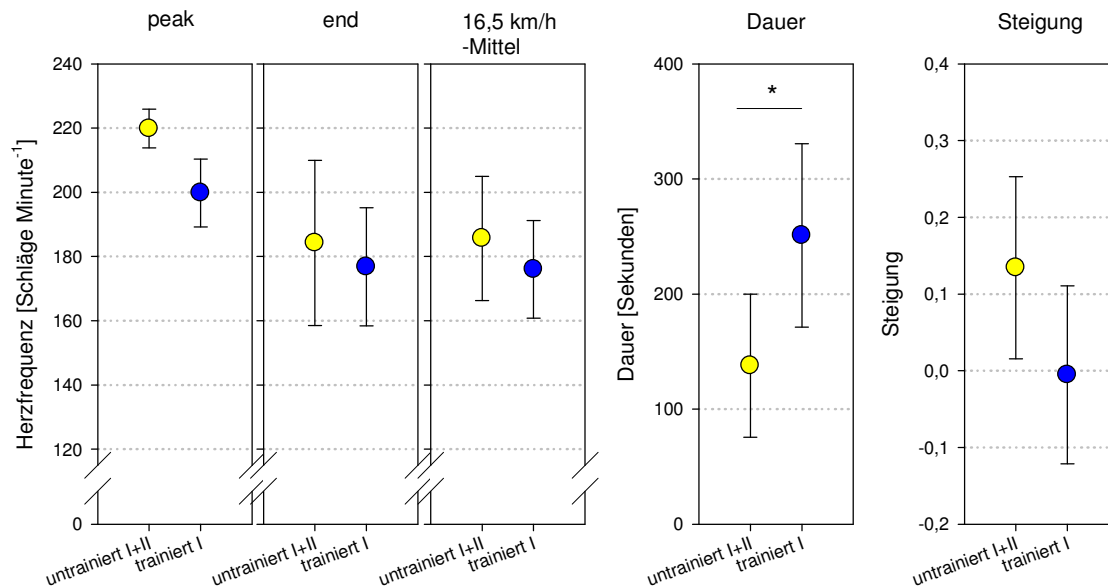


Abb. 34: Effekt von Training auf die Parameter des Maximaltests, „untrainiert I+II“ (●, N = 6) und „trainiert I“ (●, N = 7).

Wenn trainierte und untrainierte Hunde der supplementierten Gruppe verglichen wurden, hatte Laufbandtraining keine signifikanten Effekte auf die Parameter des Maximaltests (Abb. 35).

Training resultierte sowohl bei supplementierten als auch bei nicht-supplementierten Hunden in einer signifikanten Erhöhung ($F_{1,3} = 18,058$, $p = 0,024$, univariate RM ANOVA) der Laufdauer („Dauer“) bei einer Geschwindigkeit von 16,5 km/h (Abb. 35). Für die Parameter „peak“ und „Steigung“ wurde eine signifikante Interaktion zwischen Trainings- und Supplementierungseffekten ermittelt („peak“: $F_{1,2} = 24,649$, $p = 0,038$, univariate RM ANOVA, „Steigung“: $F_{1,3} = 11,904$, $p = 0,041$, univariate RM ANOVA, Anhang 9.2.1.2). Die Herzfrequenz des Parameters „peak“ lag bei untrainierten, supplementierten Hunden niedriger als bei nicht supplementierten und nahm bei supplementierten Hunden nach dem Training zu, während sie bei nicht supplementierten Hunden abnahm. Die Steigung der Geraden, die durch die Herzfrequenz während der Belastung gelegt wurde, nahm sowohl bei nicht supplementierten als auch bei supplementierten Hunden mit dem Training ab.

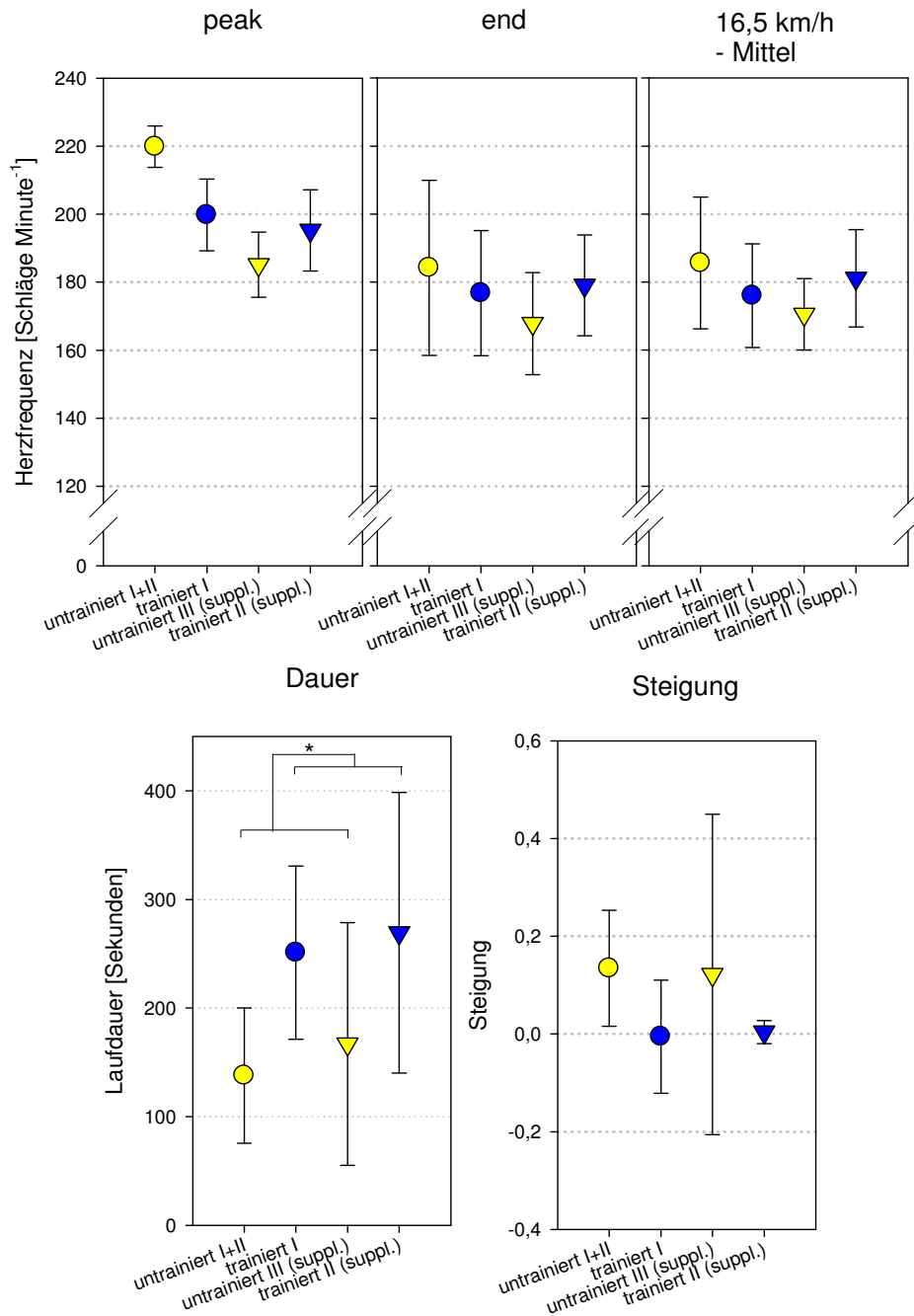


Abb. 35: Effekte von Training und Supplementierung auf die Parameter des Maximaltests. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 6) und „trainiert I“ (●, N = 7); supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 5) und „trainiert II“ (▼, N = 4).

4.4 Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch

Die Beziehung zwischen HF und $\dot{V}O_2$ wurde anhand der Messwerte der vier unterschiedlichen Laufgeschwindigkeiten des Schwellentests und des Maximaltests (5, 10, 15 und 16,5 km/h) analysiert; außerdem wurden die Werte der Ruhemessungen miteinbezogen.

Für die Werte trainierter und untrainierter bzw. supplementierter und nicht supplementierter Hunde wurde die Beziehung zwischen HF und $\dot{V}O_2$ mit einer Korrelationsanalyse analysiert, wobei die HF als unabhängige Variable und $\dot{V}O_2$ als abhängige Variable eingesetzt wurde. Dann wurden die Regressionen mit einer Kovarianzanalyse (ANCOVA, nach SPSS Inc. (1999)) auf mögliche Unterschiede zwischen den Werten trainierter und untrainierter bzw. supplementierter und nicht supplementierter Hunde getestet. Da keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen Regressionen bestanden wurden die Datenreihen der untrainierten (supplementierten und nicht supplementierten) und trainierten (supplementierten und nicht supplementierten) Hunde zusammengefasst. Für untrainierte Hunde ergab sich eine Regressionsgerade (Geradengleichung: $y = 0,328 x - 19,116$, Abb. 36, links). Das Bestimmtheitsmaß beträgt $R^2 = 0,852$. Der Test auf Abhängigkeit der Parameter erwies sich mit $p < 0,0001$ (ANOVA) als signifikant. Für trainierte Hunde wurde eine Geradengleichung $y = 0,314 x - 19,563$ ermittelt (Abb. 36, rechts). Das Bestimmtheitsmaß beträgt $R^2 = 0,692$ und auch hier besteht eine signifikante Abhängigkeit der Parameter ($p < 0,0001$, ANOVA).

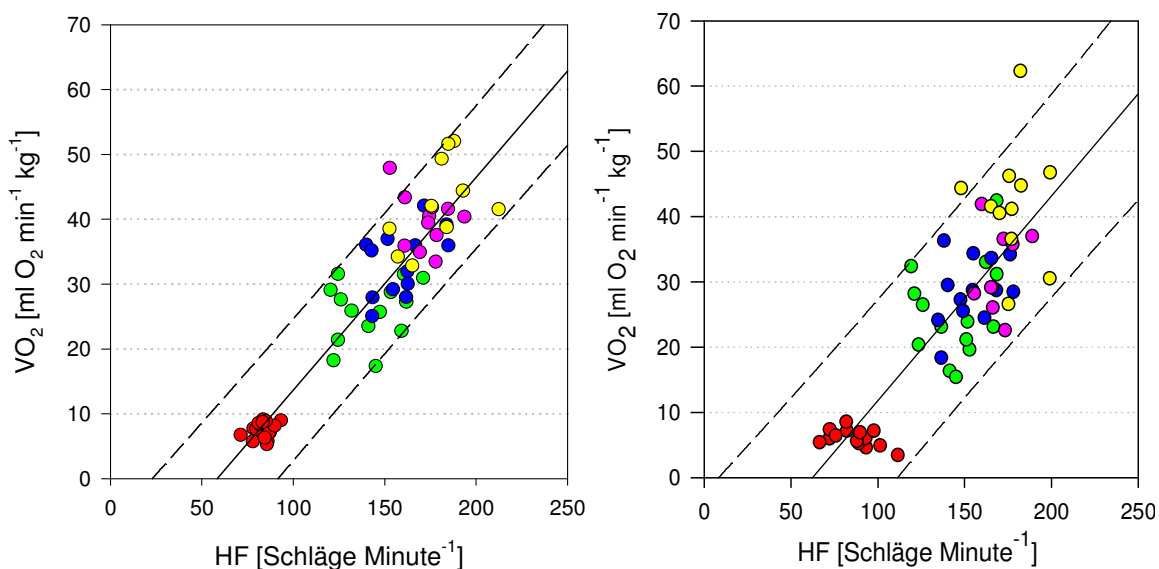


Abb. 36: Regressionsgerade (-) und Vorhersageintervall (---) der Trainingszustände (links) „untrainiert“ und (rechts) „trainiert“. Ruhe (●), 5 km/h (●), 10 km/h (●), 15 km/h (●), 16,5 km/h (●).

Mit einer Kovarianzanalyse (ANCOVA, nach SPSS Inc. (1999)) wurde getestet, ob sich die Regressionsgeraden der trainierten und der untrainierten Hunde in Steigung oder Lage unterscheiden. Es wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Die Werte dieser beiden Geraden wurden daher zusammengefasst und eine Regressionsanalyse durchgeführt, die alle Werte berücksichtigt. Die daraus resultierende Gerade kann durch die Gleichung $y = 0,320 x - 19,299$ beschrieben werden (Abb. 37). Das Bestimmtheitsmaß beträgt $R^2 = 0,769$. Der Test auf Abhängigkeit der Parameter erwies sich mit $p < 0,0001$ (ANOVA) als signifikant.

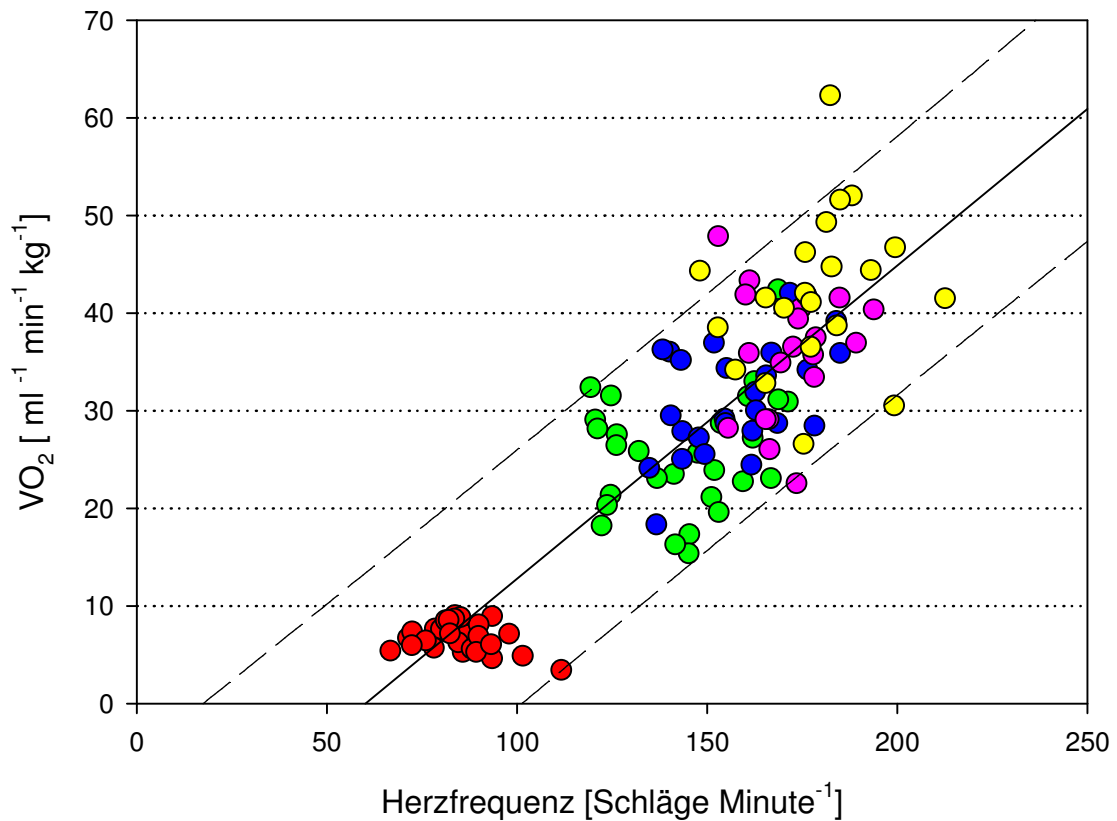


Abb. 37: Regressionsgerade (–) und Vorhersageintervalle (---) für untrainierte und trainierte Hunde, Ruhe (●), 5 km/h (●), 10 km/h (●), 15 km/h (●), 16,5 km/h (●).

Die aus der vorliegenden Arbeit resultierende Regressionsgerade ($y = 0,320 x - 19,299$) und die von Beyreuther (2007) ebenfalls für FBI-Hunde erstellte Regressionsgerade ($y = 0,389 x - 28,573$) wurden mit einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) auf Unterschiede in Steigung und Lage getestet. Es wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Die Werte dieser beiden Geraden wurden daher zusammengefasst und eine Regressionsanalyse durchgeführt, die die Werte beider Arbeiten berücksichtigt. Die daraus resultierende Gerade wird durch die Gleichung $y = 0,321 x - 19,263$ beschrieben (Abb. 38). Das Bestimmtheitsmaß beträgt $R^2 = 0,785$. Der Test auf Abhängigkeit der Parameter erwies sich mit $p < 0,0001$ (ANOVA) als signifikant.

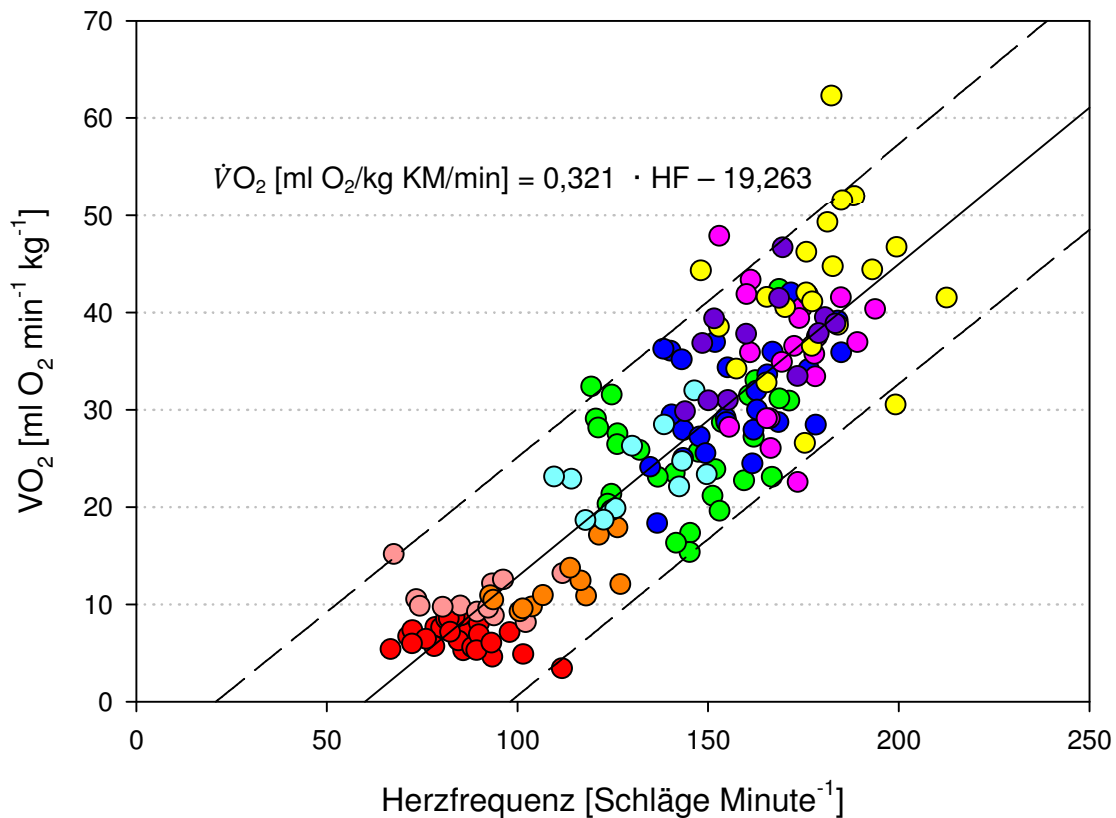


Abb. 38: Regressionsgerade (–) und Vorhersageintervalle (---) für untrainierte und trainierte Hunde, Ruhe (● und ●), Stehen (●), Gehen (●), Laufen (●), 5 km/h (●), 10 km/h (●), 15 km/h (●), 16,5 km/h (●).

4.5 Echokardiographie

4.5.1 Vermessung des linken Ventrikels und des Septums

4.5.1.1 Ergebnisse der Laufbandgruppe

Es wurde die Wanddicke des linken Ventrikels in Systole und Diastole sowie die Dicke des Septums in Systole und Diastole vermessen.

Der Vergleich der Wanddicken des linken Ventrikels und des Septums von untrainierten Hunden, trainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause ergab einen signifikanten Unterschied des Parameters „Septum Systole“ zwischen untrainierten („untrainiert I“) und trainierten („trainiert I“) Hunden ($F_{2,12} = 6,424$, $p = 0,036$, univariate RM ANOVA, Abb. 39) sowie zwischen untrainierten Hunden („untrainiert I“) und Hunden nach der Trainingspause („untrainiert II“) Hunden ($F_{2,12} = 6,424$, $p = 0,047$, univariate RM ANOVA, Abb. 39).

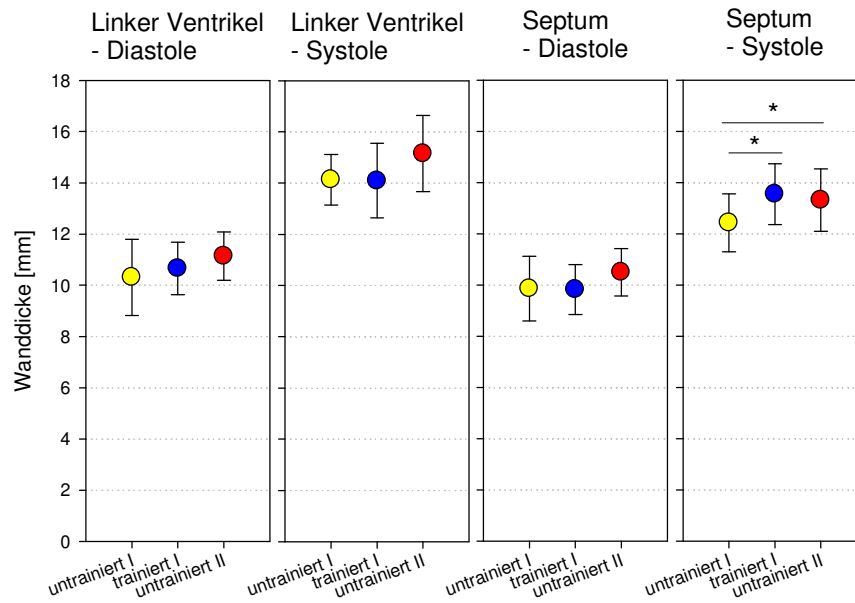


Abb. 39: Effekte von Training und Trainingspause auf die Wanddicke des linken Ventrikels und des Septums in Diastole und Systole, „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 7).

Die Werte des Parameters „Septum Systole“ von untrainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause konnten daher für die weiteren Analysen nicht zusammengefasst werden. Die Wanddicke des linken Ventrikels während Diastole und Systole, sowie die Wanddicke des Septums während der Diastole unterschieden sich nicht zwischen untrainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause. Sie wurden unter „untrainiert I+II“ zusammengefasst.

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen untrainierten (I+II) und trainierten Hunden (Abb. 40).

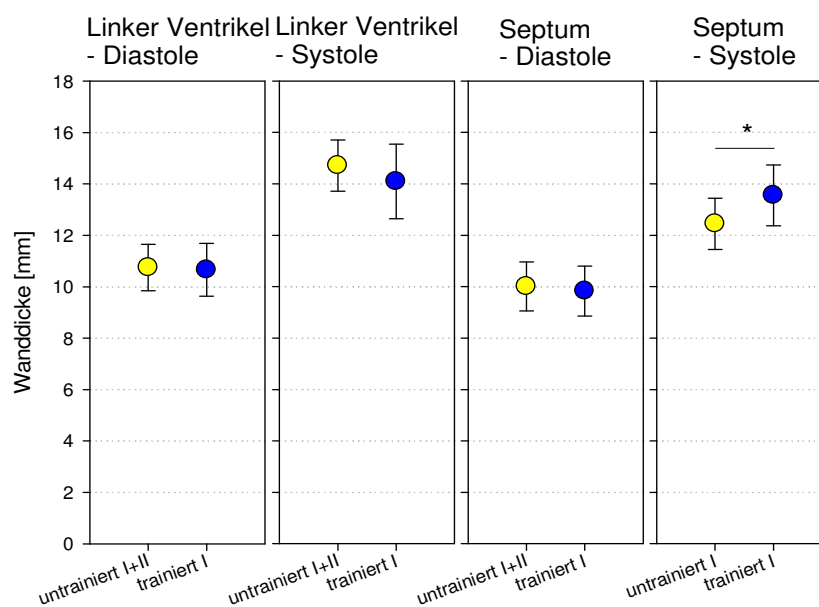


Abb. 40: Effekt von Training auf die Wanddicke des linken Ventrikels in Diastole und Systole und des Septums in der Diastole, „untrainiert I+II“ (●, N = 10) und „trainiert I“ (●, N = 7), sowie auf das Septums in der Systole „untrainiert I“ (●, N = 10).

Wenn trainierte und untrainierte Hunde der supplementierten Gruppe verglichen wurden, hatte Training weder einen signifikanten Effekt auf die Wanddicke des linken Ventrikels während Diastole und Systole noch auf die Wanddicke des Septums während Diastole und Systole (Abb. 41).

In einem Gesamtvergleich der Effekte von Training und GAA-Supplementierung zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 41). Für den Parameter „Septum Systole“ bestand jedoch eine signifikante Interaktion ($F_{1,27} = 11,518$, $p = 0,002$, univariate RM ANOVA) zwischen Training und GAA-Supplementierung (9.2.3.1). Die Dicke des Septums nahm bei nicht supplementierten Hunden nach dem Ausdauertraining zu, während sie bei supplementierten Hunden abnahm.

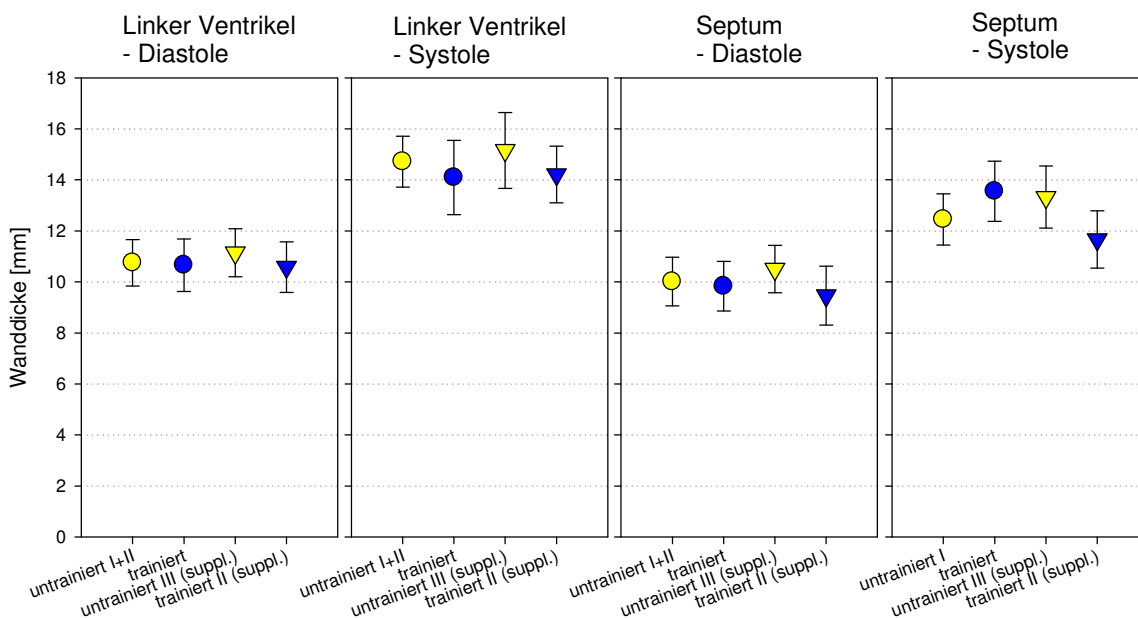


Abb. 41: Effekte von Training und GAA-Supplementierung auf die Wanddicke des linken Ventrikels und des Septums in Diastole und Systole. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 10) bzw. „untrainiert I“ (●, N = 10) und „trainiert I“ (●, N = 7), Supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7).

4.5.1.2 Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe

In den folgenden Abbildungen wurden die Ergebnisse der Kontrollgruppe (◆) farblich den Ergebnissen der Laufbandgruppe (● nicht supplementiert, bzw. ▼ supplementiert) zugeordnet („untrainiert“ ● oder ▼; „trainiert“ ● oder ▼ und „untrainiert“ nach einer Trainingspause, bzw. Aussetzen der Supplementierung ●). Die Hunde der Kontrollgruppe wurden jedoch nicht trainiert und erhielten keine Supplementierung.

Der Vergleich der FBI-Hunde aus der Kontroll- und der Laufbandgruppe ist für die Parameter linker Ventrikel während der Diastole (Abb. 42), linker Ventrikel während der

Systole (Abb. 43), Septum in der Diastole (Abb. 44) und Septum in der Systole (Abb. 45) graphisch dargestellt.

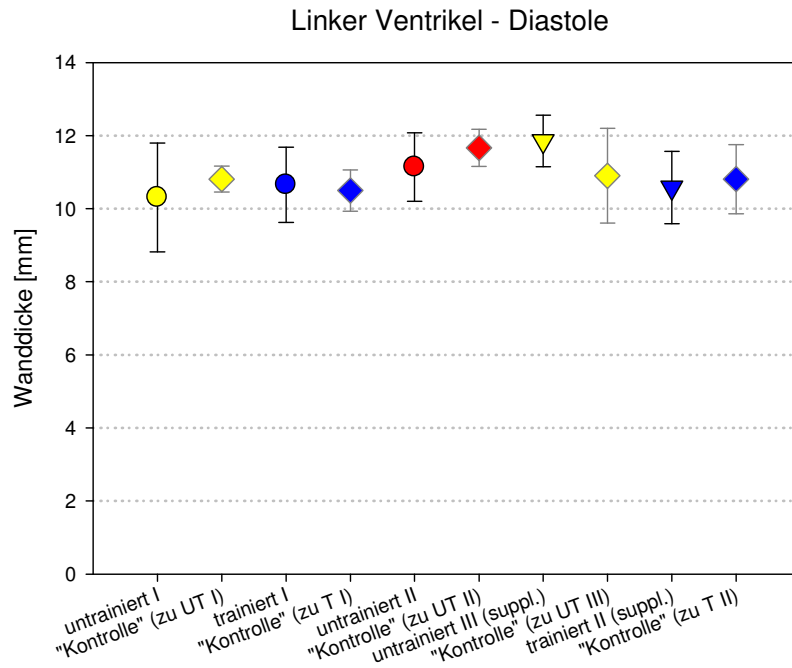


Abb. 42: Vergleich der Wanddicke des linken Ventrikels in der Diastole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

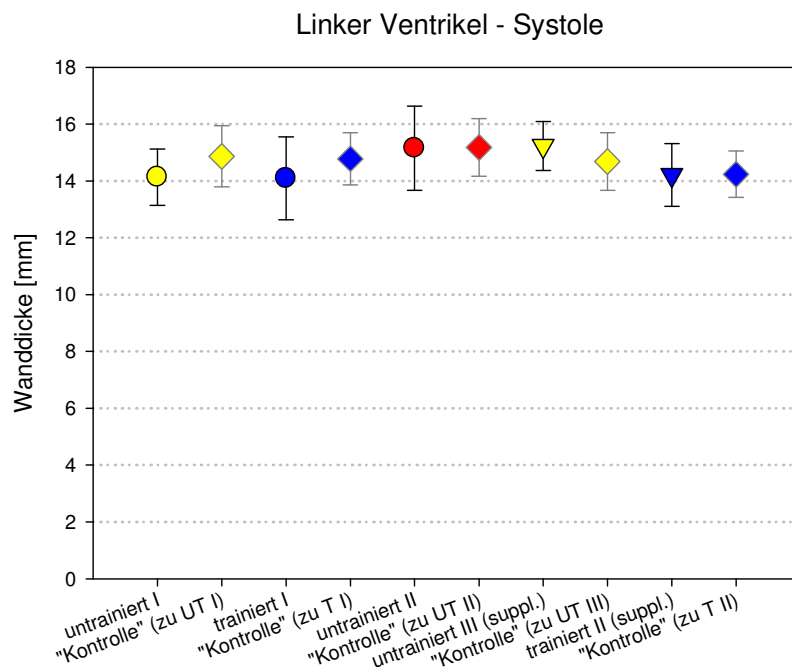


Abb. 43: Vergleich der Wanddicke des linken Ventrikels in der Systole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

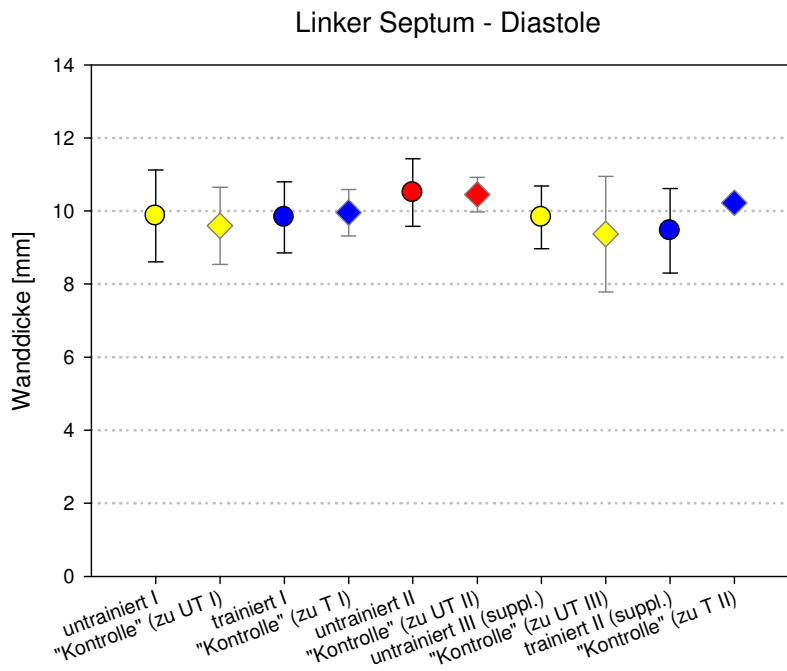


Abb. 44: Vergleich der Wanddicke des Septums in der Diastole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N= 3).

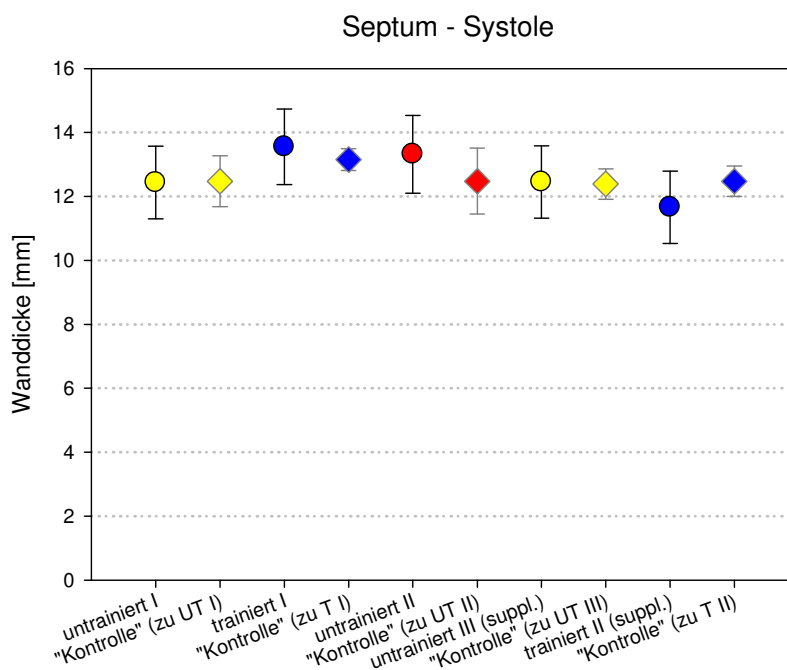


Abb. 45: Vergleich der Wanddicke des Septums in der Systole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N= 3).

4.5.2 Volumenfluss

4.5.2.1 Ergebnisse der Laufbandgruppe

Es wurden folgende Parameter gemessen: Schlagvolumen (SV), das Geschwindigkeits-Zeit-Integral („velocity-time-integral“, VTI), die maximale Flussgeschwindigkeit (Vmax) sowie der Aortendurchmesser (LVOT).

Training hatte auf keinen der Parameter einen signifikanten Effekt, mit Ausnahme des Aortendurchmessers ($F_{2,12} = 4,554$, $p = 0,034$, univariate RM ANOVA). In einem Post-Hoc-Test (Bonferroni) konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen dem Durchmesser der Aorta von untrainierten Hunden, trainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause ermittelt werden (Abb. 46).

Die Werte aller Parameter untrainierter, nicht supplementierter Hunde wurden daher zusammengefasst („untrainiert I+II“). Ein Vergleich der zusammengefassten Werte untrainierter (I+II) Hunde mit trainierten Hunden bestätigte den signifikanten Effekt ($F_{1,6} = 8,751$, $p = 0,025$, univariate RM ANOVA) von Training auf den Durchmesser der Aorta (Abb. 47).

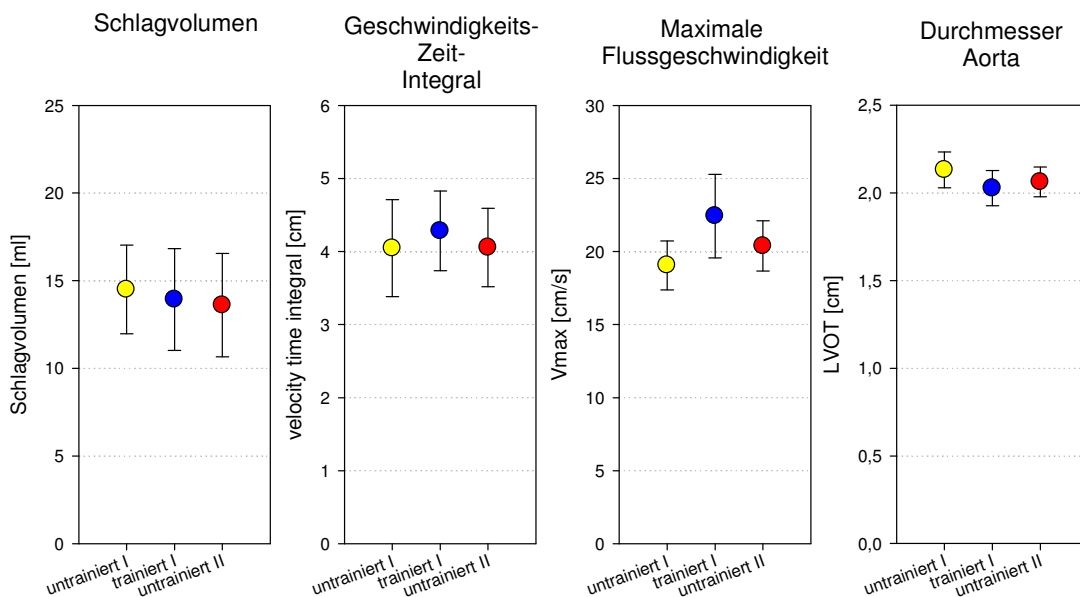


Abb. 46: Effekte von Training und Trainingspause auf die Volumenflussparameter, „untrainiert I“ (●, N = 7), „trainiert I“ (●, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 7).

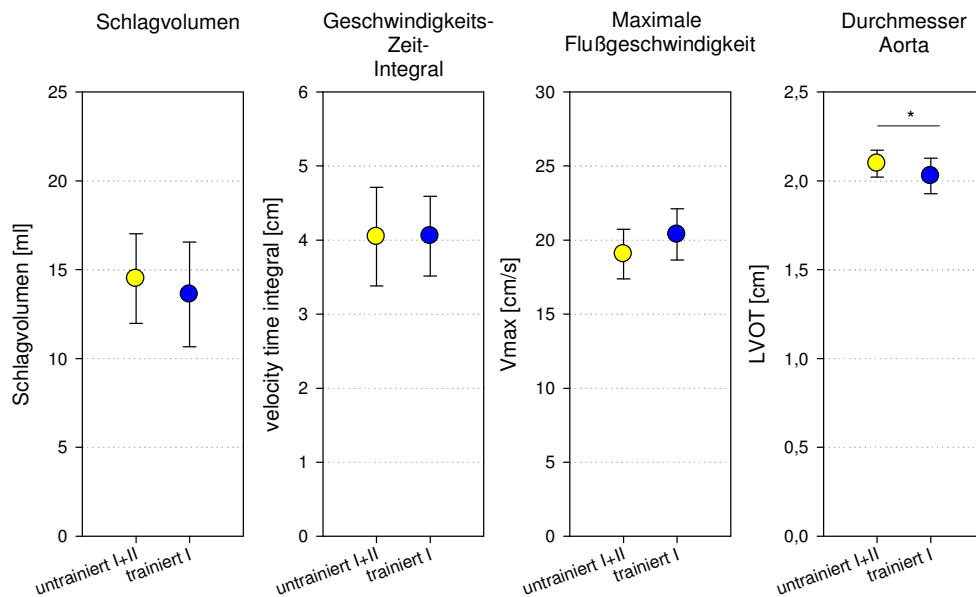


Abb. 47: Effekt von Training auf die Volumenflussparameter, „untrainiert I+II“ (●, N = 7) und „trainiert I“ (●, N = 7).

Wenn trainierte und untrainierte Hunde der supplementierten Gruppe verglichen wurden, hatte Training einen signifikanten Einfluss auf den Parameter „maximale Flussgeschwindigkeit“ ($F_{1,6} = 18,347$, $p = 0,004$, univariate RM ANOVA, Abb. 48). Auf die übrigen Parameter wurde kein signifikanter Einfluss festgestellt.

In einem Gesamtvergleich der Effekte von Training und GAA-Supplementierung konnte ausschließlich für den Parameter „maximale Flussgeschwindigkeit“ ein signifikanter Einfluss der Supplementierung gemessen werden ($F_{1,6} = 8,722$, $p = 0,026$, LN, univariate RM ANOVA, Abb. 48). Zwischen den beiden Effekten von Training und Supplementierung bestanden zudem signifikante Interaktionen für die Parameter „Geschwindigkeits-Zeit-Integral“ ($F_{1,6} = 15,718$, $p = 0,007$, LN, univariate RM ANOVA; 9.2.3.2) und „maximale Flussgeschwindigkeit“ ($F_{1,6} = 23,497$, $p = 0,003$, LN, univariate RM ANOVA; 9.2.3.2). Hier bewirkte Ausdauertraining bei nicht supplementierten Hunden einen Anstieg der Parameter, während es bei supplementierten Hunden eine Abnahme bewirkte. Ebenso bestand eine signifikante Interaktion zwischen den Effekten von Training und Supplementierung auf den Parameter „Durchmesser Aorta“ ($F_{1,6} = 15,078$, $p = 0,008$, univariate RM ANOVA; 9.2.3.2). Bei nicht supplementierten Hunden bewirkte Ausdauertraining eine Abnahme des Durchmessers der Aorta, während er bei supplementierten Hunden keine Änderung zeigte.

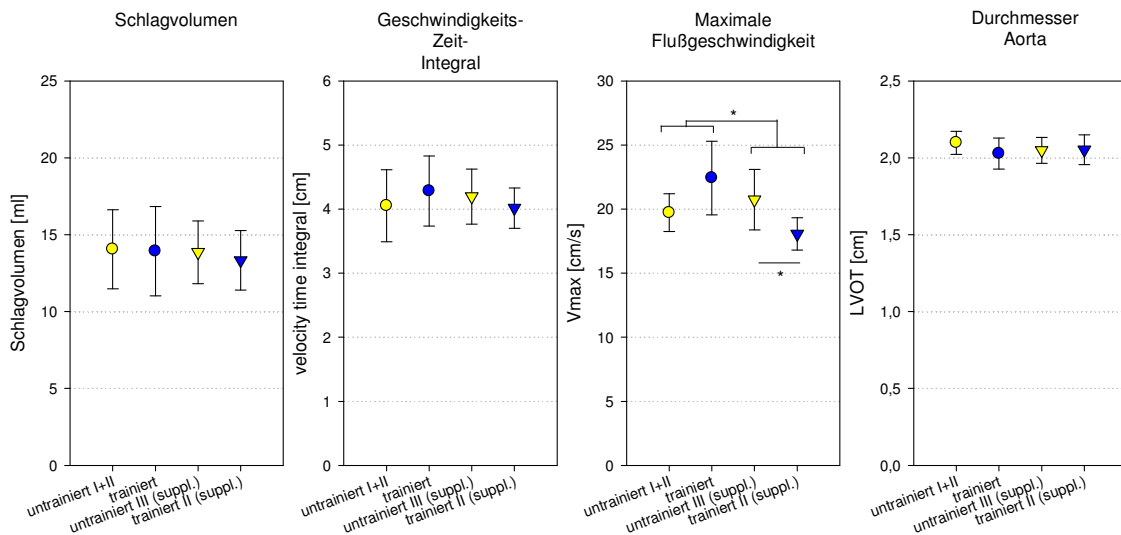


Abb. 48: Effekte von Training und GAA-Supplementierung auf die Volumenflussparameter. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 7) und „trainiert I“ (●, N = 7), Supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7).

4.5.2.2 Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe

In den folgenden Abbildungen wurden die Ergebnisse der Kontrollgruppe (◆) farblich den Ergebnissen der Laufbandgruppe (● nicht supplementiert, bzw. ▼ supplementiert) zugeordnet („untrainiert“ ● oder ▼; „trainiert“ ● oder ▼ und „untrainiert“ nach einer Trainingspause, bzw. Aussetzen der Supplementierung ●). Die Hunde der Kontrollgruppe wurden jedoch nicht trainiert und erhielten keine Supplementierung.

Die Vergleiche der FBI-Hunde aus der Kontroll- und der Laufbandgruppe sind für die Parameter Schlagvolumen (Abb. 49), maximale Flussgeschwindigkeit (Abb. 50), Geschwindigkeits-Zeit-Integral (Abb. 51) und Durchmesser Aorta (Abb. 52) graphisch dargestellt.

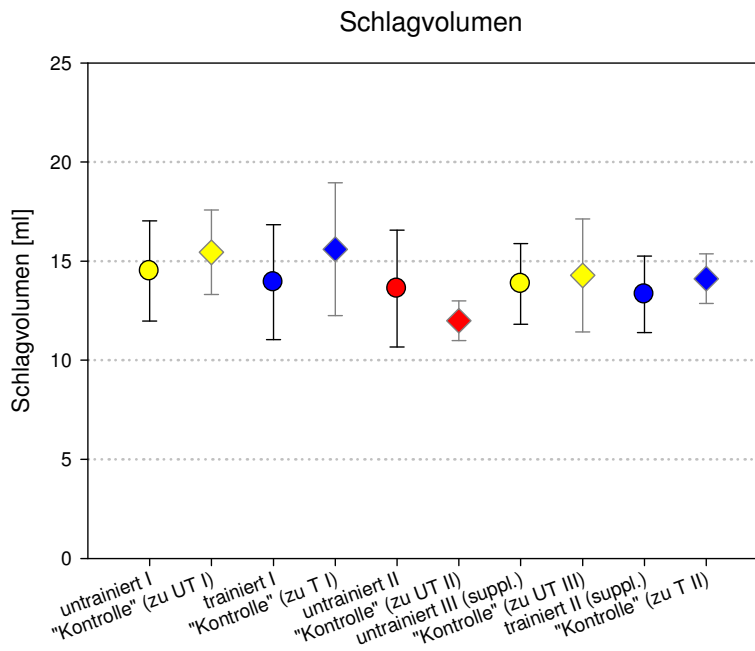


Abb. 49: Vergleich des Schlagvolumens von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

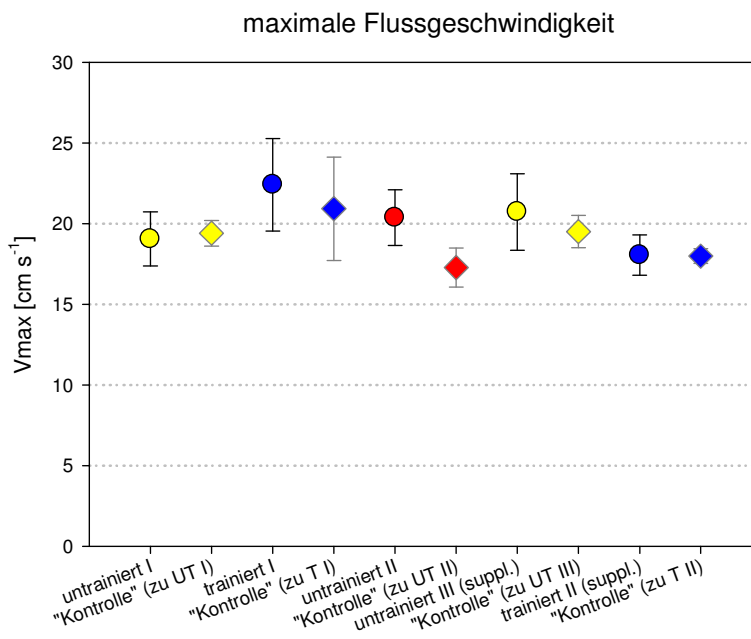


Abb. 50: Vergleich der maximalen Volumenflussgeschwindigkeit von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

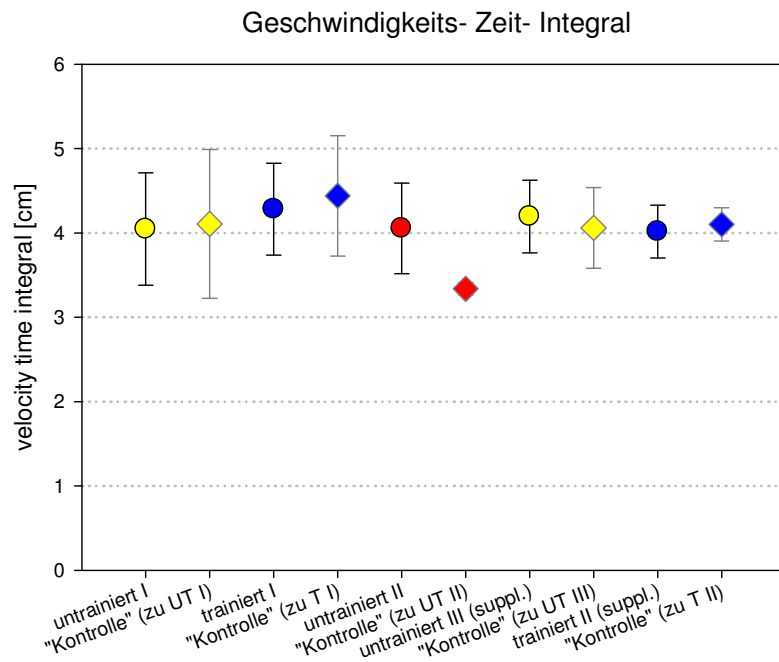


Abb. 51: Vergleich des Geschwindigkeits-Zeit-Integral von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

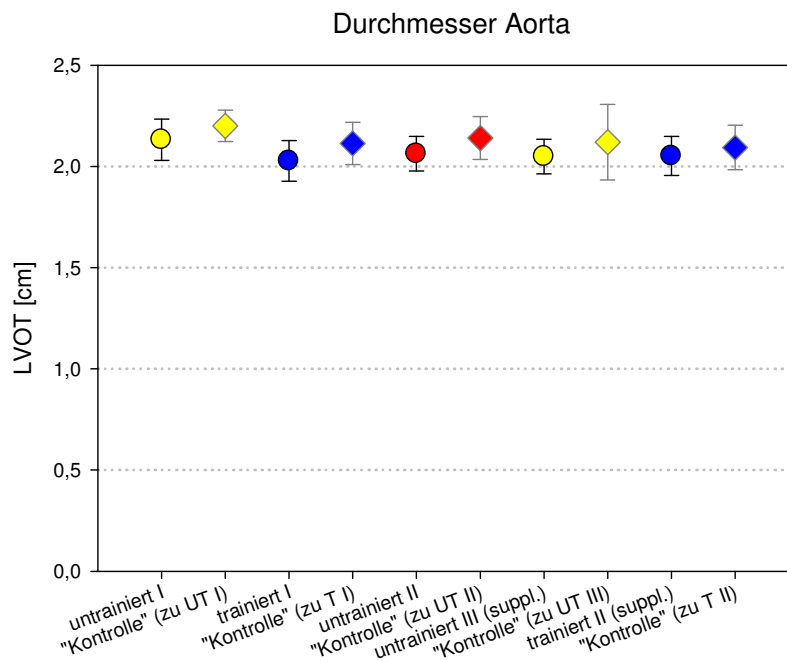


Abb. 52: Vergleich des Durchmessers der Aorta von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

4.6 Muskelultraschall

4.6.1 Ergebnisse der Laufbandgruppe

Es konnten keine signifikanten Effekte von Training (Abb. 53), Supplementierung (Abb. 54) oder der Kombination beider Faktoren (Abb. 55) auf die Dicke der gemessenen Lokomotionsmuskeln festgestellt werden.

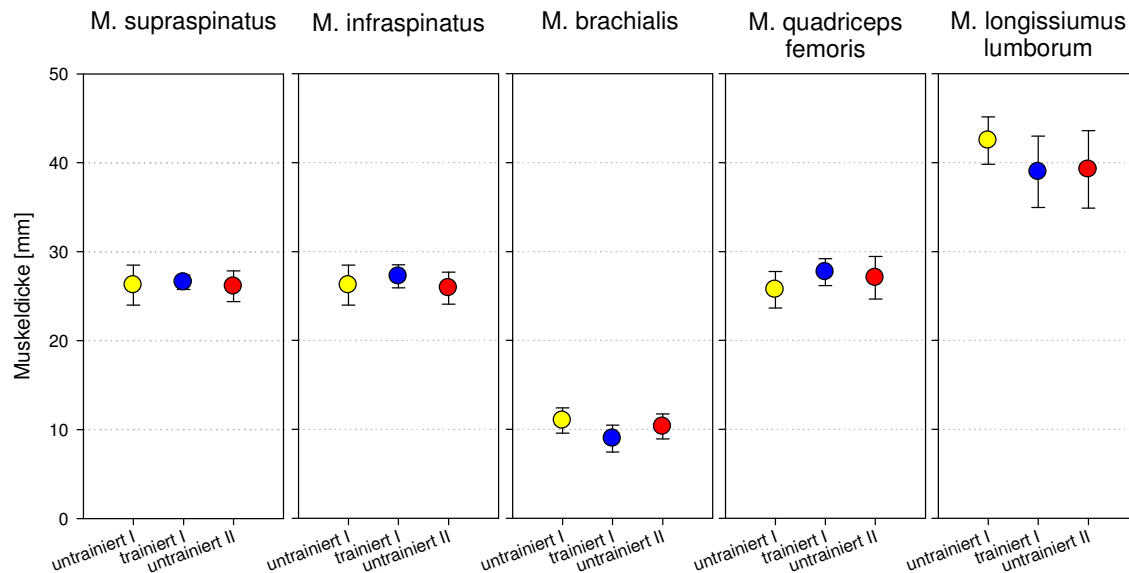


Abb. 53: Effekte von Training und Trainingspause auf die Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln, „untrainiert I“ (●, N = 7), „trainiert I“ (●, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 7).

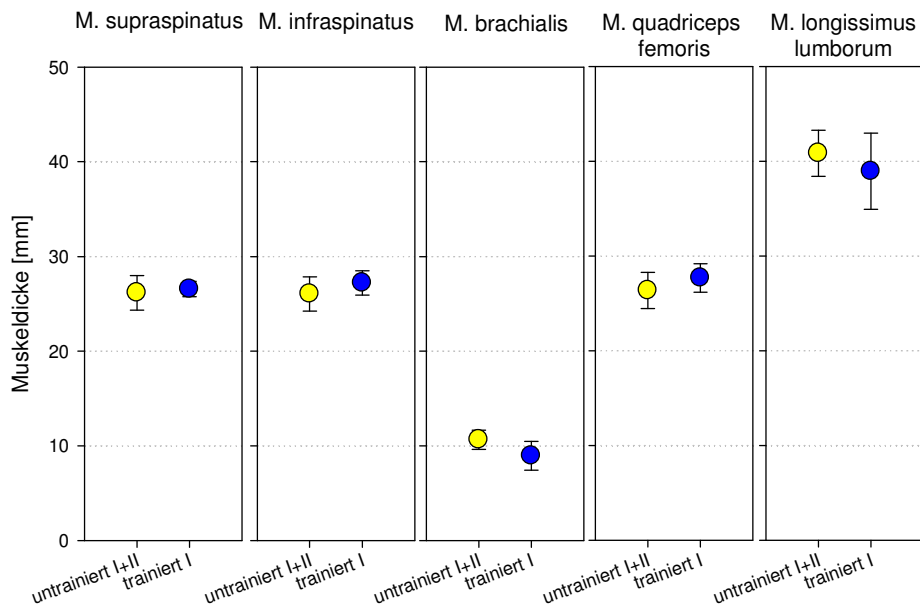


Abb. 54: Effekt von Training auf die Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln, „untrainiert I+II“ (●, N = 7) und „trainiert I“ (●, N = 7).

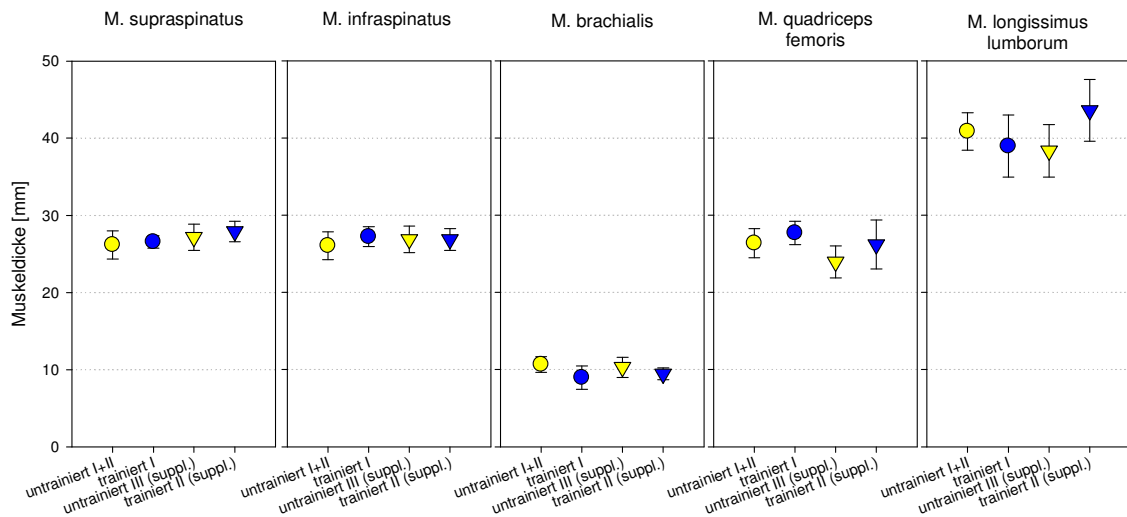


Abb. 55: Effekte von Training und GAA-Supplementierung auf die Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln. Nicht supplementiert: „untrainiert I+II“ (●, N = 7) und „trainiert I“ (●, N = 7), Supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7).

4.6.2 Vergleich der Ergebnisse von Versuchs- und Kontrollgruppe

In den folgenden Abbildungen wurden die Ergebnisse der Kontrollgruppe (◆) farblich den Ergebnissen der Laufbandgruppe (● nicht supplementiert, bzw. ▼ supplementiert) zugeordnet. Die Hunde der Kontrollgruppe wurden jedoch nicht trainiert und erhielten keine Supplementierung.

Zum Vergleich der FBI-Hunde aus der Kontroll- und der Laufbandgruppe wurden die Muskeldicken des M. supraspinatus (Abb. 56), M. infraspinatus (Abb. 57), M. brachialis (Abb. 58), M. quadriceps femoris (Abb. 59) sowie des M. longissimus lumborum (Abb. 60) graphisch dargestellt.

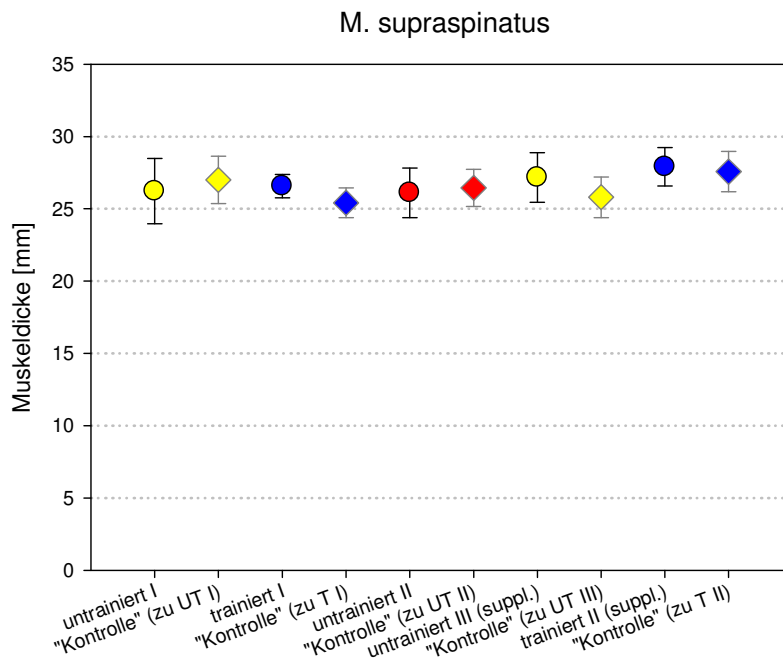


Abb. 56: Vergleich der Muskeldicke des M. supraspinatus von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

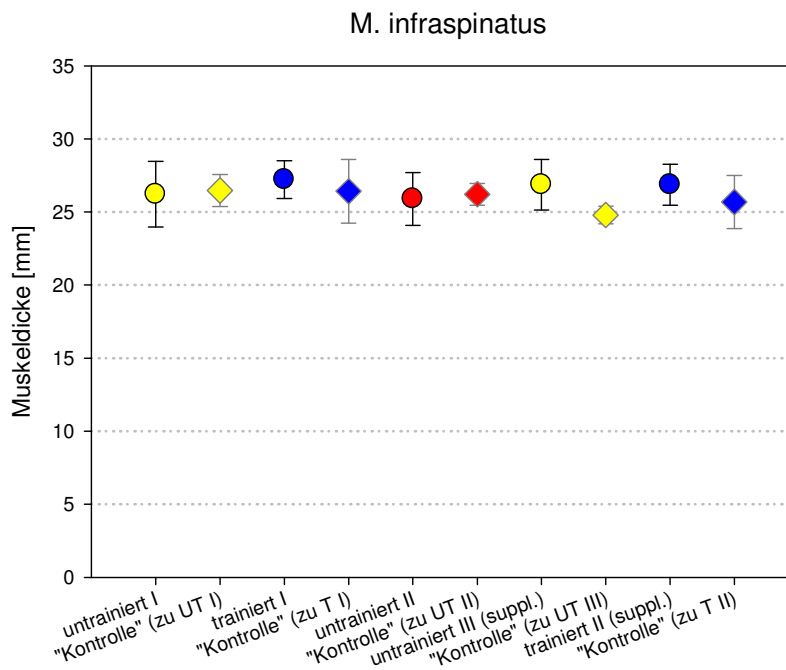


Abb. 57: Vergleich der Muskeldicke des M. infraspinatus von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

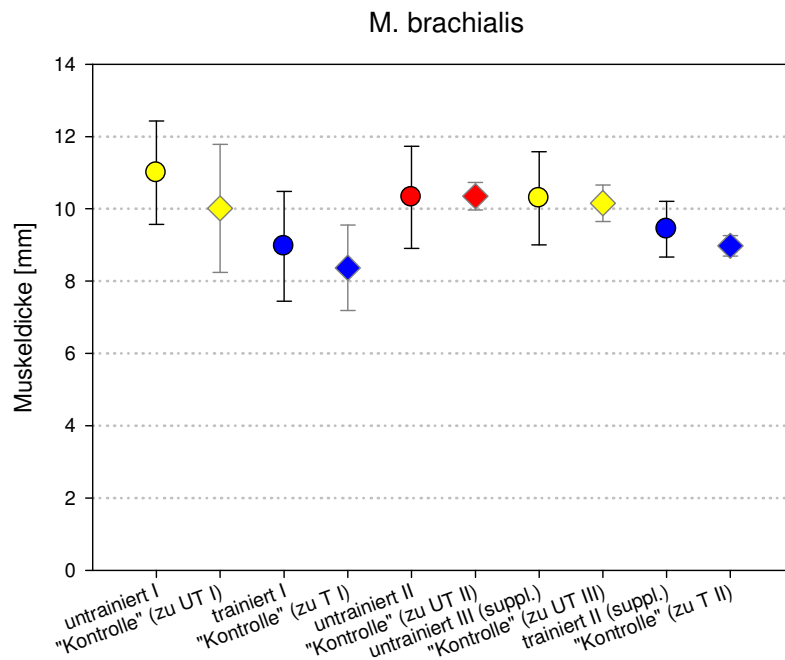


Abb. 58: Vergleich der Muskeldicke des M. brachialis von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

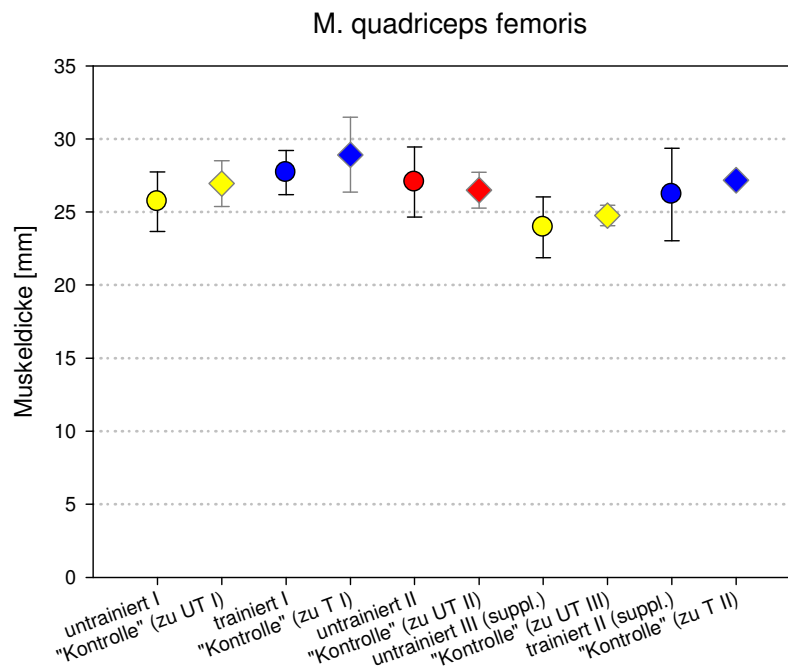


Abb. 59: Vergleich der Muskeldicke des M. quadriceps femoris von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

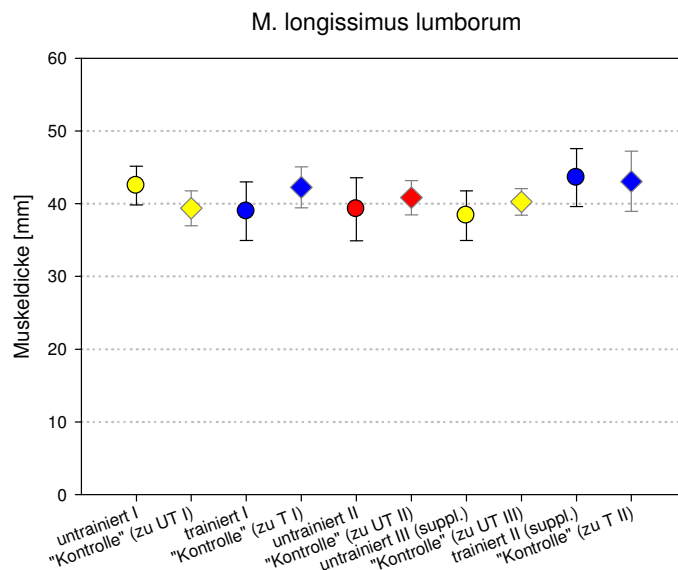


Abb. 60: Vergleich der Muskeldicke des M. longissimus lumborum von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe. Laufbandgruppe, nicht supplementiert: „untrainiert I“ (●, N = 10), „trainiert I“ (●, N = 7), untrainiert II“ (●, N = 7); Laufbandgruppe, supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Kontrollgruppe (◆, N = 3).

4.7 Muskelbiopsien

4.7.1 Kreatin

Die Supplementierung mit GAA hatte weder einzeln noch in Kombination mit Ausdauertraining einen Effekt auf den Kreatin-Gehalt in der Muskulatur (Abb. 61).

4.7.2 Kreatinphosphat

Bei supplementierten Hunden bewirkte Ausdauertraining im Vergleich zu untrainierten, supplementierten Hunden einen signifikanten Anstieg des Kreatinphosphat-Gehaltes in der Muskulatur ($F_{1,6} = 24,731$, d.f. = 1, $p = 0,004$, RM ANOVA). Nachdem die Guanidinoacetat-Supplementierung und Training für 4 Monate ausgesetzt wurden, bestand bei diesen Hunden („Kontrolle“) im Vergleich zu untrainierten, supplementierten Hunden weiterhin ein signifikant höherer Kreatinphosphat-Gehalt in der Muskulatur ($F_{1,6} = 18,587$, d.f. = 1, $p = 0,005$, RM ANOVA; Abb. 61).

4.7.3 Adenosintriphosphat

Die Supplementierung mit GAA in Kombination mit Ausdauertraining bewirkte im Vergleich zu untrainierten, GAA-supplementierten Hunden keinen signifikanten Anstieg des Adenosintriphosphat (ATP)-Gehaltes in der Muskulatur.

Nachdem die GAA-Supplementierung und das Training für 4 Monate ausgesetzt wurden, wiesen diese Hunde („Kontrolle“) einen signifikant höheren ATP-Gehalt in der Muskulatur auf ($F_{1,6} = 10,024$, d.f. = 1, $p = 0,019$, RM ANOVA) als untrainierte, GAA-supplementierte Hunde (Abb. 61).

4.7.4 Gesamt-Kreatin

Bei supplementierten Hunden bewirkte Ausdauertraining im Vergleich zu untrainierten, supplementierten Hunden einen signifikanten Anstieg des Gesamt-Kreatin-Gehaltes in der Muskulatur von Hunden ($F_{1,6} = 8,130$, d.f. = 1, $p = 0,036$, RM ANOVA; Abb. 61).

4.7.5 Gesamt-Kreatin-Gehalt/ATP

Die Supplementierung mit GAA bewirkte bei untrainierten Hunden im Vergleich zu Hunden, bei denen die GAA-Supplementierung für 4 Monate ausgesetzt wurde, einen signifikanten Anstieg des Quotienten aus Gesamt-Kreatin und ATP in der Muskulatur ($F_{1,6} = 28,927$, d.f. = 1, $p = 0,002$, RM ANOVA; Abb. 61).

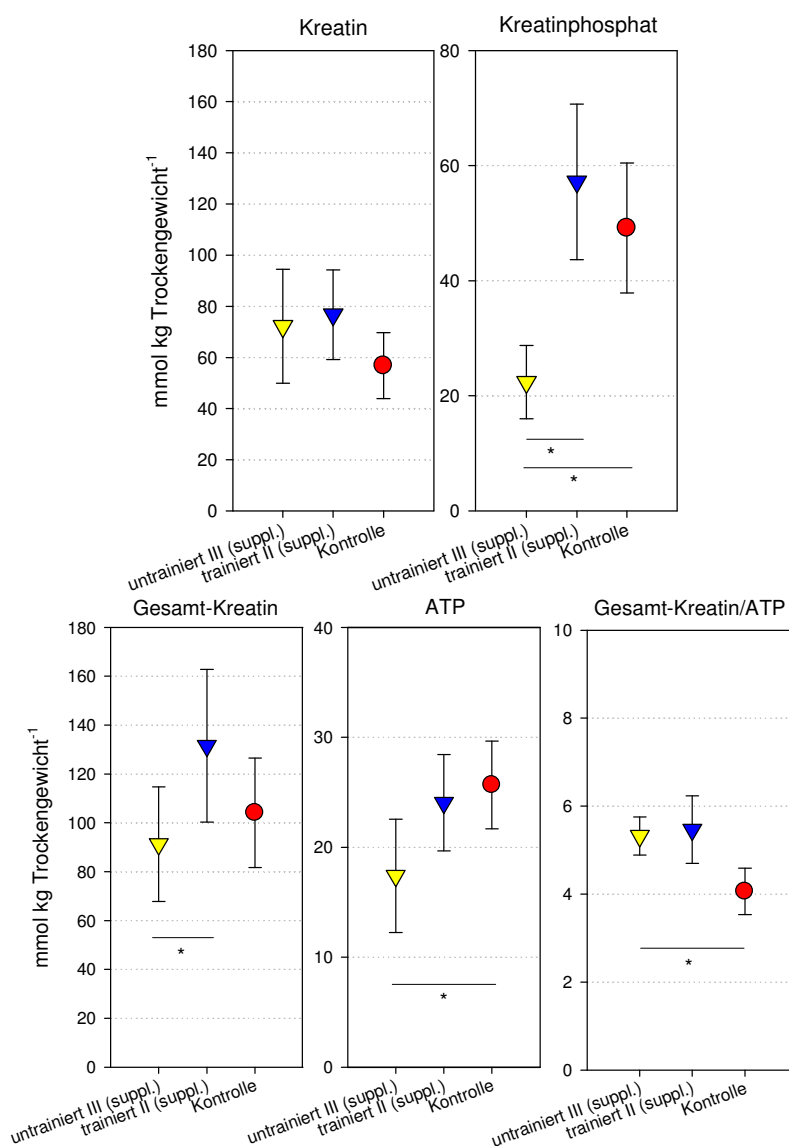


Abb. 61: Effekt von GAA-Supplementierung auf den Gehalt an Kreatin, Kreatinphosphat, Gesamt-Kreatin, ATP und das Verhältnis von Gesamt-Kreatin und ATP in der Muskulatur von Hunden. Supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7); Nicht supplementiert, nach einer 4-monatigen Pause von Supplementierung und Training „Kontrolle“ (●, N = 7).

4.8 Comet Assay

Training hatte keinen signifikanten Effekt auf die DNA-Schädigung zu den Blutentnahmezeitpunkten „Min 0“ und „Min 15“. Zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 120“ konnte ein signifikanter Trainingseffekt ermittelt werden ($F_{1,6} = 24,728$, $p = 0,003$, univariate RM ANOVA). Bei den trainierten Hunden unterschied sich die DNA-Schädigung zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 0“ signifikant von der zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 15“ gemessenen DNA-Schädigung ($F_{2,18} = 12,569$, $p = 0,009$, RM ANOVA). Ebenso bestand bei den trainierten Hunden ein signifikanter Unterschied der DNA-Schädigung zwischen den Blutentnahmezeitpunkten „Min 0“ und „Min 120“ ($F_{2,18} = 12,569$, $p < 0,001$, RM ANOVA, Abb. 62).

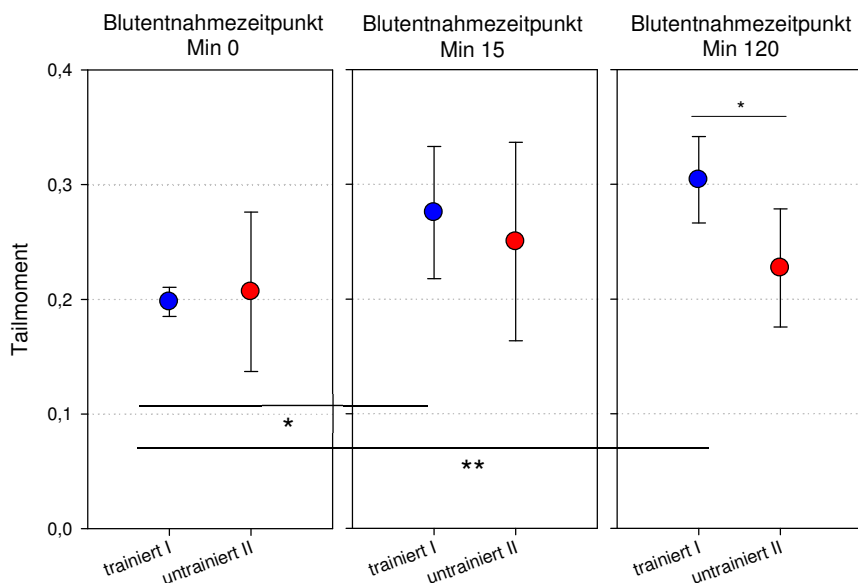


Abb. 62: Effekt von Training und Trainingspause auf das Tailmoment, „trainiert I“ (●, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 6).

Beim Vergleich trainierter und untrainierter Hunde der supplementierten Gruppe hatte Training ebenfalls keinen Effekt auf die DNA-Schädigung zu den Blutentnahmezeitpunkten „Min 0“ und „Min 15“. Zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 120“ bestand ein signifikanter Unterschied zwischen untrainierten und trainierten Hunden ($F_{1,6} = 6,609$, $p = 0,042$, univariate RM ANOVA). Bei den untrainierten, supplementierten Hunden unterschied sich die DNA-Schädigung zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 0“ signifikant von der zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 120“ gemessenen DNA-Schädigung ($F_{2,18} = 9,704$, $p = 0,001$, RM ANOVA). Ebenso bestand bei den untrainierten, supplementierten Hunden ein signifikanter Unterschied der DNA-Schädigung zwischen den Blutentnahmezeitpunkten „Min 15“ und „Min 120“ ($F_{2,18} = 9,704$, $p = 0,042$, RM ANOVA, Abb. 63).

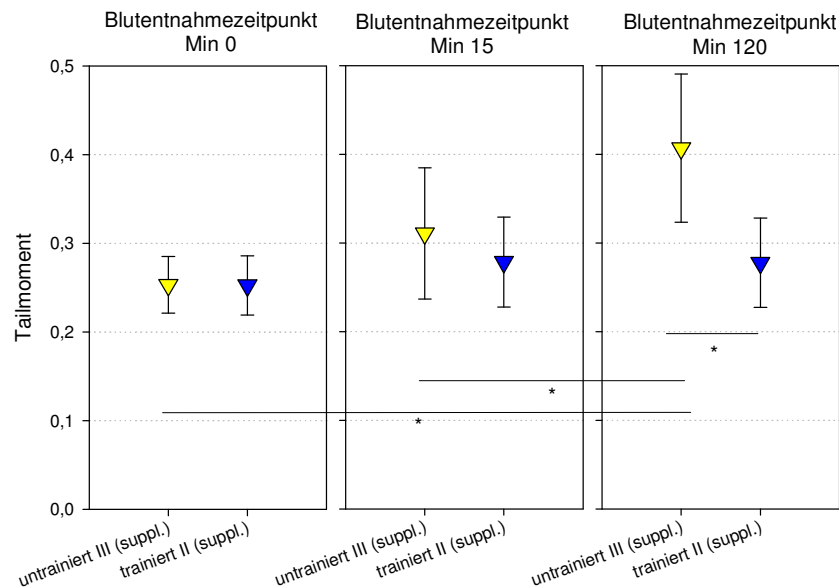


Abb. 63: Effekt von GAA-Supplementierung in Kombination mit Training auf das Tailmoment, „untrainiert I+II“ (▼, N = 7) und „trainiert I“ (▼, N = 7).

In einem Gesamtvergleich der Effekte von Training und GAA-Supplementierung bestand zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 0“ ($F_{1,5} = 27,505$, $p = 0,003$, univariate RM ANOVA) und „Min 120“ ($F_{1,5} = 6,715$, $p = 0,049$, univariate RM ANOVA) ein signifikanter Einfluss der Supplementierung auf die DNA-Schädigung. Zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 15“ bestand kein signifikanter Effekt (Abb. 64).

Eine signifikante Interaktion ($F_{1,5} = 19,912$, $p = 0,007$, univariate RM ANOVA) zwischen Trainingszustand und Supplementierung konnte zum Blutentnahmezeitpunkt „Min 120“ festgestellt werden (9.2.4). Bei nicht supplementierten Hunden bewirkte Training einen Anstieg der DNA-Schädigung zu diesem Blutentnahmezeitpunkt, während die DNA-Schädigung bei untrainierten, supplementierten Hunden im Vergleich zu nicht supplementierten Hunden deutlich höher lag und durch Ausdauertraining abnahm.

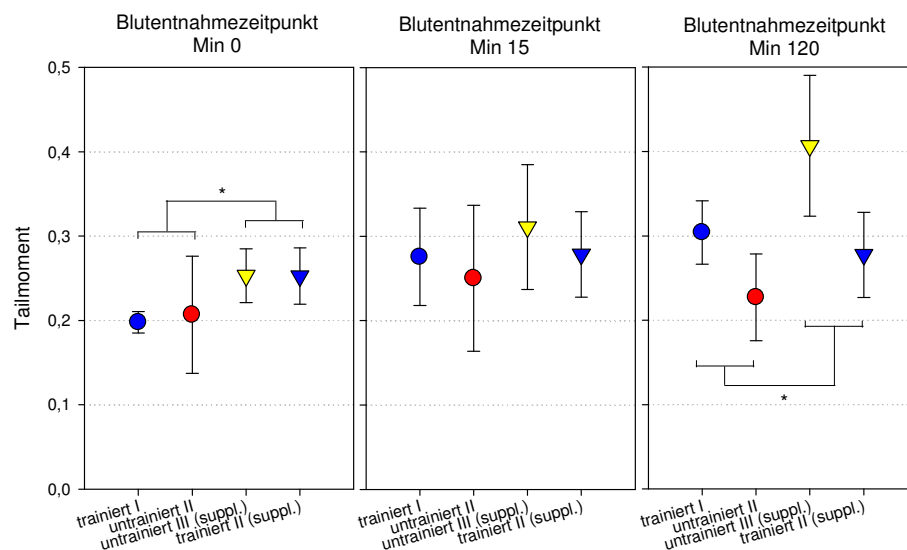


Abb. 64: Effekt von Training und GAA-Supplementierung auf das Tailmoment. Nicht supplementiert: „trainiert I“ (●, N = 7) und „untrainiert II“ (●, N = 6); supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7).

Um den Einfluss der Außentemperatur auf die DNA-Schädigung auszuschließen wurde für jeden Blutentnahmezeitpunkt eine Regressionsanalyse durchgeführt. Dabei konnte keine Abhängigkeit des Tailmoments von der Außentemperatur festgestellt werden (Tabelle 7).

Tabelle 7: Übersicht über das Tailmoment zu den untersuchten Blutentnahmezeitpunkten und der an diesem Tag vorherrschenden Außentemperatur in °C.

Messphase	Tailmoment zum Blutentnahmezeitpunkt			Außentemperatur [°C]
	Min 0	Min 15	Min 120	
Trainiert II	0,20 ± 0,01	0,28 ± 0,06	0,30 ± 0,04	-3,84 ± 0,38
Untrainiert II	0,24 ± 0,10	0,29 ± 0,13	0,23 ± 0,05	3,82 ± 8,12
Untrainiert III (suppl.)	0,25 ± 0,03	0,31 ± 0,07	0,41 ± 0,08	15,22 ± 1,67
Trainiert II (suppl.)	0,25 ± 0,03	0,28 ± 0,05	0,28 ± 0,05	23,08 ± 2,14

4.9 Aktivität

Da sich die zwei verschiedenen, in dieser Studie verwendeten Accelerometer nicht miteinander vergleichen ließen (siehe 3.2.6.10), fand die Auswertung ausschließlich für die anhand der Acticals erhobenen Daten statt. Es konnten daher aus der nicht supplementierten Messperiode lediglich die Daten der Trainingspause und der Messphase „untrainiert II“ sowie sämtliche Daten der supplementierten, Messperiode ausgewertet werden. An einigen Tagen fanden Bilanzversuche statt, bei denen die Tiere einzeln gehalten wurden, diese Aktivitätsdaten wurden entfernt, um die Ergebnisse nicht durch eine im Vergleich zur Gruppenhaltung geringere Aktivität zu verfälschen. Zunächst wurden einzelne Wochentage miteinander verglichen, um eine Verfälschung der Daten durch unterschiedliche Tagesabläufe bzw. zeitlich verkürzte Aufenthalte im Freilaufgehege am Wochenende zu verhindern. Ein Vergleich der Aktivitätsdaten der einzelnen Wochentage während der Trainingspause-Phase ergab einen signifikanten Unterschied ($F_{6,48} = 17,311$, $p = 0,03$, RM ANOVA) der Wochentage Freitag, Samstag und Sonntag zu den übrigen Wochentagen Montag, Dienstag, Mittwoch und Donnerstag (Tabelle 8 und Abb. 65).

Tabelle 8: Aktivitätsmittelwerte der Wochentage Montag, Dienstag, Mittwoch, Donnerstag, Freitag, Samstag und Sonntag während der Trainingspause (nicht supplementiert).

Wochentag	Aktivitätsmittelwert [activity counts hour ⁻¹]	Standard- abweichung
Montag	51974,328	± 28265,135
Dienstag	55453,050	± 25672,050
Mittwoch	52551,748	± 24471,775
Donnerstag	46969,179	± 23727,793
Freitag	40524,216	± 19009,695
Samstag	35394,218	± 16091,282
Sonntag	31685,529	± 15960,660

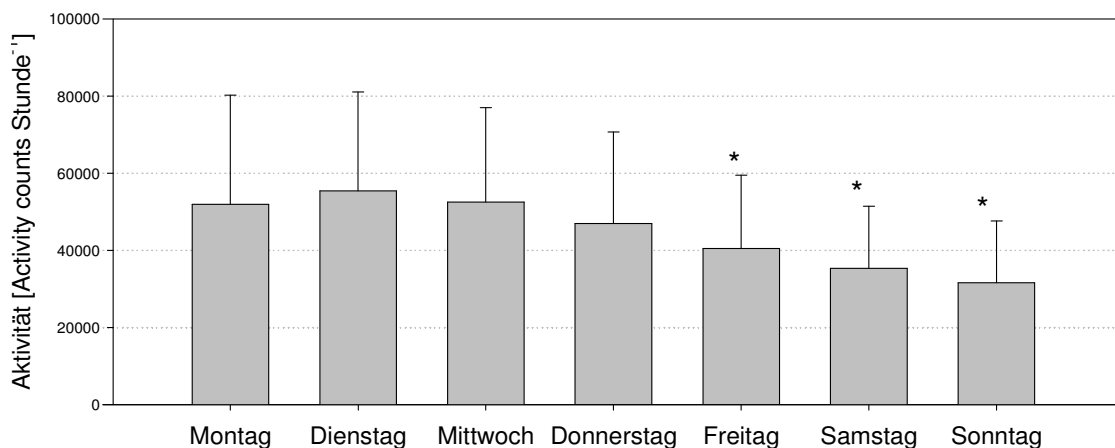


Abb. 65: Vergleich der freien Aktivität von FBI-Hunden während verschiedenen Wochentagen in der Trainingspause; (*) Freitag, Samstag und Sonntag unterscheiden sich signifikant von den restlichen Wochentagen.

Für die weiteren Analysen der Aktivitäten in den verschiedenen Phasen wurden ausschließlich die Aktivitätsdaten der Wochentage Montag bis Donnerstag verwendet.

Bei supplementierten Hunden bewirkte das Training während der Trainingsphase eine signifikant reduzierte freie Aktivität gegenüber untrainierten ($F_{5,41} = 10,135$, $p = 0,002$, LN, RM ANOVA) und trainierten ($F_{5,41} = 10,135$, $p = 0,004$, LN, RM ANOVA) Hunden (Abb. 66).

Die Supplementierung mit GAA bewirkte bei untrainierten Hunden in der Anfütterungsphase einen signifikanten Abfall der freien Aktivität gegenüber untrainierten, nicht supplementierten ($F_{5,41} = 10,135$, $p = 0,01$, LN, RM ANOVA) und nicht supplementierten Hunden in der Trainingspause ($F_{5,41} = 10,135$, $p = 0,024$, LN, RM ANOVA, Abb. 66). Die Kombination von Training und Supplementierung bewirkte während der Trainingsphase im Vergleich zu untrainierten, nicht supplementierten Hunden ($F_{5,41} = 10,135$; $p < 0,001$, LN, RM ANOVA), sowie gegenüber nicht supplementierten Hunden in der Trainings-

pause ($F_{5,41} = 10,135$; $p < 0,001$, LN, RM ANOVA) einen signifikanten Abfall der freien Aktivität (Abb. 66).

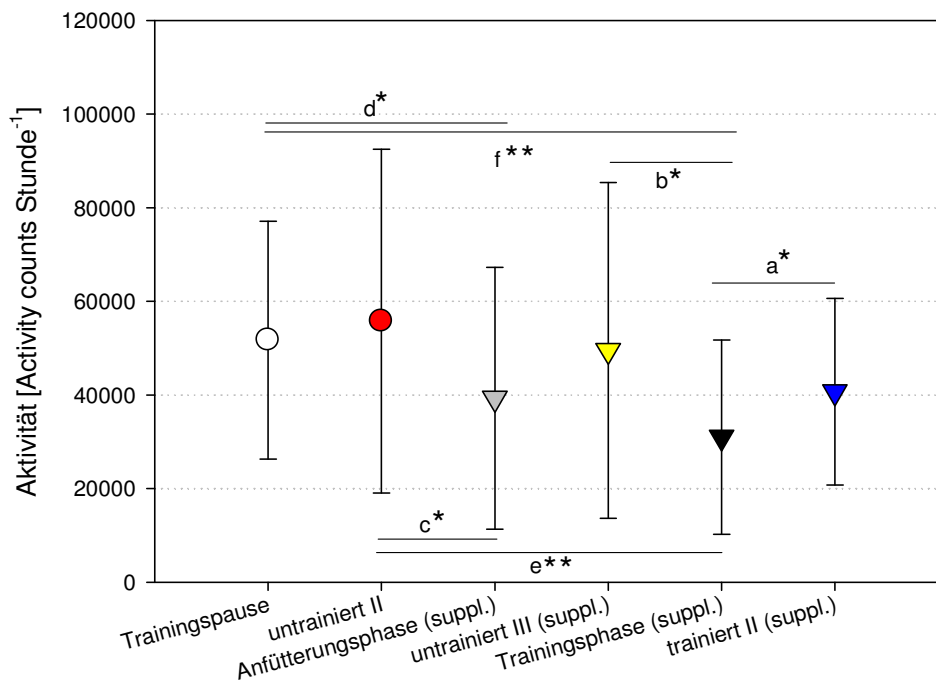


Abb. 66: Effekt von Training und Supplementierung auf die freie Aktivität von FBI-Hunden. Nicht supplementiert: „Trainingspause-Phase“ (○, N = 7), „untrainiert II“ (●, N = 7); supplementiert: „Anfütterungsphase“ (▼, N = 7), „untrainiert III“ (▼, N = 7), „Trainingsphase“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7). (a) Training während der Trainingsphase bewirkte eine signifikant reduzierte freie Aktivität gegenüber trainierten und (b) gegenüber untrainierten Hunden; (c) Supplementierung mit GAA bewirkte bei untrainierten Hunden in der Anfütterungsphase einen signifikanten Abfall der freien Aktivität gegenüber untrainierten, nicht supplementierten und (d) gegenüber nicht supplementierten Hunden in der Trainingspause; (e) Die Kombination von Training und Supplementierung bewirkte im Vergleich zu untrainierten, nicht supplementierten Hunden und (f) gegenüber nicht supplementierten Hunden in der Trainingsphase einen signifikanten Abfall der freien Aktivität während der Trainingsphase.

Eine Kovarianzanalyse der Aktivitäts- und Temperaturdaten sämtlicher Phasen ergab keinen einheitlichen Effekt der Temperatur auf die Aktivität. Für einzelne Phasen konnte jedoch eine Korrelation von Aktivität und Temperatur ermittelt werden. Eine negative Korrelation der beiden Faktoren wurde in der Trainingspause ($F_{1,24} = 4,946$, $p = 0,036$, ANCOVA, Abb. 67) und der Trainingsphase ($F_{1,13} = 9,682$, $p = 0,008$, ANCOVA, Abb. 69) ermittelt. Zudem bestand eine positive Korrelation der beiden Faktoren in der Messphase untrainiert II ($F_{1,10} = 5,545$, $p = 0,040$, ANCOVA, Abb. 68). Für die anderen Phasen besteht keine Korrelation zwischen Aktivität und Temperatur (Tabelle 9).

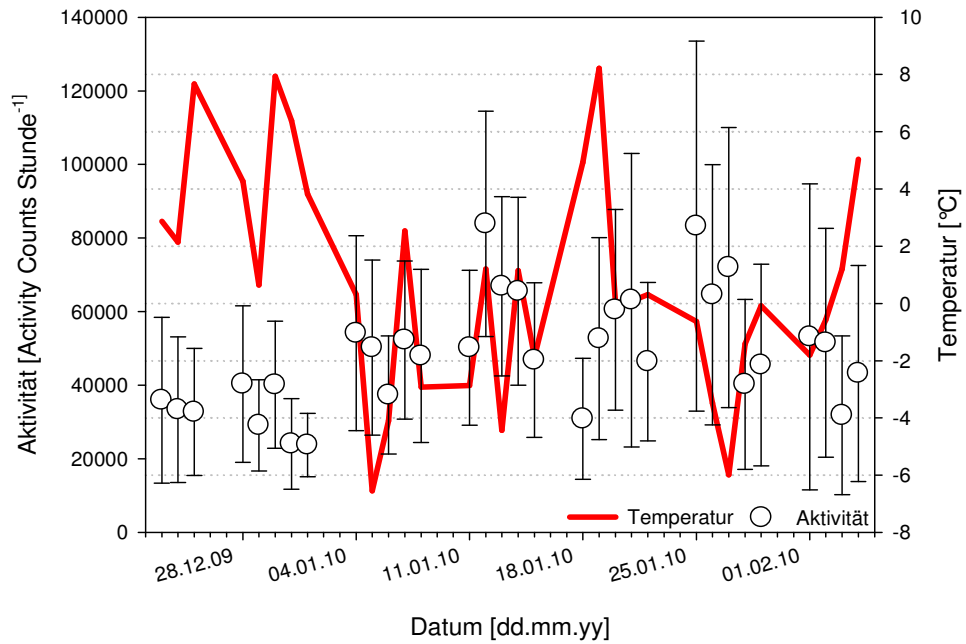


Abb. 67: Aktivitäts- und Temperaturdaten während der Trainingspause, hier besteht eine negative Korrelation zwischen Temperatur und Aktivität (N = 7).

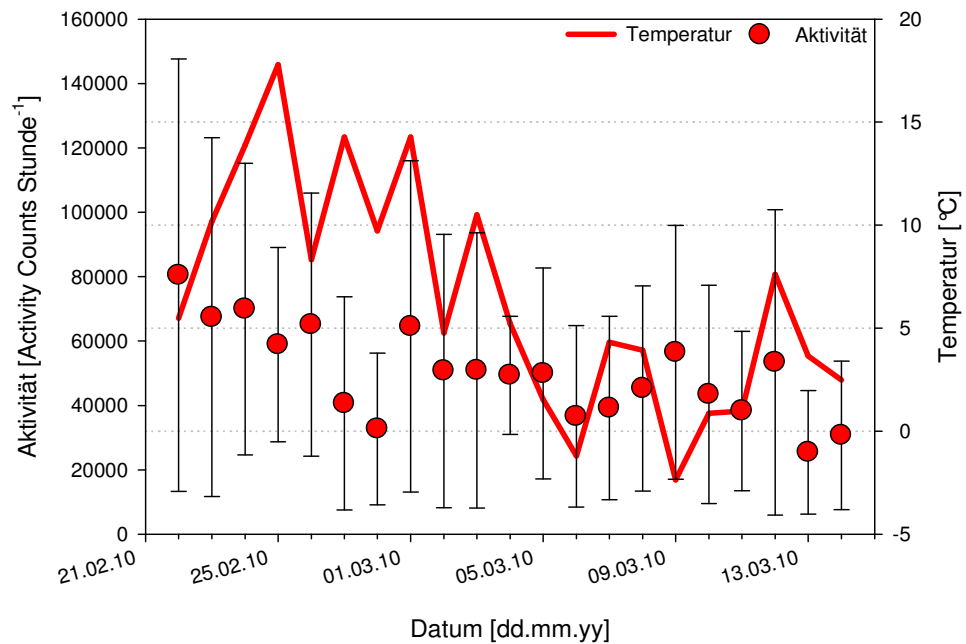


Abb. 68: Aktivitäts- und Temperaturdaten während der Messphase untrainiert II, hier besteht eine positive Korrelation zwischen Temperatur und Aktivität (N = 7).

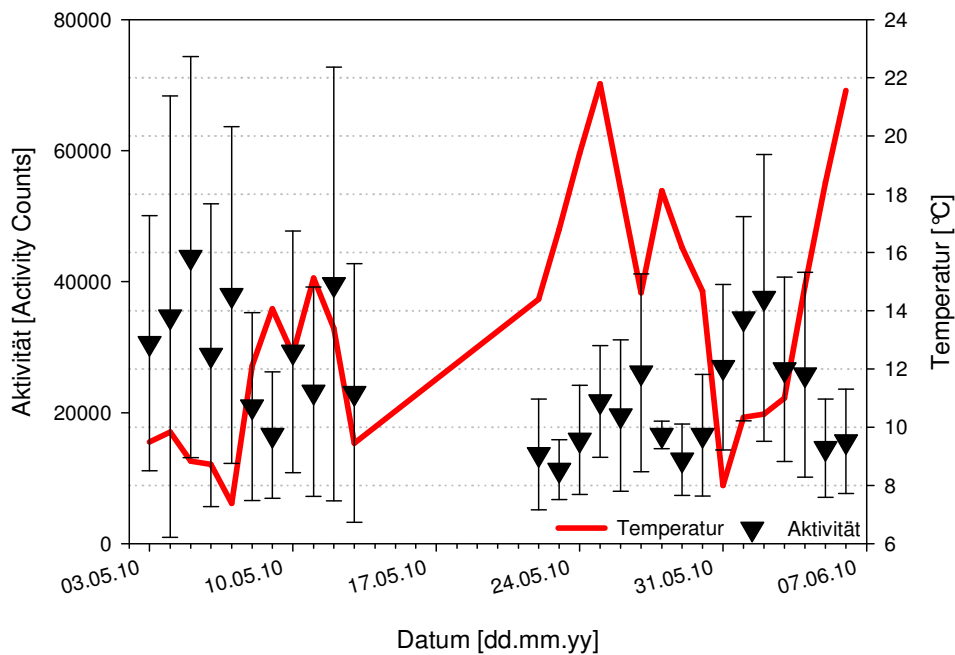


Abb. 69: Aktivitäts- und Temperaturdaten während der Trainingsphase (supplementiert), hier besteht eine negative Korrelation zwischen Temperatur und Aktivität ($N = 7$). Wegen eines Bilanzversuchs, bei dem die Hunde einzeln gehalten wurden, wurden einige Aktivitätsdaten entfernt.

Tabelle 9: Mittelwerte von Außentemperatur und Aktivität während verschiedenen Phasen.

Versuchsphase	Außentemperatur [°C]	Aktivität [Activity counts Stunde ⁻¹]
Trainingspause	0,657 ± 3,968	51737 ± 25402
Messphase untrainiert II	6,605 ± 5,924	55770 ± 36724
Anfütterungsphase (suppl.)	13,284 ± 6,559	39309 ± 27942
Messphase untrainiert III (suppl.)	10,932 ± 3,828	49505 ± 35875
Trainingsphase (suppl.)	12,991 ± 3,773	31018 ± 20744
Messphase trainiert (suppl.)	16,530 ± 4,195	40671 ± 19936

4.10 Blutwerte

Die Aufnahme von Kreatin in den Muskel kann bei gesunden Menschen durch submaximales Training in der Supplementierungsphase um weitere 10 % gesteigert werden (Harris et al. 1992). Daher wurde in den folgenden statistischen Analysen auch der Effekt von Training auf die untersuchten Blutwerte während der Supplementierung untersucht.

4.10.1 Kreatin

Die Guanidinoacetat-Supplementierung hatte einen signifikanten Einfluss (d.f. = 1, $p = 0,008$, Friedmann RM ANOVA on ranks) auf die Kreatin-Werte im Serum von untrainierten Hunden. Training in Kombination mit Supplementierung bewirkte keinen signifikanten Effekt (Abb. 70).

4.10.2 Kreatinin

Guanidinoacetat-Supplementierung und Training hatten weder einzeln noch in Kombination einen signifikanten Effekt auf den Kreatinin-Gehalt im Serum (Abb. 70).

4.10.3 Guanidinoacetat

Die Supplementierung mit Guanidinoacetat (GAA) hatte keinen signifikanten Effekt auf den GAA-Gehalt im Plasma von untrainierten Hunden. Die Kombination aus Training und Supplementierung bewirkte jedoch einen signifikanten Effekt (d.f. = 1, $p = 0,008$, Friedmann RM ANOVA on ranks, Abb. 70).

4.10.4 Homocystein

Guanidinoacetat-Supplementierung und Training hatten weder einzeln noch in Kombination einen signifikanten Effekt auf den Homocystein-Gehalt in Serum oder Plasma (Abb. 70).

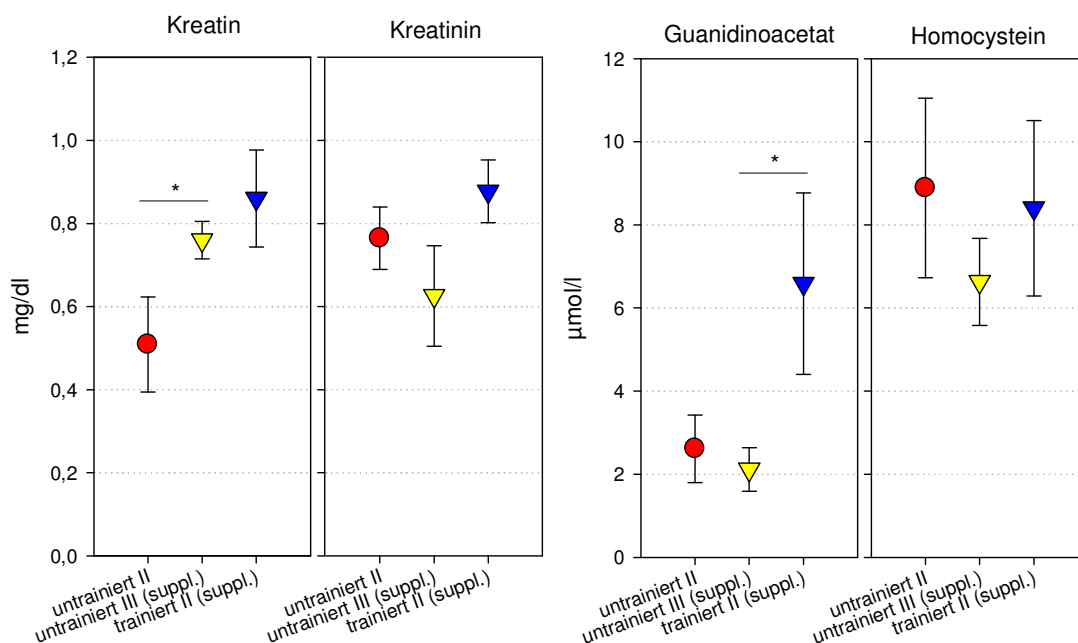


Abb. 70: Effekt von GAA-Supplementierung auf die untersuchten Blutwerte. Nicht supplementiert: „untrainiert II“ (●, N = 7); supplementiert: „untrainiert III“ (▼, N = 7) und „trainiert II“ (▼, N = 7).

5 Diskussion

5.1 Etablierung einer Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch

Ein Ziel dieser Studie war es, eine Korrelation zwischen Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch aufzuzeigen und somit eine einfache und kostengünstige Methode zu entwickeln, die in Zukunft die Abschätzung des Energieverbrauchs von Hunden anhand der Herzfrequenz ermöglichen würde.

Bei trainierten und untrainierten Hunden konnte eine signifikante, positive Korrelation zwischen Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch bei den Laufgeschwindigkeiten 5 km/h, 10 km/h, 15 km/h und 16,5 km/h nachgewiesen werden. Die Herzfrequenz- und Sauerstoffverbrauchs-Werte von trainierten und untrainierten Hunden wurden zunächst einzeln betrachtet, wobei auffiel, dass die Varianz der Werte von trainierten Hunden gegenüber denen untrainierter Hunde deutlich größer war. Die Regressionsgeraden unterschieden sich jedoch nicht signifikant voneinander und wurden daher in der Gleichung $\dot{V}O_2$ [ml O₂/kg KM/min] = 0,320 · HF – 19,299 (R² = 0,769) zusammengefasst. Somit wurde diese Gleichung für Hunde in unterschiedlichen körperlichen „Fitnessgraden“ bestätigt. Um eine feinere Abstufung der Laufgeschwindigkeiten bzw. Aktivitäten sowie eine größere Stichprobenzahl zu erhalten wurden die Ergebnisse aus der Studie von Beyreuther (2007) integriert. Diese Studie wurde ebenfalls an FBI-Hunden und unter identischen Haltungsbedingungen sowie unter Verwendung der gleichen Messgeräte durchgeführt. Anhand der so aufgestellten Gleichung $\dot{V}O_2$ [ml O₂/kg KM/min] = 0,321 · HF – 19,263 (R² = 0,785) kann der Sauerstoffverbrauch von unterschiedlich trainierten Hunden in den Aktivitätszuständen Stehen, Gehen und Laufen bei verschiedenen Geschwindigkeiten abgeschätzt werden. Zudem können ca. 80 % der beobachteten Varianz in den Messwerten durch diese Gleichung erklärt werden.

Einige Studien zu diesem Thema zeigten, dass verschiedene Variablen wie beispielweise jahreszeitliche Temperaturschwankungen den Zusammenhang zwischen HF und $\dot{V}O_2$ beeinflussen können (Holter et al. 1976). Da die Messungen der hier vorliegenden Studie sich über den Verlauf eines gesamten Jahres erstreckten und somit sämtliche jahreszeitlichen Temperaturschwankungen abdecken, erklären solche äußeren Faktoren zwanglos die verbleibenden 20 % der Gesamtvarianz.

Ein häufiger Kritikpunkt von Laufbandstudien ist, dass die erhobenen Daten nicht ohne weiteres auf natürliche Bedingungen übertragen werden können. So wurde bei Trabrennpferden festgestellt, dass diese auf dem Laufband bei gleicher Geschwindigkeit eine deutlich niedrigere Herzfrequenz als auf der Rennbahn zeigten (Couroucé et al. 1999). Wird die Herzfrequenz, wie in der hier vorliegenden Studie, bei einer bestimmten Laufgeschwindigkeit jedoch auf den $\dot{V}O_2$ bezogen anstatt auf die Laufgeschwindigkeit, sollte

kein solcher Effekt zu beobachten sein. Zudem wurden die Werte aus der Studie von Beyreuther (2007), die in die oben beschriebene Gleichung aufgenommenen wurden, an Hunden erhoben, die an der Leine im Freigelände liefen. Variationen in der Korrelation zwischen HF und $\dot{V}O_2$ aufgrund von unterschiedlicher Belastung auf dem Laufband und im Freigelände können somit durch die verbleibenden 20 % der Gesamtvarianz erklärt werden.

Damit stellt sich die Herzfrequenzmessung bei Hunden als eine einfache und kostengünstige Methodik dar, um den aktivitätsabhängigen Sauerstoffverbrauch mit hinreichender Präzision abschätzen zu können. Dies ermöglicht die individuelle Abschätzung des Mehrbedarfs für die Arbeitsleistung von Hunden während unterschiedlichen Aktivitäten gegenüber dem durch faktorielle Berechnung abgeschätzten Erhaltungsenergiebedarf für moderat aktive Hunde.

Die Anwendung der Herzfrequenzmessung zur Abschätzung des Energiebedarfs von Hunden hat jedoch auch ihre Grenzen. Aufgrund der Verschiedenartigkeit der Hunderrassen und der enormen Variabilität in Größe und Körpergewicht ist die in dieser Studie aufgestellt Gleichung nicht vorbehaltlos auf jede andere Hunderasse übertragbar. Weitere Studien zur Validierung dieser Methode bei anderen Rassen sind daher nötig. Auch kann die hier aufgestellte Gleichung nicht genutzt werden, um den Energiebedarf von trächtigen oder laktierenden Hündinnen abzuschätzen.

5.2 Effekte von Ausdauertraining

Ausdauertraining ist in der Lage, zahlreiche physiologische Anpassungen hervorzurufen, die einem Körper eine Leistungserhöhung ermöglichen. Die in dieser Studie unter standardisierten Bedingungen erzielten Effekte eines 6-wöchigen Ausdauertrainings auf Energiestoffwechsel, Konstitution und Leistungsfähigkeit von FBI-Hunden sollen im Folgenden diskutiert werden.

5.2.1 Effekte von Ausdauertraining auf den Energiestoffwechsel

Sämtliche Messungen des Energiestoffwechsels, sowohl in Ruhe als auch unter Belastung, wurden mittels indirekter Kalorimetrie bzw. Respirometrie durchgeführt. Die Respirometrie ist eine validierte und gut durchzuführende Methode zur Messung des Energiestoffwechsels und wurde bereits in zahlreichen Studien zur Abschätzung des Energiebedarfs von Hunden verwendet (Männer 1991, Walters et al. 1993, Walton et al. 1996, Speakman et al. 2001, Gerth et al. 2009b). Im Vergleich zu der vor allem für die Bestimmung der MR in Feldversuchen genutzten DLW-Methode ist es anhand von Respirometrie-Messungen möglich, den Energieverbrauch für bestimmte Leistungen direkt zu messen, während bei der DLW-Methode der Energieverbrauch ausschließlich für einen bestimmten Zeitraum angegeben werden kann (Speakman 1998, Butler et al. 2004).

Für die Messung des $\dot{V}O_2$ in Ruhe trugen die Hunde eine Atemmaske und während den Belastungsmessungen zusätzlich das Messgerät in einem Rucksack auf dem Rücken. Trotz der sorgfältigen Gewöhnung (10 Wochen) an das Laufband und die Atemmaske zeigten einige Hunde nach einer Reihe von Messungen große Unlust, mit der Maske auf

dem Laufband zu laufen, und verweigerten bei höheren Geschwindigkeiten z.T. das Weiterlaufen. Dies führte im Verlauf dieser Studie, v.a. bei den höheren Laufbandgeschwindigkeiten, zu einer sinkenden Stichprobenzahl. Die Tiere wurden während der Messungen zwar durch einen an die Laufbandgeschwindigkeit angepassten Ventilator gekühlt und hatten die Möglichkeit, trotz Atemmaske zu hecheln, eine Abkühlung durch Verdunstung wurde jedoch durch die Maske verhindert. Bei Trainingseinheiten auf dem Laufband ohne Atemmaske und Respirometrie-Messgerät liefen die meisten Hunde auch bei hohen Geschwindigkeiten wieder problemlos. Die mangelhafte Abkühlung während dem Laufbandlaufen rief bei den Hunden folglich vor allem bei hohen Geschwindigkeiten eine sinkende Bereitschaft hervor, mit der gesamten Ausrüstung auf dem Laufband zu laufen.

Bei der hier durchgeführten Studie wurde bewusst auf die Messung bzw. Analyse des $\dot{V}O_2\text{max}$ verzichtet. Dies hätte zwar für eine größere Vergleichbarkeit mit anderen Studien, vor allem aus der humanen Sportphysiologie, gesorgt; die Messung des (vermeintlichen) $\dot{V}O_2\text{max}$ wäre jedoch keiner repräsentativen Einschätzung der Leistungsfähigkeit der Hunde gleichgekommen, da es sich als schwierig herausstellte, die Hunde zum Laufen bei höheren Geschwindigkeiten, insbesondere bis zum Erreichen eines „steady states“ zu motivieren. In einer Studie an Ratten stellte sich der $\dot{V}O_2\text{max}$ ebenfalls als schlechter Vorhersagewert für die Ausdauerleistung heraus (Davies et al. 1981).

Um die Werte trainierter und untrainierter Hunde miteinander vergleichen zu können wurde der $\dot{V}O_2$ der Hunde in den letzten zwei Minuten einer jeden Stufe des Schwellentests verwendet.

Für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Hunde während des Maximaltests wurden verschiedene Parameter herangezogen, wie der kurzfristig erreichte höchste $\dot{V}O_2$ („peak“), der $\dot{V}O_2$ vor dem Abbruch des Laufs durch den Hund („end“) sowie der Mittelwert des $\dot{V}O_2$ über den gesamten Zeitraum in dem die Hunde bei 16,5 km/h liefen. Zusätzlich wurde die Laufdauer bei dieser Geschwindigkeit ermittelt und eine Regressionsanalyse für den $\dot{V}O_2$ bei der Laufgeschwindigkeit von 16,5 km/h durchgeführt. Es stellte sich jedoch heraus, dass der Wert „peak“ vor allem durch die Aufregung während der Beschleunigung des Laufbandes auf die Höchstgeschwindigkeit von 16,5 km/h stets zu Beginn der Messung erreicht wurde. Auch die Steigung der Regressionsgeraden lieferte für untrainierte und trainierte Hunde keine einheitlichen Tendenzen. Die Laufdauer stellte sich jedoch als verlässlicher Vorhersagewert für die Ausdauerleistung der Hunde heraus.

Eine Arbeitshypothese dieser Studie war, dass Ausdauertraining bei den Hunden zu einer höheren oxidativen Leistungsfähigkeit auf dem Laufband führt, die aber nach einer Trainingspause reversibel sein sollte. Zur Überprüfung dieser Hypothese absolvierten die Hunde in einer Trainingsphase ein 6-wöchiges Laufbandtraining, bestehend aus einer Kombination aus klassischem submaximalem Ausdauertraining und Sprint-Intervall-Training (SIT) welches in zahlreichen Studien als effiziente Strategie beschrieben wurde, um die oxidative Kapazität der Skelettmuskulatur zu verbessern und die Leistungsfähigkeit zu steigern (Henriksson & Reitman 1977, Klausen et al. 1981, Gibala et al. 2006).

Die so erzielten Anpassungen entsprechen denen intensiven Ausdauertrainings (Henriksson & Reitman 1976, Saltin et al. 1976, Edge et al. 2006, Gibala et al. 2006, Burgomaster et al. 2008).

Das Ausdauertraining führte in der vorliegenden Studie zu einer Steigerung der Laufdauer während des Maximaltests um 97,55 %, sowie zu einer Absenkung des Sauerstoffverbrauchs während des Schwellentests um 25,35 % bei 10 km/h, bzw. 36,41 % bei 15 km/h. Daraus kann gefolgert werden, dass es durch das sechswöchige Ausdauertraining bei Hunden zu einer verbesserten Ausdauerleistung sowie zu einer Steigerung der oxidativen Leistungsfähigkeit kam.

Die Leistungssteigerung durch das Ausdauertraining ist vermutlich vor allem auf eine größere oxidative Kapazität, eine kraftsparendere Lauftechnik, eine früher einsetzende Lipolyse und somit eine effizientere Energieausbeute des Körpers sowie einen höheren Widerstand der Muskulatur gegen Ermüdung zurückzuführen. Ein Vergleich der Werte untrainierter Hunde mit Hunden nach der Trainingspause zeigte, dass die 9-wöchige Trainingspause ausreichte, um sämtliche durch das Ausdauertraining erzielten Anpassungen des Energiestoffwechsels rückgängig zu machen. Dies belegt die Reversibilität der in dieser Studie durch Ausdauertraining erreichten Anpassungen des Energiestoffwechsels. Allerdings fehlen Vergleichswerte von anderen Hunden, da in dieser Studie aus den oben genannten Gründen nicht, wie bei Menschen gängige Praxis, der $\dot{V}O_2\text{max}$ zur Evaluierung der aeroben Leistungsfähigkeit und der Ausdauerleistung verwendet wurde. Eine Studie an 1 – 2-jährigen Foxhounds zeigte jedoch einen Anstieg des $\dot{V}O_2\text{max}$ durch Training, jedoch keine Änderung des $\dot{V}O_2$ bei den verschiedenen Laufgeschwindigkeiten (Musch et al. 1985).

Da einige Studien an Säugetieren zeigen konnten, dass eine lang andauernde Erhöhung der körperlichen Aktivität gewöhnlich aufgrund einer Zunahme der fettfreien bzw. Muskelmasse (Weyer et al. 2000, Speakman & Selman 2003) zu einem Anstieg der Ruhestoffwechselrate führt (Wilterdink et al. 1992, Pinto & Shetty 1995), war eine Erwartung dieser Studie, dass es durch ein sechswöchiges Ausdauertraining zu einer Anhebung des Ruhestoffwechsels kommen würde.

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie widersprechen den publizierten Daten über einen trainingsbedingten Anstieg der RMR. Im Rahmen dieser Studie hatte das Ausdauertraining keinen Effekt auf den Ruhestoffwechsel dieser Hunde. In einem Gesamtvergleich der Effekte von Supplementierung und Trainingszustand konnte sogar gezeigt werden, dass die trainierten Hunde, sowohl supplementierte als auch nicht supplementierte Hunde, einen geringeren $\dot{V}O_2$ in Ruhe aufwiesen als die untrainierten Hunde.

In den meisten Studien, in denen Tiere ein festgelegtes Trainingsprogramm absolvierten, konnte eine lang andauernde Erhöhungen der RMR nachgewiesen werden, wohingegen ein freiwilliges Training nicht zu einem solchen Effekt führte. Freiwillig trainierende Erdmäuse (*Microtus agrestis*) wiesen nach 9 und 18 Monaten des nächtlichen Laufbandlaufens keinen Unterschied in der RMR zu ihren sesshaften Kontrolltieren auf (Speakman & Selman 2003). Wohingegen Ratten, die 56 Tage lang auf einem Laufband trainiert wurden, einen Anstieg der RMR von 10 % gegenüber den Kontrolltieren aufwiesen (Gleeson et al. 1982), ein ähnlicher Effekt konnte auch bei schwimmenden Ratten

gezeigt werden (Hill et al. 1984).

Beim Menschen gibt es jedoch auch einige Studien, die keine Effekte von Ausdauertraining auf die RMR nachweisen konnten (Broeder et al. 1992, Sharp et al. 1992). Westerterp et al. (1992) beobachteten bei Probanden, die 44 Wochen lang für einen Halbmarathon trainierten, sogar eine Abnahme der RMR.

Grundsätzlich wird ein Anstieg der Ruhestoffwechselrate durch eine Zunahme der fettfreien Masse und/oder durch eine Veränderung physiologischer Prozesse bedingt, die einen Einfluss auf die Ruhestoffwechselrate haben (Gollnick et al. 1973, Speakman & Selman 2003). Da bei den hier verwendeten FBI-Hunden jedoch keine Zunahme der Muskelmasse beobachtet werden konnte (vgl. 5.2.4 Effekte von Ausdauertraining auf die Muskeldicke), erscheint es plausibel, dass das Ausdauertraining zu keinem Anstieg der RMR führte.

Trainingsdauer und/oder –intensität waren vermutlich nicht ausreichend, um einen Effekt auf die RMR bei diesen Hunden zu bewirken. Zukünftig sollte basierend auf diesem Trainingsprotokoll eine längere Trainingsdauer angestrebt werden. Zudem ist es möglich, dass die Hunde zu Beginn dieser Studie, nicht völlig untrainiert waren. Da sich die Hunde tagsüber in Gruppenhaltung in Freigehegen aufhielten und so die Möglichkeit hatten sich viel zu bewegen, brachten sie vermutlich eine bessere „Fitness“ mit, als von Hunden aus gewöhnlichen Versuchstierhaltungen normalerweise zu erwarten ist. Das Training sollte daher zukünftig entweder intensiver gestaltet werden, oder es sollte vor Beginn der Messungen eine Phase eingeplant werden, in der die Hunde einzeln gehalten werden und einen deutlich reduzierten Auslauf zur Verfügung haben.

Für das Verhältnis vom Ruhe- zum Leistungsstoffwechsel ergab sich für die Hunde dieser Studie ein Energieverbrauch vom bis zu 6,45-fachen des Ruhestoffwechsels. Obwohl die höchsten Stoffwechselraten unter Belastung während des Maximal- und des Schwellentests z.T. nur über einige Minuten aufrecht gehalten wurden, übersteigen sie nicht die Grenze des 7-fachen Ruhestoffwechsels. Hammond et al. (1997) ermittelten bei Studien an 50 verschiedenen Wildtierarten ausschließlich Werte im Bereich vom 1,3 bis 7,0-fachen des Ruhestoffwechsels (SusMR/RMR). Bei Grönlandhunden im Winter wurde ein Leistungs-, bzw. Arbeitsstoffwechsel vom 7,9-fachen der RMR im Winter gemessen. Nach Korrektur dieses Wertes für die kontinuierlich aufgetretene SDA ergab dies einen Arbeitsstoffwechsel vom 12,2-fachen der RMR (Gerth et al. 2009b). Bei impulsiver Anstrengung können gewöhnlich sogar Raten bis zum 36-fachen des Ruhestoffwechsels erreicht werden (Bozinovic 1992, Bundle et al. 1999).

5.2.2 Effekte von Ausdauertraining auf die Herzfrequenz

Die Herzfrequenzmessungen in Ruhe und unter Belastung wurden mittels POLAR-Uhren und –Herzfrequenzgurten durchgeführt. Dies erlaubt eine sensitive, einfache, nicht invasive und kontinuierliche Aufzeichnung der Herzfrequenz während den Ruhemessungen und den Belastungstests. Die Aufzeichnung der Herzfrequenz hat sich als zuverlässiges Mittel etabliert, um eine Anpassung des kardiovaskulären Systems an einen erhöhten Sauerstoffbedarf, insbesondere durch steigende Aktivität (Miyazaki et al. 2002), aufzuzeichnen. Auch psychischer Stress, beispielsweise die Exposition eines

Hundes gegenüber einem bekannten Stressor, führt zu einer Erhöhung der Herzfrequenz (Vincent et al. 1993). Bei gleichzeitiger physischer Aktivität wird dieser Einfluss jedoch überlagert (Stichnoth 2002), daher konnte eine Erhöhung der Herzfrequenz durch psychischen Stress während des Laufbandlaufens vernachlässigt werden. Zudem wurden die Hunde in einer, den ersten Messungen vorangehenden, 10-wöchigen Gewöhnungsphase langsam an das Laufen auf dem Laufband sowie an das Tragen der Messgeräte gewöhnt. Dies sollte einen erheblichen Beitrag zur Stressreduktion bei den Tieren geleistet haben.

In Analogie zu den aus der Humanphysiologie bekannten Effekten von Ausdauertraining auf die Herzfrequenz wurde bei den hier verwendeten FBI-Hunden eine Verringerung der Herzfrequenz in Ruhe erwartet. Auch wurde in vielen Studien Training mit einem verminderten Herzfrequenzanstieg unter Belastung assoziiert (Tipton et al. 1974, Wyatt & Mitchell 1974, Ritzer et al. 1980a, Stepien et al. 1998).

Nach dem 6-wöchigen Ausdauertraining auf dem Laufband konnten jedoch keine Effekte auf die Ruheherzfrequenz von Hunden festgestellt werden. Auch unter Belastung konnte keine Absenkung der Herzfrequenz beobachtet werden.

Einige Studien an Hunden konnten ebenfalls keine Absenkung der Ruheherzfrequenz nachweisen. Mackintosh et al. (1983) konnten nach einem 7-wöchigen Ausdauertraining bei Beagles keine Änderungen der Ruheherzfrequenz messen. Bei trainierten Greyhounds wurden sogar höhere Ruheherzfrequenzen als bei untrainierten Vertretern dieser Rasse gemessen (Pape et al. 1986).

Eine Beurteilung der Trainingsprotokolle dieser Studien wird jedoch durch fehlende Angaben zu Trainingsdauer, -intensität und Laufgeschwindigkeit erschwert. Dies ist daher die erste Studie über die Effekte von Ausdauertraining auf Hunde, die unter standardisierten Bedingungen und unter genauer Angabe eines Trainingsprotokolls durchgeführt wurde.

Zudem ist es ebenso möglich, dass die Hunde aufgrund der Haltungsform schon eine gute Grundlagenausdauer mitbrachten. Um einen Effekt auf die Herzfrequenz dieser Hunde erzielen zu können sollte das Training daher zukünftig entweder intensiver gestaltet werden, oder vor Beginn der Messungen eine Phase beinhalten, in der die Hunde einzeln gehalten werden und einen deutlich reduzierten Auslauf zur Verfügung haben.

5.2.3 Effekte von Ausdauertraining auf echokardiographische Parameter

Die Echokardiographie ist eine geeignete Methode, um selbst sehr kleine physiologische Anpassungen des Herzens von Hunden an Ausdauertraining aufzufinden (Stepien et al. 1998). Die Wiederholbarkeit und Präzision echokardiographischer Messungen zur Auffindung geringfügiger, durch Ausdauertraining hervorgerufener Änderungen, wurde bereits hinterfragt (Perrault & Turcotte 1994). Basierend auf anderen echokardiographischen Studien an Hunden kann ein durchschnittlicher prozentualer Fehler von ca. 4 - 6 % für Standard-Messungen des linken Ventrikels angegeben werden (Wyatt et al. 1979, O'Grady et al. 1986). Im Veterinärbereich gelten M-Mode und zweidimensionale Echokardiographie in Verbindung mit Doppler-Anwendungen als eine der wichtigsten

kardiologischen Untersuchungen (Poulsen Natrup & Tobias 1998). Der M-Mode ist insbesondere durch die sehr gute zeitliche Auflösung geeignet, kleine und kurzfristige Bewegungsänderungen sichtbar zu machen (Poulsen Natrup & Tobias 1998, Lang et al. 2005, Boon 2006).

Die Ultraschallmessungen in dieser Studie wurden nicht, wie es derzeit echokardiographischer Standard ist, im Liegen durchgeführt. In der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Starck wurde die Ultraschalluntersuchung von Hunden im Stehen etabliert. Dies eröffnete die Möglichkeit, Grönlandhunde in Grönland, auch ohne die Verfügbarkeit von speziellen in der Tiermedizin gängigen Herzultraschall-Tischen, selbst bei Außentemperaturen von -30 °C echokardiographisch zu untersuchen (Gerth et al. 2009a). Um eine Vergleichbarkeit der Werte mit den in Grönland erhobenen Daten zu gewährleisten wurde die Durchführung der Herzultraschallmessungen an die von Gerth et al. (2009a) angeglichen. Um die Varianz der Messungen so gering wie möglich zu halten wurden die Ultraschallmessungen und die Vermessung der Ultraschallbilder alle von derselben Person durchgeführt.

Im Allgemeinen bewirkt Ausdauertraining beim Menschen eine Erhöhung des Schlagvolumens und des enddiastolischen Volumens sowie eine Absenkung der Ruheherzfrequenz (Gilbert et al. 1977, Blomqvist & Saltin 1983). Morphologische Änderungen schließen eine Zunahme des inneren Kammerdurchmessers sowie eine Verdickung der links ventrikulären Wand und des Septums ein (Keul et al. 1982, Blomqvist & Saltin 1983, Maron 1986, Fagard 1996), was insgesamt zu einer Zunahme der linksventrikulären Masse führen würde. Eindeutig belegt sind solche Trainingswirkungen auf den Menschen vor allem für chronisch dynamische Belastungsformen. Bei anderen motorischen Beanspruchungsformen wie Krafttraining, statischem Training sowie Schnelligkeitstraining sind nur geringe oder keine Effekte auf Regulation und Struktur des Herz-Kreislauf-Systems nachweisbar (Keul et al. 1981, Dickhuth et al. 1987, Kindermann et al. 2007). Bei Hunden wird daher eine Vergrößerung echokardiographischer Parameter als Folge von strukturellen und funktionellen Anpassungen des Herzens auf das Ausdauertraining erwartet. Insgesamt spiegeln Studien an ausdauertrainierten Hunden jedoch keine einheitliche Tendenz wieder. Funktionelle Studien berichten von keiner Änderung der Ejektionsfraktion nach dem Training (Mackintosh et al. 1983), einem Anstieg des Schlagvolumens und des Herzminutenvolumens, hervorgerufen durch einen submaximalen Belastungstest nach dem Training (Stone 1977), einem signifikanten Anstieg des Schlagvolumens, aber nicht des Herzminutenvolumens in Ruhe, jedoch verbesserter Funktion während maximaler Belastung (Barnard et al. 1980) und einem signifikanten Anstieg des Schlagvolumens und des enddiastolischen Volumens, jedoch keiner Änderung der Ejektionsfraktion nach dem Training (Ritzer et al. 1980b). In der vorliegenden Studie konnten als Reaktion auf das Ausdauertraining jedoch keine funktionellen Anpassungen des Herzens der Hunde nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, dass das Ausdauertraining nicht ausreichend lang oder intensiv genug gestaltet war, um bei den Hunden entsprechende Anpassungen hervorzurufen.

Im Rahmen der Messung der funktionellen Parameter dieser Studie wurde u.a. der Durchmesser der Aorta bestimmt. Zwischen untrainierten, trainierten und Hunden nach

der Trainingspause konnte auch für diesen Parameter keine Änderung durch Ausdauertraining gezeigt werden. Wurden jedoch die Werte der untrainierten Hunde mit denen nach der Trainingspause zusammengefasst, ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen untrainierten ($2,10 \pm 0,08$ mm) und trainierten ($2,03 \pm 0,10$ mm) Hunden. Dies ist vermutlich auf die geringere Standardabweichung dieser Messung zurückzuführen, um hier eine verlässliche Aussage treffen zu können war die Stichprobenzahl jedoch zu gering.

Es sind verschiedenartige Effekte von Ausdauertraining auf die morphologischen Parameter des Herzens bei Hunden beobachtet worden. Bei Nicht-Greyhound-Rassen resultierte reines Ausdauertraining entweder in einer erhöhten (Steinhaus et al. 1932, Wyatt & Mitchell 1974, Riedhammer et al. 1976, Stepien et al. 1998) oder einer unveränderten (Ritzer et al. 1980b) linksventrikulären Masse. In einer Studie an Mischlingshunden wurde als Reaktion auf intensives Training eine Zunahme der linksventrikulären Wanddicke ohne gleichzeitige Zunahme des enddiastolischen Volumens gemessen (Wyatt & Mitchell 1974).

Bei den FBI-Hunden dieser Studie wurde nach dem sechswöchigen Ausdauertraining eine Zunahme der Wanddicke des interventrikulären Septums während der Systole gemessen, die auch nach der Trainingspause noch weiterhin bestand („untrainiert I“: $12,43 \pm 1,14$ mm; „trainiert I“: $13,55 \pm 1,18$ mm; „untrainiert II“: $13,32 \pm 1,21$ mm). Bei einer so geringen Zunahme der Wanddicke sollte jedoch bedacht werden, dass die Anwendung der Echokardiografie nicht frei von Einschränkungen ist. So ist der Untersucher vor allem bei der Untersuchung am stehenden Hund stark auf die Kooperationsbereitschaft des zu untersuchenden Tieres angewiesen. Mangelndes Ruhighalten des Hundes wirkt sich ebenso wie Hecheln negativ auf die Bildqualität aus. In dieser Studie wurde zwar besonderer Wert auf eine gute Auswertbarkeit der Ultraschallbilder gelegt, eine Beeinflussung durch oben genannte Faktoren kann jedoch nicht komplett ausgeschlossen werden. Strukturelle bzw. morphologische Anpassungen treten zudem in der Regel erst dann auf, wenn die dynamische Trainingsbelastung eine individuelle Grenze überschreitet (Dickhuth et al. 2004). Da jedoch keine funktionelle Anpassung als Reaktion auf das Ausdauertraining beobachtet wurde und eine isolierte Vergrößerung des interventrikulären Septums im Kontrast zu den bisherigen Beobachtungen bei einer harmonischen, exzentrischen Herzhypertrophie (Sportherz) steht, ist die gemessene Wanddickenzunahme des Septums vermutlich auf den technisch bedingten, relativ großen Messfehler bei der Bestimmung der Wanddicke mittels M-Mode zurückzuführen.

Abschließend bleibt zu erwähnen, dass das Training in dieser Studie wahrscheinlich nicht lange und/oder intensiv genug gestaltet wurde, um vergleichbare Anpassungen des Herzens mit denen anderer Studien an Hunden hervorrufen zu können.

5.2.4 Effekte von Ausdauertraining auf die Muskeldicke

Ultraschall stellt eine Routinemethode zur Untersuchung und Vermessung innerer Organe von Mensch und Tier dar. Die Vermessung der Muskeldicke mit Hilfe von Ultraschall findet vor allem bei Schlachttieren Anwendung und stellt hier eine validierte Methode dar (Herring et al. 1994, Hassen et al. 1998, Greiner et al. 2003). Die Messung der Muskel-

dicke von Hunden mittels Ultraschall wurde bereits in einer Studie an Grönlandhunden verwendet (Gerth et al. 2009a). Es gibt allerdings keine Studien, die die Auswirkungen von reinem Ausdauertraining auf die Muskeldicke von Hunden untersuchten.

Um die Varianz der Messungen so gering wie möglich zu halten wurden die Ultraschallmessungen und die Vermessung der Muskeldicke anhand der Ultraschallbilder alle von derselben Person durchgeführt.

Aktive Tiere weisen gegenüber sesshaften Arten im Allgemeinen eine größere relative Muskelmasse auf (Kayar et al. 1989, Weibel et al. 1992). Die Arbeitshypothese war daher, durch ein sechswöchiges Ausdauertraining eine Zunahme der Muskeldicke ausgewählter Lokomotionsmuskeln von Hunden zeigen zu können.

Die Hunde dieser Studie zeigten jedoch nach einem sechswöchigen Ausdauertraining auf dem Laufband in Kombination mit Intervall-Training keine Zunahmen der Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln. Die Ergebnisse stehen daher im Kontrast zu denen aus der Studie an Grönlandhunden von Gerth et al. (2009a). Die schlittenziehenden Grönlandhunde absolvierten jedoch nicht, wie die Hunde dieser Studie, ein reines Ausdauertraining, sondern hatten durch den beladenen Schlitten eine ungleich höhere Belastung und wiesen daher ein Kraftzuwachs via Faserhypertrophie auf.

Ausdauertraining bewirkt beim Menschen eine Differenzierung der Muskelfasern hin zu einem ermüdungsresistenten Phänotyp (Pette 2002) mit einer hohen Mitochondriendichte (Flück & Hoppeler 2003). Eine Erhöhung der Kapillardichte unterstützt diese Anpassungen und schließt wahrscheinlich eine Differenzierung des Fasertyps hin zu langsam kontrahierenden Fasern durch den Austausch von Komponenten des Sarkomers mit ein (Flück & Hoppeler 2003). Diese Anpassungen der Muskelfasern bewirken während den typischen, bei einem Ausdauertraining auftretenden, langsamen Kontraktionen eine Steigerung der Substratversorgung, der respiratorischen Kapazität und der kontraktilen Parameter (Flück 2006). Zusätzlich kommt es zu einer Verkleinerung des Muskelfaserdurchmessers um die Diffusionsdistanz für den Sauerstoff zu verkürzen und den oxidativen Stoffwechsel auf diese Weise länger aufrecht zu erhalten (Jones et al. 2008). Dies erklärt eine Verbesserung der Laufleistung durch Ausdauertraining ohne eine Zunahme der Muskelmasse.

Reines Ausdauertraining bewirkte bei den hier untersuchten Hunden folglich keine Zunahme der Muskeldicke. Das Ausdauertraining war jedoch erfolgreich, um eine Erhöhung der Laufdauer während des Maximaltests um 97,55 % zu erzielen und somit die Ausdauerleistung zu steigern. Es ist denkbar, dass durch das Ausdauertraining hervorgerufene adaptive Mechanismen in der Muskulatur einen Beitrag zur Steigerung der Ausdauerleistung leisteten.

5.2.5 Effekte von Ausdauertraining auf die DNA-Schädigung

Der Comet Assay in seiner alkalischen Version (Standardversion) stellt eine einfache, schnelle und sensitive Methode dar, um DNA-Strangbrüche und alkalilabile Stellen zu detektieren (Tice et al. 2000, Collins et al. 2008). Diese Methode wurde bereits in zahlreichen Studien verwendet, um den Einfluss von Ausdauertraining auf die DNA-Schädigung zu messen (Hartmann et al. 1994, Niess et al. 1996, Hartmann et al. 1998,

Mars et al. 1998, Niess et al. 1998, Moller et al. 2001, Palazzetti et al. 2003, Palazzetti et al. 2004, Briviba et al. 2005, Reichhold et al. 2009). Auch bei Hunden und Katzen wurde der Comet Assay bereits als eine verlässliche Methode verwendet, um die DNA-Schädigung durch oxidativen Stress zu evaluieren (Heaton et al. 2002). Allerdings wurde die DNA-Schädigung in dieser Studie *ex vivo* durch Exposition der Leukozyten gegenüber verschiedenen Wasserstoffperoxid-Konzentrationen erzielt.

Um die Fehlerquellen bei der Durchführung des Comet Assays zu minimieren, wurden bei sämtlichen Durchgängen die gleichen Abläufe von denselben Personen ausgeführt. Die Auswertung erfolgte ebenfalls immer von der gleichen Person.

Aufgrund methodischer Probleme konnte zu Beginn dieses Projektes noch kein Comet Assay durchgeführt werden, somit fehlen die Daten der Hunde „untrainiert I“. Die erste Messung der belastungsabhängigen DNA-Schädigung fand daher bei trainierten Hunden statt, die Werte für untrainierte Hunde stammen aus der Messphase „untrainiert II“, die sich an die Trainingspause anschloss. Dieser Umstand erschwert die Einschätzung der Daten und lässt keine Aussage über die Reversibilität möglicher Anpassungen an das Ausdauertraining zu.

Große körperliche Belastung führt beim Menschen zu DNA-Schädigungen (Hartmann et al. 1994). Regelmäßiges Training bewirkt jedoch einen Anstieg der Aktivität von DNA-Reparaturenzymen und eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen oxidativen Stress (Radák et al. 2002, Sachdev & Davies 2008). Auch bei Hunden konnte ein Effekt von Training auf die Produktion von ROS und antioxidativen Mechanismen belegt werden (National Research Council 2006).

Studien an Hunden berichten im Gegensatz zu diesen Ergebnissen von einer positiven Wirkung von Training auf antioxidative Mechanismen. So hatte Training (30 Wochen, 5 Tage die Woche, auf einem Laufband bei 15° Steigung) bei Beagles einen signifikanten Effekt auf das Glutathion-System in der beanspruchten Skelettmuskulatur und bewirkte dort einen 2- bis 3-fachen Anstieg der Enzyme, die für die Synthese von Glutathion benötigt werden (Marin et al. 1993). Die Entstehung von ROS stieg bei untrainierten Hunden, die bei 15 km/h und 5 % Steigung auf einem Laufband liefen, um 80 % an, wohingegen bei trainierten Hunden kein Anstieg zu verzeichnen war (Fink et al. 2001). Aus diesen Studien geht eindeutig hervor, dass Training eine Steigerung der Aktivität antioxidativer Enzyme bewirkt und auf diese Weise zu einer reduzierten Bildung von ROS und RNS beiträgt. Dies lässt jedoch keine Aussage über die Wirkung von Training auf die durch ROS und RNS entstehende DNA-Schädigung bei Hunden zu.

Die Arbeitshypothese war daher, bei trainierten Hunden eine Reduktion der belastungsinduzierten oxidativen Schädigung gegenüber untrainierten Hunden nachweisen zu können.

Im Rahmen dieser Studie wurde bei trainierten Hunden nach einem Belastungstest (Schwellentest) jedoch eine höhere DNA-Schädigung als bei Hunden nach einer 9-wöchigen Trainingspause gemessen. Die trainierten Hunde wiesen zudem einen signifikanten Anstieg der DNA-Schädigung nach der Belastung auf, dies war bei untrainierten Hunden nicht zu beobachten.

Okamura et al. (1997) wiesen an Hunden nach, dass das Vorkommen an

8-Hydroxyguanin in den Lymphozyten nach 7-stündigem Laufband-Training geringer war als bei den körperlich nicht beanspruchten Kontrolltieren. Diese Untersuchung wurde jedoch nach körperlicher Belastung ohne vorangehendes mehrwöchiges Ausdauertraining durchgeführt. Ein Vergleich der Ergebnisse ist daher nicht aussagekräftig.

Beim Menschen führt eine durch Belastung gesteigerte Sauerstoffaufnahme zu vermehrter Bildung von ROS und RNS (Leeuwenburgh & Heinecke 2001, Packer et al. 2008). Intensives Ausdauertraining bewirkt zudem eine gesteigerte oxidative Kapazität durch eine Erhöhung der mitochondrialen O₂-Aufnahme. Es wäre daher denkbar, dass das Ausdauertraining bei den hier untersuchten Hunden ausreichte, um die oxidative Kapazität der Hunde zu steigern, aber nicht um eine Erhöhung der Aktivität von DNA-Reparaturenzymen sowie eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen oxidativen Stress hervorzurufen. Hier fehlen allerdings Referenzwerte für die DNA-Schädigung untrainierter und ausdauertrainierter Hunde unter genauer Angabe der Trainingsdauer und -intensität.

5.2.6 Effekte von Ausdauertraining auf die Aktivität

Die Aktivität von Hunden wurde mit Hilfe von sog. Accelerometer untersucht. Die Betriebszuverlässigkeit der in dieser Studie verwendeten Acticals wurde nachgewiesen, indem zwei Geräte gleichzeitig an derselben Körperstelle getragen wurden. Die Korrelation der Daten beider Geräte war dabei sehr hoch (Bell 2002).

Anhand von Accelerometern ist es möglich, die körperliche Aktivität objektiv zu erfassen sowie Frequenz, Dauer und Intensität der Aktivität von Mensch und Tier zu beurteilen (Westerterp & Plasqui 2004).

Äußere Einflüsse, insbesondere Interaktionen mit Personen, können die Aktivität von Hunden stark beeinflussen. In einer Studie über die Aktivität von Begleithunden wurde gezeigt, dass die Umgebung von Hunden einen starken Einfluss auf deren Aktivität hat (Dow et al. 2009). Yamada und Tokuriki (2000) belegten mit Hilfe von Accelerometern, dass die Anwesenheit von Personen einen Einfluss auf die Aktivität von Laborhunden hat. War kein Personal im Raum, war die Aktivität geringer als bei Anwesenheit von Personen.

Um in dieser Studie den Einfluss äußerer Faktoren auf die Aktivität der Hunde so gering wie möglich zu halten, wurde nur die Aktivität aus den Zeiträumen verwendet, in denen sich die Hunde im Freigehege aufhielten. Faktoren wie Personenverkehr, Lärm und andere Umwelteinflüsse konnten jedoch nur bis zu einem gewissen Grad reduziert werden. Die Auswertung der Aktivität von den nicht supplementierten Hunden wurde ausschließlich für die Trainingspause und die Hunde nach der Trainingspause („untrainiert II“) durchgeführt. Zwischen diesen beiden Phasen wurden keine Unterschiede in der Aktivität erwartet, dies deckt sich mit den erhaltenen Ergebnissen.

5.3 Effekt der Supplementierung mit Guanidinoacetat

Guanidinoacetat stellt eine stabile Vorstufe in der endogenen Synthese von Kreatin dar. Eine Supplementierung mit Kreatin bewirkt beim Menschen eine Zunahme des Muskel-

Kreatin-Gehalts sowie eine deutlich verbesserte maximale Leistungsfähigkeit. In dieser Studie wurden die Effekte von GAA-Supplementierung einzeln sowie in Kombination mit Ausdauertraining auf Energiestoffwechsel, Leistungsfähigkeit und Konstitution von Hunden untersucht. Die Ergebnisse sollen im Folgenden diskutiert werden.

5.3.1 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf den Energiestoffwechsel

Zunächst wurde der Einfluss von GAA-Supplementierung auf den Ruhestoffwechsel von Hunden, später auch in Kombination mit Ausdauertraining, untersucht. Über den Einfluss von GAA-Supplementierung auf den Ruhestoffwechsel von Hunden ist bisher noch nichts bekannt. Es gibt jedoch eine Studie, in der die Auswirkung von Kreatin-Supplementierung in Kombination mit Krafttraining auf den Ruhestoffwechsel von Menschen untersucht wurde. Kreatin-Supplementierung bewirkte beim Menschen einen Anstieg der RMR um 2,5 % und in Kombination mit Ausdauertraining um 5 % (Arciero et al. 2001).

Aus der Literatur ist bekannt, dass intensives Ausdauertraining bei Hunden im Allgemeinen zu einem Anstieg des Ruhestoffwechsels führt (Wilterdink et al. 1992, Pinto & Shetty 1995). In Kombination mit GAA-Supplementierung bewirkte Ausdauertraining bei diesen Hunden jedoch eine Absenkung des massenspezifischen $\dot{V}O_2$ in Ruhe.

Ein Vergleich von nicht supplementierten und supplementierten Hunden dieser Studie zeigte darüber hinaus, dass die Supplementierung mit GAA sowohl bei untrainierten, als auch bei trainierten Hunden zu einer Absenkung des $\dot{V}O_2$ in Ruhe führte. Hier besteht zudem eine signifikante Interaktion zwischen den Effekten von Supplementierung und Trainingszustand, was bedeutet, dass der $\dot{V}O_2$ in Ruhe bei supplementierten Hunden nach dem Ausdauertraining deutlich stärker abfiel als bei den nicht supplementierten Hunden.

Dies zeigt, dass GAA-Supplementierung zu einer Absenkung des $\dot{V}O_2$ in Ruhe führte und Ausdauertraining, wie sich bereits bei den nicht supplementierten Hunden zeigte, keinen zusätzlichen Effekt auf den Ruhestoffwechsel der Hunde hatte. Die Mechanismen, die hinter einer Absenkung des $\dot{V}O_2$ in Ruhe stehen, sind jedoch noch unbekannt. Huso et al. (2002) gelang es, am Menschen einen durch Kreatin-Supplementierung veränderten Substrat-Stoffwechsel während des Ruhestoffwechsels nachzuweisen. Durch die Supplementierung mit Kreatin kam es zu einer verstärkten Oxidation von Kohlenhydraten zu Lasten der Oxidation von Lipiden. Solche Änderungen der Substrat-Verwendung könnten möglicherweise auch einen Effekt auf den $\dot{V}O_2$ in Ruhe haben, hier sind allerdings noch weitere Untersuchungen bei Hunden nötig.

Über den Effekt von Kreatin-Supplementierung auf den $\dot{V}O_2$ unter Belastung gibt es bereits einige Publikationen, die allerdings ausschließlich am Menschen durchgeführt wurden. Der Effekt von Kreatin-Supplementierung auf den $\dot{V}O_2$ unter Belastung wird in diesen Studien kontrovers diskutiert. Drei Studien berichteten nach Kreatin-Supplementierung von einer Abnahme des $\dot{V}O_2$ während wiederholten, maximalen Sprints (Balsom et al. 1993a), einem abgestuften Belastungstest (Nelson et al. 2000)

und während submaximaler Belastung (Hickner et al. 2010). In zwei anderen Studien wurde jedoch keine Änderung der Sauerstoffaufnahme während kontinuierlicher, supra-maximaler und submaximaler (Balsom et al. 1993b), ebenso während submaximaler, stufenweise ansteigender Belastung festgestellt (Stroud et al. 1994). Eine weitere Studie berichtet von einem Anstieg des $\dot{V}O_2$ während eines Belastungstests mit kontinuierlich ansteigendem Widerstand auf dem Fahrradergometer mit Hilfe eines „breath-by-breath“-Systems, das die Gase eines jeden Atemzugs analysiert (Rico-Sanz & Marco 2000). Nach Rico-Sanz et al. (2000) sind die in den Studien von Balsom et al. (1993a, 1993b) und Stroud et al. (1994) verwendeten Methoden jedoch ungeeignet, um die dynamischen Änderungen des $\dot{V}O_2$ und des Gesamt-Sauerstoffverbrauchs während der Belastung zu messen.

In der hier durchgeführten Studie hatte die Supplementierung mit GAA keinen Effekt auf den $\dot{V}O_2$ unter Belastung während des Schwellen- und des Maximaltests. Auch in Kombination mit Ausdauertraining konnte keine Änderung der Sauerstoffaufnahme beobachtet werden. Bei nicht supplementierten Hunden kam es nach dem Ausdauertraining allerdings bei einer Laufgeschwindigkeit von 15 km/h gegenüber supplementierten Hunden zu einer signifikanten Absenkung des $\dot{V}O_2$ unter Belastung.

Da das identische Trainingsprotokoll bei den nicht-supplementierten Hunden zu einer signifikanten Abnahme des $\dot{V}O_2$ bei den Laufgeschwindigkeiten 10 km/h und 15 km/h geführt hatte, lässt das die Vermutung zu, dass die Supplementierung mit GAA bei ausdauertrainierten Hunden zu einem Anstieg des $\dot{V}O_2$ unter Belastung führte. Dies stimmt mit der Beobachtung von Rico-Sanz et al. (2000) überein, die ebenfalls einen Anstieg des $\dot{V}O_2$ durch Supplementierung mit Kreatin beobachteten. Sie vermuteten als Ursache einen Anstieg der aeroben Phosphorylierung durch die mitochondriale CK in den langsamen Muskelfasern der ausdauertrainierten Probanden.

Die Arbeitshypothese war, durch die GAA-Supplementierung eine Steigerung der Laufleistung auf dem Laufband gegenüber den nicht supplementierten Hunden zu erreichen. An Ratten konnte sowohl durch Kreatin-Supplementierung alleine als auch in Kombination mit einem 4-wöchigen Trainingsprogramm eine Steigerung der Laufdauer und der absolvierten Intervalle während eines Intervall-Belastungstests erreicht werden. Eine signifikante Steigerung der Laufleistung von supplementierten Tieren gegenüber nicht supplementierten wurde allerdings nur für den Intervalltest gemessen (Brannon et al. 1997).

In einem Gesamtvergleich der Effekte von Training und GAA-Supplementierung dieser Studie an Hunden bewirkte Training einen signifikanten Anstieg der Laufdauer während des Maximaltests. Die Supplementierung bewirkte jedoch keinen zusätzlichen Effekt auf die Ausdauerleistung. Dies zeigt, dass die GAA-Supplementierung bei Hunden in Kombination mit Ausdauertraining keinen positiven Effekt auf die Ausdauerleistung hatte. Damit stimmen die Ergebnisse dieser Studie mit den überwiegenden Beobachtungen über die Wirkung von Kreatin-Supplementierung auf die Ausdauerleistung von Menschen überein.

Die Wirkung von Kreatin-Supplementierung auf die Ausdauerleistung beim Menschen wird kontrovers diskutiert. Zahlreiche Studien am Menschen zeigten, dass die Supple-

mentierung mit Kreatin keinen Effekt auf die Ausdauerleistung hat (Balsom et al. 1993b, Engelhardt et al. 1998a, Vandebuerie et al. 1998, Mujika et al. 2000, Izquierdo et al. 2002, van Loon et al. 2003, Reardon et al. 2006). Balsom et al. (1993b) waren die einzigen, die einen negativen Effekt der Kreatin Supplementierung aufgrund einer Zunahme des Körpergewichts beobachteten. Rico-Sanz et al. (2000) waren bisher die einzigen, die beim Menschen eine Steigerung der Ausdauerleistung (Zeit bis zur Erschöpfung) durch Kreatin-Supplementierung bei trainierten Radsportathleten während alternierenden Belastungstests zeigen konnten.

5.3.2 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die Herzfrequenz

Die Supplementierung mit GAA hatte bei den Hunden dieser Studie weder einzeln noch in Kombination mit Ausdauertraining einen Effekt auf die Ruheherzfrequenz und die HF unter Belastung. Über die Auswirkungen von Kreatin-Supplementierung auf die HF in Ruhe gibt es bisher keine Publikationen. Die Effekte auf die HF unter Belastung wurden jedoch von einigen Studien untersucht. In einer Laufbandstudie an Beagles bewirkte Kreatin-Supplementierung eine Absenkung der HF unter Belastung (Reynolds 1998). Diese Wirkung von Kreatin wurde in einer Studie am Menschen bestätigt (Nelson et al. 2000).

In Kombination mit Ausdauertraining hatte die Kreatin-Supplementierung beim Menschen jedoch keinen Einfluss auf die HF unter Belastung (Engelhardt et al. 1998a). Dies stimmt mit den Ergebnissen für die HF unter Belastung aus dieser Studie an Hunden überein.

Für den Wert „peak“ bestand eine signifikante Interaktion zwischen dem Effekt der Supplementierung und dem des Ausdauertrainings, da die HF der untrainierten supplementierten Hunde zwar niedriger lag als die der nicht supplementierten, nach dem Ausdauertraining aber auf das Niveau der nicht supplementierten Hunde anstieg. Eine solche Interaktion bestand auch für den Wert „Steigung der Geraden“. Die Steigung der Geraden, auf der die Werte der HF bei einer Laufgeschwindigkeit von 16,5 km/h liegen, stieg vor dem Ausdauertraining sowohl bei den supplementierten als auch bei den nicht supplementierten leicht an und wurde nach dem Ausdauertraining deutlich flacher.

Da jedoch weder die nicht supplementierten noch die supplementierten Hunde eine Reaktion der Herzfrequenz auf das Ausdauertraining zeigten, bleibt zu vermuten, dass Trainingsdauer und/oder –Intensität nicht ausreichten, um eine, sonst häufig im Zusammenhang mit intensivem Ausdauertraining beobachtete, Absenkung der Ruheherzfrequenz sowie einen verminderten Anstieg der Herzfrequenz unter Belastung hervorzurufen.

Abschließend sollte erwähnt werden, dass das Training bei zukünftigen Studien an Hunden länger und/oder intensiver gestaltet werden sollte, um vergleichbare Anpassungen des Herzens hervorrufen zu können.

5.3.3 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf echokardiographische Parameter

Mögliche Effekte von GAA- und/oder Kreatin-Supplementierung auf echokardiographische Parameter des Herzens sind bislang kaum untersucht worden. In einer Studie am Menschen konnten keine Effekte einer 21-tägigen Kreatin-Supplementierung auf echokardiographische Parameter auffindig gemacht werden (Murphy et al. 2005).

In einem Vergleich der Gesamteffekte von GAA-Supplementierung und Training auf Hunde bewirkte die Supplementierung jedoch einen Abfall der maximalen Flussgeschwindigkeit gegenüber nicht supplementierten Hunden. Hier konnte zudem eine signifikante Interaktion zwischen Training und Supplementierung beobachtet werden, was bedeutet, dass die maximale Flussgeschwindigkeit bei supplementierten Hunden abnahm, bei nicht supplementierten Hunden jedoch zunahm.

Zudem bestanden für die Werte „Geschwindigkeits-Zeit-Integral“ und „Aortendurchmesser“ weitere Interaktionen zwischen den Effekten von Supplementierung und Ausdauertraining. Das „Geschwindigkeits-Zeit-Integral“ nahm bei nicht supplementierten Hunden nach dem Ausdauertraining zu, während es bei supplementierten Hunden abnahm. Der Durchmesser der Aorta nahm bei nicht supplementierten Hunden nach dem Ausdauertraining ab, während er bei supplementierten Hunden konstant blieb.

Es ist bekannt, dass im Herzen mitochondriale und sarkoplasmatische CK-Isoformen vorkommen (Jacobus & Lehninger 1973, Wallimann et al. 1992). Herzmuskelzellen betreiben im Allgemeinen oxidativen Stoffwechsel, die aus oxidativer Glykolyse gewonnene Energie dient, zumindest zu einem gewissen Teil, der Aufrechterhaltung der Konzentration an energiereichen Phosphaten und, sollte die oxidative Phosphorylierung dieser Zellen verhindert sein, auch der Kontraktilität (Doorey & Barry 1983). Die funktionelle Koppelung von CK und Glykolyse ist unter normoxischen Bedingungen (bei normaler Respiration und einem hohen PCr/Cr-Verhältnis) allerdings unterdrückt (Kupriyanov et al. 1980). Eine Steigerung der PCr/Cr-Speicher in der Herzmuskulatur durch eine Supplementierung mit GAA oder Kreatin ist bisher noch nicht nachgewiesen worden. Es ist jedoch denkbar, dass es durch Supplementierung ebenso wie in der Skelettmuskulatur (Engelhardt et al. 1998b, Kreider 2003) auch in der Herzmuskulatur zu einer Auffüllung der PCr/Cr-Speicher kommt. Dies würde über die CK eine schnellere Phosphorylierung von ADP zu ATP ermöglichen und könnte folglich zu einer Steigerung ATP-abhängiger Prozesse, wie beispielweise der Kontraktilität, in der Herzmuskulatur führen. Die Wirkung von Kreatin- oder GAA-Supplementierung auf die funktionellen Parameter des Herzens sind jedoch noch kaum erforscht. Auch der Effekt von Kreatin- oder GAA-Supplementierung auf das Herz von ausdauertrainierten Athleten ist bisher unbekannt.

Ein Abfall der maximalen Flussgeschwindigkeit ohne gleichzeitige Zunahme des Schlagvolumens und des Geschwindigkeits-Zeit-Integrals würde bedeuten, dass die Systole des Herzens bei gleichbleibendem Volumen verlängert sein müsste.

Die Änderung der maximalen Flussgeschwindigkeit zwischen nicht supplementierten (untrainiert: $19,72 \pm 1,47$ cm/s; trainiert: $22,42 \pm 2,86$ cm/s) und supplementierten (untrainiert: $20,73 \pm 2,37$ cm/s; trainiert: $18,06 \pm 1,26$ cm/s) ist jedoch so gering, dass sie

möglicherweise auch durch den Messfehler von echokardiographischen Messungen erklärt werden könnte.

5.3.4 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die Muskeldicke

Die Arbeitshypothese war, dass es durch die Supplementierung mit GAA zu einer signifikant größeren Zunahme der Muskeldicke gegenüber nicht supplementierten Hunden kommt. Es zeigte sich jedoch, dass es sowohl durch die Supplementierung mit GAA allein als auch in Kombination mit Training zu keiner Zunahme der Muskeldicke an den untersuchten Lokomotionsmuskeln der Hunde kam.

Brannon et al. (1997) berichtete bei Kreatin supplementierten Ratten von einer moderaten Zunahme der Muskelmasse durch Training (8 %) im M. plantaris, wohingegen im M. soleus keine Zunahme zu beobachten war. Dies ist auf die Tatsache zurückzuführen, dass der M. soleus hauptsächlich aus langsamen, oxidativen Muskelfasern besteht, während der M. plantaris von Nagern überwiegend aus Typ II Fasern besteht. Brannon et al. (1997) bemerkte jedoch auch, dass Kreatin-Supplementierung alleine zu keinem Anstieg der Muskelmasse führte. Dies stimmt mit den an GAA-supplementierten, untrainierten Hunden erhobenen Ergebnissen dieser Studie überein.

Beim Menschen wurde eine Zunahme der Muskelmasse durch Kreatin-Supplementierung in zahlreichen Studien beobachtet, meist in Verbindung mit Krafttraining (Vandenberghes et al. 1997, Kelly & Jenkins 1998, Kreider et al. 1998, Kirksey et al. 1999, Peeters et al. 1999, Volek et al. 1999, Becque et al. 2000). Die Zunahme an Muskelmasse durch Kreatin-Supplementierung ist auf eine Steigerung der Protein-Synthese und eine Zunahme des Muskelfaserdurchmessers in Typ II Fasern zurückzuführen (Ingwall 1975, Sipilä et al. 1981, Bessmann & Savabi 1988). Zunahmen des Muskelfaserdurchmessers wurden auch in Typ I, IIA und IIB Fasern gemessen (Volek et al. 1999).

Vermutlich wurden in dieser Studie, mit und ohne Supplementierung, aufgrund des reinen Ausdauertrainings oder einer zu kurzen Trainingsdauer, bzw. zu geringer Intensität keine Effekte auf die Muskeldicke erzielt. Ausdauertraining bewirkt im Allgemeinen eine Steigerung der Substratversorgung, der respiratorischen Kapazität sowie der kontraktiven Parameter in den Muskelfasern (Flück 2006). Dies wird unter anderem durch eine Verkleinerung des Muskelfaserdurchmessers erreicht um die Diffusionsdistanz für den Sauerstoff zu verkürzen und den oxidativen Stoffwechsel länger aufrecht zu erhalten (Jones et al. 2008).

Um einen Effekt der GAA-Supplementierung auf die Muskeldicke zeigen zu können, sollte ein zukünftiges Training Aspekte des Krafttrainings beinhalten.

5.3.5 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf den Gehalt an Kreatin, Kreatinphosphat, Gesamt-Kreatin und ATP im Muskel

Guanidinoacetat stellt eine haltbare und stabile Alternative zur Supplementierung mit Kreatin dar. Die effektive Umwandlung von GAA in Kreatin wurde in mehreren Studien nachgewiesen (Daly 1985, Komoto et al. 2003). In Studien am Menschen wurde gezeigt,

dass die Supplementierung mit Kreatin zu einer Erhöhung des Muskel-Kreatin-Gehaltes führt und eine deutliche Verbesserung der maximalen Leistungsfähigkeit bewirkt (Kreider 2003). Tsubakihara et al. (1999) schlossen aus dem Anstieg des Kreatin-Gehaltes im Urin darauf, dass durch die Supplementierung mit GAA der reduzierte Kreatin-Gehalt in der Muskulatur von chronisch niereninsuffizienten Menschen wieder hergestellt werden konnte. Bei Ratten konnte bereits nach einer einzelnen Gabe von GAA eine signifikante Erhöhung des Kreatinphosphat-Gehalts in der Skelettmuskulatur von adulten Ratten gezeigt werden (Peterson et al. 1955). Auch bei Hunden wurde bereits gezeigt, dass die Supplementierung mit GAA zu einem Anstieg des Kreatin-Gehaltes in der Muskulatur führt (Dobenecker 2011, persönliche Mitteilung).

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie zeigten jedoch keinen Effekt von GAA-Supplementierung auf den Kreatin-Gehalt in der Muskulatur von Hunden.

Bei supplementierten Hunden konnte allerdings ein Anstieg des Kreatinphosphat-Gehaltes in der Muskulatur von trainierten gegenüber untrainierten Hunden nachgewiesen werden. Dieser Anstieg blieb auch nach 4-monatigem Aussetzen der GAA-Supplementierung noch erhalten. Im Vergleich zu Referenzwerten von Brzezinska (1987), der für Kreatinphosphat einen Mittelwert von $78,3 \pm 1,4 \mu\text{mol/g}$ angibt, liegen die Werte der hier vorliegenden Studie jedoch deutlich niedriger. Dies könnte u.a. auf die Hydrolyse von Kreatinphosphat während der Probennahme und Vorbereitung der Proben zur Analyse (Soderlund & Hultman 1986) zurückzuführen sein. Daher wurde außerdem der Gesamt-Kreatin-Gehalt (Kreatinphosphat, Kreatin und Kreatinin) der Muskulatur bestimmt. In der vorliegenden Studie bewirkte Training bei supplementierten Hunden einen signifikanten Anstieg des Gesamt-Kreatin-Gehaltes gegenüber untrainierten, supplementierten Hunden. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Harris et al. (1992) am Menschen überein. In der hier vorliegenden Studie bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen untrainierten, supplementierten und nicht-supplementierten Hunden. Dies bedeutet, dass die Supplementierung mit GAA alleine keinen Effekt auf den Gesamt-Kreatin-Gehalt hatte, sondern erst in Kombination mit Ausdauertraining zu einem Anstieg führte.

Die Supplementierung mit GAA hatte weder einzelnen, noch in Kombination mit Training einen Einfluss auf den ATP-Gehalt der Muskulatur von Hunden. Bei Hunden nach einer 4-monatigen Unterbrechung der GAA-Supplementierung und des Trainings wurde jedoch gegenüber untrainierten, supplementierten Hunden ein signifikanter Anstieg des ATP-Gehaltes gemessen.

Insgesamt ergaben die Ergebnisse der Auswirkung von GAA-Supplementierung auf die Muskulatur von Hunden jedoch ein uneinheitliches Bild. Dies kann u.a. auf die Qualität der Proben zurückzuführen sein. Harris et al. (1992) berichteten, dass das Verhältnis von Gesamt-Kreatin und ATP die Änderung des Gesamt-Kreatin-Gehaltes in der Muskulatur durch Kreatin-Supplementierung deutlicher wiedergibt. Auf diese Weise kann die Varianz zwischen den einzelnen Muskelbiopsie-Proben aufgrund des unterschiedlichen Anteils an Blut und Bindegewebe ausgeglichen werden. In der hier vorliegenden Studie bewirkte die Supplementierung mit GAA einen signifikanten Anstieg des Quotienten aus Gesamt-Kreatin und ATP.

Dies lässt darauf schließen, dass es bei den supplementierten Hunden im Vergleich zu den nicht-supplementierten Hunden aufgrund der GAA-Supplementierung zu einem Anstieg des Gesamt-Kreatin-Gehaltes im Verhältnis zum ATP-Gehalt in der Muskulatur kam. Dies bestätigt die Angaben in der Literatur.

5.3.6 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die DNA-Schädigung

Indem PCr die Entstehung von AMP durch schnelle Rephosphorylierung von ADP verhindert, kann folglich auch die Produktion von ROS limitiert werden. ROS entstehen durch die Aktivität der Xanthin-Oxidase, die AMP zu Ammoniak, Hypoxanthin und Harnsäure abbaut (Sahlin et al. 1991).

Die Arbeitshypothese war daher bei GAA-supplementierten Hunden eine Abnahme der DNA-Schädigung aufzeigen zu können. Die supplementierten Hunden zeigten jedoch vor und 120 Minuten nach der Belastung eine signifikant höhere DNA-Schädigung als die nicht-supplementierten Hunde. Diese Ergebnisse stehen im Kontrast zu den häufig positiven Berichten über die Wirkung von Kreatin beim Menschen. Lenz et al. (2005) untersuchten den Effekt von Kreatin-Supplementierung auf menschliche Hautzellen und berichteten von einer Schutzwirkung von Kreatin gegen eine Vielzahl an zellulären Stress verursachenden Umständen, wie beispielsweise oxidative und UV-Schädigung. Nach vorheriger Inkubation mit Kreatin war die Überlebenszeit menschlicher Zellen bei H₂O₂-Exposition gegenüber unbehandelten Zellen zudem signifikant verlängert (Sestili et al. 2006).

Ausdauertraining in Kombination mit der Supplementierung mit GAA bewirkte bei trainierten Hunden 120 Minuten nach der Belastung eine signifikante Abnahme des Tailmoments. Dieser Effekt von Ausdauertraining bestätigt die Ergebnisse aus vorhergehenden Studien an trainierten Hunden (Marin et al. 1993, Fink et al. 2001). Bei nicht supplementierten Hunden nach der Trainingsphase wurde jedoch ein Anstieg der DNA-Schädigung im Vergleich zu untrainierten Hunden festgestellt.

Ein Effekt der Außentemperatur auf die Messung der DNA-Schädigung konnte anhand von Regressionsanalysen zu den drei Blutentnahmezeitpunkten ausgeschlossen werden.

Die Supplementierung mit GAA bewirkte bei Hunden daher keine Verbesserung der antioxidativen Mechanismen. Die Anpassung an die durch regelmäßiges Ausdauertraining erhöhte Entstehung von ROS und RNS im Körper scheint jedoch durch die Supplementierung mit GAA beschleunigt zu werden.

5.3.7 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf die Aktivität

Bislang ist keine Publikation über die Auswirkung von GAA- oder Kreatin-Supplementierung auf die Aktivität von Hunden bekannt. Da eine Supplementierung dieser Substanzen beim Menschen zu einer schnelleren Erholung nach körperlicher Anstrengung führt, beispielsweise bei wiederholten Einheiten mit maximaler Belastung (Kreider 2003), wird ein positiver Effekt auf die Aktivität von aktiven Hunden erwartet

Die Supplementierung mit GAA bewirkte bei Hunden in der Anfütterungsphase eine Abnahme der freien Aktivität gegenüber nicht supplementierten, untrainierten Hunden und gegenüber nicht supplementierten Hunden in der Trainingspause. Die Ergebnisse aus dieser Studie widersprechen daher der Annahme einer aktivitätssteigernden Wirkung von GAA. Die Abnahme der freien Aktivität kann in diesen beiden Phasen nicht durch einen Anstieg der Außentemperatur erklärt werden.

Die während der Trainingsphase beobachtete Abnahme der freien Aktivität im Vergleich zu trainierten Hunden spricht für eine Kompensation der durch die Trainingseinheiten auf dem Laufband erhöhten Aktivität an Trainingstagen. Dies entspricht ebenso den praxisbezogenen Erkenntnissen vieler Hundehalter. Solch ein kompensatorischer Effekt wurde auch bei älteren Menschen beobachtet, die einem Fitnesstraining unterzogen wurden (Westerterp 2008). Bei jungen Erwachsenen blieb die trainingsunabhängige Aktivität jedoch unbeeinflusst vom Fitnesstraining, der Gesamtenergieverbrauch wurde um bis zu 25 % gesteigert (Meijer et al. 1991, Westerterp 2008). In dieser Studie wurde der kompensatorische Effekt des Ausdauertrainings möglicherweise noch durch einen Anstieg der Außentemperatur verstärkt, für die Trainingsphase bestand eine negative Korrelation der Außentemperatur mit der freien Aktivität der Hunde.

5.3.8 Effekte der Supplementierung mit Guanidinoacetat auf den Gehalt von Kreatin, Kreatinin, Guanidinoacetat und Homocystein im Blut

Der Anstieg des Plasma-Kreatin-Gehalts nach der 4-wöchigen Anfütterungsphase gegenüber den nicht supplementierten Hunden zeugt von einer effektiven Absorption von GAA aus dem Darm (Tsubakihara et al. 1999, Wyss & Kaddurah-Daouk 2000) und einer raschen Metabolisierung zu Cr (Daly 1985, Komoto et al. 2003). Da im Anschluss an die Anfütterungsphase ein Anstieg des Cr-, jedoch nicht des GAA-Gehalts beobachtet werden konnte, spricht dies für eine sehr rasche und effiziente Umwandlung von GAA zu Cr in der Leber bzw. Ausscheidung des nicht metabolisierten GAAs mit dem Urin.

Der Abbau von Kreatin erfolgt im Muskel. Normalerweise wird Kreatin dort schnell rephosphoryliert, ein Teil wird jedoch kontinuierlich zu Kreatinin dehydriert und schließlich mit dem Urin ausgeschieden (Walker 1979). Die tägliche renale Ausscheidung von Kreatinin ist innerhalb eines Individuums relativ konstant, kann aber in Abhängigkeit von der Gesamtmuskelmasse zwischen den Individuen variieren (Heymsfield et al. 1983). Häufig wurde im Zusammenhang mit dem Anstieg des Plasmagehalts von Kreatin auch ein Anstieg des Kreatininspiegels beobachtet (Lowe et al. 1998). In dieser Studie blieb der Kreatin-Gehalt im Plasma jedoch vermutlich aufgrund der geringen täglichen Dosis von 0,3 mmol/kg über den gesamten Studienzeitraum relativ konstant.

Der GAA-Gehalt im Serum von supplementierten Hunden zeigte bei trainierten Hunden einen Anstieg gegenüber dem in der Anfütterungsphase gemessenen Gehalt. In einer Studie am Menschen wurde gezeigt, dass der GAA-Gehalt im Serum bis ca. 1,5 Stunden nach Verabreichung einer einmaligen Dosis von 1 g kontinuierlich anstieg und 8 Stunden nach Verabreichung wieder zum Ausgangswert zurückgekehrt war (Tsubakihara et al. 1999). Einen ähnlichen Verlauf der Plasmakonzentration von Kreatin beobachteten Lowe et al. (1998) bei Hunden am Tag 0, 14 und 28 der Kreatin-

Supplementierung. Solch ein kurzfristiger Effekt durch GAA-Fütterung kann jedoch ausgeschlossen werden, da die Hunde in dieser Studie zum Blutentnahmezeitpunkt nüchtern waren und die letzte Gabe von GAA ca. 18 Stunden zurück lag.

Ein über einen längeren Zeitraum erhöhter GAA-Spiegel im Plasma wurde bisher in keiner Studie beobachtet. Möglicherweise steht dies in Zusammenhang mit der 16 Wochen andauernden, täglichen Supplementierung mit GAA. Es ist bisher keine Studie an Hunden bekannt, die GAA über einen ähnlich langen Zeitraum supplementierte. Möglicherweise bewirkte Training eine Akkumulation des im Blut zirkulierenden GAAs im Körper, beispielsweise im Muskel, von wo es mit sinkender GAA-Konzentration im Blut wieder an dieses abgegeben wurde. Solche Mechanismen sind jedoch noch nicht bekannt und wurden im Rahmen dieses Projektes nicht genauer untersucht.

Die orale Supplementierung mit GAA ist bekannt dafür, einen hohen Plasma-Spiegel an Homocystein zu produzieren (Stead et al. 2001). Oral aufgenommenes GAA wird im Darm absorbiert und gelangt ins Blut (Tsubakihara et al. 1999, Wyss & Kaddurah-Daouk 2000). In der Leber wird GAA methyliert, dabei gibt S-Adenosylmethionin (SAM) seine Methyl-Gruppe an die Amidino-Gruppe von GAA ab und es entstehen Kreatin und S-Adenosylhomocystein (SAH). Das meiste Kreatin wird ins Blut abgegeben und in die Skelettmuskulatur transportiert, SAH wird schließlich zu Adenosin und Homocystein hydrolysiert. Homocystein kann dann entweder zu Cystein abgebaut, zu Methionin remethyliert oder ins Blut abgegeben werden. Es ist daher offensichtlich, dass Methylierungs-Reaktionen und der Metabolismus von Homocystein eng miteinander verbunden sind.

Die Methylierung von GAA zu Kreatin verbraucht insgesamt mehr SAM als alle Methylierungs-Reaktionen zusammen (Wyss & Wallimann 1994). In einer Studie an Ratten, die zwei Wochen lang mit GAA supplementiert wurden, stieg der Homocystein-Gehalt im Plasma um 49 % gegenüber den Kontrolltieren an (Stead et al. 2001). Erhöhte Konzentration von Homocystein im Plasma wurden jedoch mit der Entwicklung vaskulärer Erkrankungen in Verbindung gebracht (Refsum et al. 1998, Brattström & Wilcken 2000, Wald et al. 2002, Kalra 2004).

In dieser Studie bekamen die Hunde über 16 Wochen täglich GAA in einer Dosis von 0,3 mmol/kg KM supplementiert. Während der Supplementierung wurde jedoch zu keiner Zeit eine Erhöhung der Plasma-Homocystein-Konzentration nachgewiesen. Die orale Supplementierung mit GAA scheint daher in dieser Dosis das vaskuläre System nicht nachteilig zu beeinflussen.

5.4 Überblick

Ziel dieser Studie war es, für FBI-Hunde eine Korrelation von Sauerstoffverbrauch und Herzfrequenz unter Belastung aufzustellen. Anhand dieser Korrelation soll es zukünftig möglich sein, den Sauerstoffverbrauch und somit den Energieverbrauch von Hunden dieser Gewichtsklasse (23,66 bis 34,43 kg) unter Belastung über die Messung der Herzfrequenz abzuschätzen.

Die Korrelation kann anhand einer linearen Regressionsgerade mit der Gleichung $\dot{V}O_2$ [ml O₂/kg KM/min] = 0,321 · HF – 19,263 beschrieben werden und erklärt bereits 78 % der beobachteten Variationen. Für FBI-Hunde stellt die Messung der Herzfrequenz

eine kostengünstige und leicht durchzuführende Methode dar, um deren Energieverbrauch abzuschätzen. Die Anwendung dieser Methode sollte ebenso an Hunderassen mit einem Gewicht zwischen 23,66 bis 34,43 kg sowie einer ähnlichen Relation von Herzgröße zu Körpergewicht möglich sein. Hier ist jedoch noch weitere Validierung nötig.

Außerdem sollten im Rahmen dieses Projekts der Energiestoffwechsel von FBI-Hunden anhand von Respirometrie in unterschiedlichen, definierten Belastungs- und Trainingszuständen gemessen sowie trainingsbedingte Effekte auf Energiestoffwechsel, Konstitution und Leistungsfähigkeit dieser Hunde ermittelt werden. Außerdem sollte nach einer Trainingspause die Reversibilität der hervorgerufenen Änderungen überprüft werden. Anhand von Belastungstests, einem Schwellentest und einem Maximaltest wurde die Ausdauerleistung der Hunde vor und nach der Trainingsphase evaluiert. Die trainierten Hunde zeigten sowohl eine Steigerung der Laufdauer während des Maximaltests um 97,55 %, als auch eine Absenkung des Sauerstoffverbrauchs während des Schwellentests um 25,35 % bei 10 km/h, bzw. 36,41 % bei 15 km/h. Dies zeigt, dass durch ein sechswöchiges Ausdauertraining bei Hunden eine verbesserte Ausdauerleistung sowie eine Steigerung der oxidativen Leistungsfähigkeit erzielt werden konnte. Die Effekte des Ausdauertrainings auf den Energiestoffwechsel unter Belastung waren nach einer neunwöchigen Trainingspause vollständig reversibel.

Die Dauer und/oder Intensität der Trainingsphase schien jedoch zu kurz, um Anpassungen des Ruhestoffwechsels, der Herzfrequenz in Ruhe und unter Belastung sowie des kardiovaskulären Systems hervorzurufen. Aufgrund der metabolischen Anforderungen an die Muskulatur bewirkte Ausdauertraining keine Zunahmen der Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln. Die Arbeitshypothese war zudem, durch das Ausdauertraining nach körperlicher Anstrengung eine verringerte DNA-Schädigung nachweisen zu können. Die Ergebnisse zeigen jedoch einen umgekehrten Effekt, die DNA-Schädigung war bei untrainierten Hunden signifikant niedriger als bei trainierten Hunden und stieg bei untrainierten Hunden auch nach der Belastung nicht an. Auch in diesem Fall scheint das Training nicht ausreichend gewesen zu sein, um die Aktivität von DNA-Reparaturenzymen und eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen oxidativen Stress hervorzurufen; es bewirkte jedoch eine höhere oxidative Kapazität.

Die Auswirkung von Ausdauertraining auf die Aktivität konnte nur im zweiten Abschnitt dieses Projekts, während der Supplementierung mit GAA, untersucht werden.

In einem zweiten Abschnitt des Projektes sollte die Auswirkung der oralen Supplementierung mit GAA auf Energiestoffwechsel, Konstitution und Leistungsfähigkeit der Hunde untersucht werden. Zunächst sollten die alleinigen Effekte einer Supplementierung mit GAA, später auch in Kombination mit Ausdauertraining, untersucht werden.

Die Supplementierung mit GAA bewirkte eine Absenkung des Ruhestoffwechsels sowie bei trainierten Hunden einen Anstieg des $\dot{V}O_2$ unter Belastung. Der Anstieg des $\dot{V}O_2$ unter Belastung ist vermutlich durch einen Anstieg der aeroben Kapazität in den langsamen Muskelfasern der ausdauertrainierten Probanden bedingt. Die Absenkung des Ruhestoffwechsels könnte durch eine veränderte Substrat-Verwendung während des Ruhestoffwechsels bedingt sein.

Wie bei den nicht supplementierten Hunden wurden sowohl einzeln als auch in Kombi-

nation mit Ausdauertraining keine Effekte von GAA-Supplementierung auf die Herzfrequenz, echokardiographische Parameter und die Muskeldicke gefunden. Dies ist vermutlich durch eine zu geringe Trainingsdauer und/oder –intensität bedingt. Der mangelnde Muskelzuwachs ist jedoch auf die metabolischen Anforderungen des Ausdauertrainings an die Muskulatur zurückzuführen, die keinen Kraftzuwachs via Faserhypertrophie bedingen.

Die Arbeitshypothese war, auch bei supplementierten Hunden eine Abnahme der belastungsinduzierten DNA-Schädigung gegenüber nicht supplementierten Hunden zeigen zu können. Die Supplementierung mit GAA bewirkte jedoch bei untrainierten Hunden einen Anstieg des Tailmoments vor und 120 Minuten nach der Belastung. Die Anpassung antioxidativer Mechanismen durch Ausdauertraining schien durch die GAA-Supplementierung während des Trainings aber beschleunigt zu werden.

Zudem wurde erwartet, eine aktivitätssteigernde Wirkung durch die GAA-Supplementierung bei Hunden zeigen zu können. Durch die Supplementierung mit GAA kam es jedoch zu einem Abfall der freien Aktivität bei untrainierten Hunden. Während der Trainingsphase kompensierten die Hunde die erhöhte Gesamtaktivität durch eine verringerte freie Aktivität.

Es stellte sich heraus, dass die Supplementierung mit GAA zu einem Anstieg von Kreatin im Blut führte. Dies lässt auf eine rasche und effiziente Umwandlung von GAA zu Kreatin schließen. Bei trainierten Hunden wurde gegenüber untrainierten Hunden ein Anstieg des GAA-Spiegels im Blut festgestellt, solch ein Effekt wurde bisher in keiner anderen Studie beobachtet. Möglicherweise kommt es durch die Supplementierung mit GAA über 16 Wochen und den zusätzlichen Effekt des Ausdauertrainings zu einer Akkumulation von GAA im Körper, beispielsweise in der Muskulatur, und von dort wieder zu einer Abgabe ins Blut. Solche Mechanismen sind jedoch noch nicht bekannt und wurden im Rahmen dieses Projektes auch nicht näher untersucht.

Durch die orale Supplementierung und Methylierung von GAA zu Kreatin wurde zudem häufig ein Anstieg des Homocystein-Spiegels im Blut beobachtet, in dieser Studie blieb der Spiegel jedoch, vermutlich aufgrund der geringen Dosis von GAA, über den gesamten Verlauf relativ konstant.

Abschließende bleibt noch zu erwähnen, dass in zukünftigen Studien die Trainingsdauer und/oder –intensität gegenüber dem in dieser Studie verwendeten Trainingsprotokoll erhöht werden sollte, um weitere Effekte von Ausdauertraining auf die hier untersuchten Parameter zeigen zu können. Um durch Training eine Zunahme der Muskeldicke hervorzurufen, sollten zusätzlich Aspekte des Krafttrainings in das Training integriert werden.

Da sich die GAA-Supplementierung bei Hunden wenig Effekte auf die aerobe Leistungsfähigkeit zu haben scheint, sollten die Effekt auf die anaerobe Leistungsfähigkeit in weiteren Studien anhand eines Schnellkraft- und/oder Sprintrainings untersucht und anhand von kurzen Intervalltests evaluiert werden.

6 Zusammenfassung

Ein Hauptziel dieser Studie war es, für FBI-Hunde eine Korrelation von Sauerstoffverbrauch und Herzfrequenz aufzustellen, anhand der es zukünftig möglich sein sollte, den Energieverbrauch von Hunden über die Messung der Herzfrequenz abschätzen zu können. Für die Messungen des Energiestoffwechsels in Ruhe und unter Belastung wurde indirekte Kalorimetrie bzw. Respirometrie verwendet, synchron dazu wurden Herzfrequenzmessungen durchgeführt. Anhand dieser Messungen gelang es, für Hunde unterschiedlicher Fitness- und Belastungsgrade (Gehen, Stehen, Laufen bei 5 bis 16,5 km/h) eine Korrelation für Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch ($\dot{V}O_2$) unter Belastung aufzustellen. Diese kann anhand einer linearen Regressionsgerade mit der Gleichung $\dot{V}O_2$ [ml O₂/kg KM/min] = 0,321 · HF – 19,263 beschrieben werden und erklärt bereits 78 % der beobachteten Variationen. Die Messung der Herzfrequenz ermöglicht es daher zukünftig, den Energie-Mehrbedarf für die Arbeitsleistung von Hunden zwischen 23,66 und 34,43 kg Körpergewicht einfach, kostengünstig und individuell abschätzen zu können und auf diese Weise Bedarfsnormen für unterschiedlich aktive Hunde zu etablieren.

Die Ermittlung der Effekte eines sechswöchigen Ausdauertrainings auf dem Laufband auf Energiestoffwechsel, Konstitution und Leistungsfähigkeit von Hunden stellte ein weiteres Ziel dieses Projektes dar. Zudem wurden trainingsbedingte Auswirkungen auf funktionelle und strukturelle Parameter des Herzens, die Muskeldicke ausgewählter Lokomotionsmuskeln, die DNA-Schädigung durch Belastung und die Aktivität von Hunden untersucht. Die Reversibilität solcher Anpassungen wurde nach einer neunwöchigen Trainingspause überprüft.

Die im Rahmen dieses Projektes ermittelten Effekte von Ausdauertraining auf den Energiestoffwechsel von FBI-Hunden wurden anhand des Sauerstoffverbrauchs in Ruhe und unter Belastung untersucht. Ausdauertraining bewirkte bei den Hunden eine Steigerung der Ausdauerleistung sowie der oxidativen Leistungsfähigkeit unter Belastung. Trainierte Hunde zeigten eine Steigerung der Laufdauer um 97,55 % bei konstant hoher Geschwindigkeit und eine Absenkung des $\dot{V}O_2$ um bis zu 36,41 % während stufenweiser Erhöhung der Geschwindigkeit. Diese Effekte waren, den Erwartungen entsprechend, nach einer neunwöchigen Trainingspause vollständig reversibel.

Allerdings reichten die Trainingsdauer und/oder –intensität nicht aus, um Anpassungen des Ruhestoffwechsels, der Herzfrequenz in Ruhe und unter Belastung sowie strukturelle und funktionelle Anpassungen des Herzens hervorzurufen. Zudem hatte Ausdauertraining keine Auswirkungen auf die Muskeldicke verschiedener Lokomotionsmuskeln. Dies kann ebenfalls durch eine zu geringe Trainingsdauer und –intensität oder aufgrund der metabolischen Anforderungen des Ausdauertrainings an die Skelettmuskulatur bedingt sein und sollte zukünftig durch die Integration von Elementen des Krafttrainings und einer Verlängerung des Trainings überprüft werden.

Entgegen den Erwartungen zeigten die Hunde nach der Trainingsphase, gegenüber untrainierten Hunden einen belastungsinduzierten Anstieg der DNA-Schädigung. Trai-

ningsdauer und/oder –intensität reichten auch hier vermutlich die nicht aus, um eine Anpassung antioxidativer Mechanismen an die gesteigerte oxidative Kapazität trainierter Hunde hervorzurufen.

Die Untersuchung der Effekte einer Supplementierung mit Guanidinoacetat (GAA) auf obige Parameter sowie die Aktivität und den Gehalt an GAA bzw. dessen Metaboliten in Blut und Muskulatur von Hunden war ebenfalls Gegenstand dieser Arbeit. Guanidinoacetat stellt eine stabile Vorstufe in der endogenen Synthese von Kreatin dar. Durch die orale Supplementierung mit GAA kommt es zu einem Anstieg des Kreatingehaltes in Blut und Muskulatur.

Die Supplementierung mit GAA bewirkte, im Vergleich zu nicht supplementierten Hunden, bei allen Hunden eine Absenkung des Ruhestoffwechsels, bei trainierten Hunden kam es jedoch zu einem Anstieg des $\dot{V}O_2$ unter Belastung. Dies ist vermutlich durch einen Anstieg der aeroben Phosphorylierung in den langsamen Muskelfasern der ausdauertrainierten Probanden bedingt (Rico-Sanz & Marco 2000). Es wurden keine weiteren Effekte von GAA-Supplementierung auf die Herzfrequenz und andere funktionelle und strukturelle Parameter des Herzens sowie die Muskeldicke ausgewählter Lokomotivmuskeln gefunden. Während der Supplementierung mit GAA wurde jedoch eine geringere Aktivität der Hunde, gegenüber nicht supplementierten Hunden, gemessen. Außerdem kam es bei GAA supplementierten Hunden nach der Trainingsphase zu einer deutlich verminderten DNA-Schädigung gegenüber untrainierten Hunden.

Die Supplementierung mit GAA bewirkte einen Anstieg von Kreatin im Blut. Guanidinoacetat wurde folglich aus dem Darm absorbiert und im Körper rasch und effizient zu Kreatin umgewandelt. Bei trainierten Hunden änderte sich der Kreatingehalt im Vergleich zu untrainierten Hunden nicht, interessanterweise zeigten trainierte Hunde jedoch einen Anstieg von GAA im Blut. Ein solcher Effekt wurde bisher in keiner anderen Studie beobachtet und ist möglicherweise auf eine Akkumulation von GAA im Körper zurückzuführen. Jedoch wurde dies in dieser Studie nicht näher untersucht. In der Muskulatur konnte zudem bei GAA-supplementierten Hunden einen Anstieg des Gesamt-Kreatin-Gehaltes im Verhältnis zum ATP-Gehalt nachgewiesen werden.

Fazit

Die Messung der Herzfrequenz stellt ein geeignetes Mittel zur Abschätzung des Energieverbrauchs von unterschiedlich trainierten und beanspruchten Hunden dar und wird zukünftig die Erstellung von Bedarfsnormen für sportlich genutzte Hunde und Arbeits-hunde erleichtern. Ausdauertraining, nach dem in dieser Studie verwendeten Trainingsprotokoll, führt bei Hunden zu einer Abnahme des Sauerstoffverbrauchs sowie zu einer Steigerung der Laufdauer bei konstanter Geschwindigkeit. Ab einer gewissen Beanspruchung kompensieren Hunde den erhöhten Energieverbrauch, indem sie sich dementsprechend weniger bewegen.

Die Supplementierung mit GAA bewirkte, entgegen den Erwartungen, keine Steigerung der Ausdauerleistung von Hunden.

Zukünftig sollten sowohl die Effekte von Ausdauertraining als auch die einer Supplemen-

tierung mit GAA auf den Hund unter längeren und/oder intensiveren Trainingsbedingungen und der Einbeziehung von Elementen des Krafttrainings untersucht werden.

7 Summary

A goal of this project was, to establish a correlation between oxygen consumption and heart rate for FBI-dogs which will, in the future, enable the prediction of energy consumption of dogs undertaking exercise. Indirect calorimetry, i.e. respirometry, was used to measure energy metabolism at rest and during exercise at different running speed; heart rate was measured simultaneously. From these measurements a correlation between heart rate and oxygen consumption ($\dot{V}O_2$) has been established for dogs of varying 'fitness grades'. The correlation was described by a linear regression line with the equation $\dot{V}O_2$ [ml O₂/kg KM/min] = 0,321·HF -19,263 which accounts for 78 % of the variation observed. In future practice, the measurement of heart rate will be an easy and affordable tool to assess the increased energy requirement of individual working or sporting dogs, and to make feeding recommendations for dogs with different degrees of activity.

Measuring potential adjustments of energy metabolism, body condition and performance in response to a six-week endurance training on a treadmill was another goal of this project. Effects of endurance training on functional and structural parameters of the heart, muscle thickness of selected locomotor muscles, exercise-induced DNA-damage and the activity of dogs have been recorded. All observed adjustments were fully reversible when training paused for nine weeks.

The effects of endurance training on the energy metabolism of FBI-dogs have been investigated measuring oxygen consumption at rest and during exercise. Endurance training of dogs achieved an increase in endurance performance as well as in oxidative performance during exercise. Trained dogs were able to run for a 97,55 % longer duration at a constant high velocity, they also maintained up to 36,41 % lower oxygen consumption rates during stepwise increase of velocity. These effects were fully reversible when training paused for nine weeks.

Duration and/or intensity of the endurance training conducted in this study were not sufficient to elicit adaptations of the resting metabolism, heart rate at rest and during exercise nor of functional and structural parameters of the heart. Also, no effect of endurance training was observed on thickness of different locomotor muscles. This could be a consequence of insufficient duration and/or intensity of training or conditioned by the metabolic demands of endurance training on skeletal muscles. In the future, this should be examined by the integration of elements of resistance training and increased duration of training.

In contrast to the predictions, trained dogs showed an increase in exercise-induced DNA-damage when compared to untrained dogs. Presumably duration and/or intensity of training were also insufficient to evoke adjustments of anti-oxidative mechanisms to adapt to the increased oxidative capacity of the trained dogs.

Effects of orally supplemented guanidino acetic acid (GAA) on the parameters mentioned above, on activity, the content of GAA and its by-products in blood and muscles

were also subject of this study. Guanidino acetic acid is a precursor in the endogenous synthesis of creatine, therefore, supplementation of creatine leads to increases in concentrations of creatine in both blood and skeletal muscle.

Supplementation with GAA resulted in a decrease of resting metabolism of all dogs. However, in trained dogs an increase in $\dot{V}O_2$ during exercise has been observed. This increase in $\dot{V}O_2$ during exercise is probably caused by an increase in oxidative phosphorylation in the slow-twitch muscle fibers found in endurance trained subjects (Rico-Sanz & Marco 2000). No other effects of supplementation with GAA on heart rate, echocardiographic parameters and thickness of locomotor muscles were found. Moreover, activity in dogs which were supplemented with GAA decreased, when compared to dogs without supplementation. However, endurance training combined with GAA-supplementation resulted in decreasing DNA-damage compared to untrained dogs.

When examining the effects of creatine supplementation on the blood parameters, concentration of creatine in the blood increased along with supplementation of GAA. Thus GAA was absorbed from the intestine and metabolized rapidly and effectively into creatine. In trained dogs, the blood concentration of creatine did not change when compared to untrained dogs. Interestingly in the trained dogs an increase in blood concentration of GAA was observed, an effect which has not been found in any other study so far. This is possibly caused by an accumulation of GAA in the bodies of the dogs but has not been examined any further during this project. Moreover, supplementation of GAA increased total creatine content relative to ATP content in the muscles of the dogs.

Conclusion

Heart rate measurement is a suitable tool for estimating energy expenditure of variously challenged dogs at different 'fitness grades' and therefore, in future practice will facilitate the creation of feeding recommendations of working and sporting dogs.

Endurance training of dogs, based on the training schedule applied in this study, achieves a decrease in oxygen consumption during exercise as well as an increase in endurance performance. In addition, training in dogs is compensated by reduced activity during the rest of the day, i.e., dogs compensate for the increased energy expenditure by moving less during their 'leisure time'.

Against the expectations, supplementation of GAA is not enhancing endurance performance of dogs.

In future practice, both effects of endurance training and effects of supplementation of GAA should be examined using a longer or more intense training schedule including elements of resistance training.

8 Literaturverzeichnis

- Ahlstrom O, Redman P, Speakman J. 2010. Energy expenditure and water turnover in hunting dogs in winter conditions.
- Alméras N, Mimeault N, Serresse O, Boulay MR, Tremblay A. 1991. Non-exercise daily energy expenditure and physical activity pattern in male endurance athletes. *European Journal of Applied Physiology* 63: 184-187.
- Arciero PJ, Hannibal NS, Nindl BC, Gentile CL, Hamed J, Vukovich MD. 2001. Comparison of creatine ingestion and resistance training on energy expenditure and limb blood flow. *Metabolism* 50: 1429-1434.
- Armstrong JD. 1986. Heart rate as an indicator of activity, metabolic rate, food intake and digestion in pike, *Esox lucius*. *Journal of Fish Biology* 29: 207-221.
- Armstrong RB, Saubert CW, Seeherman HJ, Taylor CR. 1982. Distribution of fiber types in locomotory muscles of dogs. *American Journal of Anatomy* 163: 87-98.
- Arokoski J, Miettinen P, Säämänen A-M, Haapanen K, Parviainen M, Tammi M, Helminen H. 1993. Effects of aerobic long distance running training (up to 40 km · day⁻¹) of 1-year duration on blood and endocrine parameters of female beagle dogs. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 67: 321-329.
- Aruoma OI & Halliwell B. 1998. Molecular biology of free radicals in human diseases. Sant Lucia, London: OICA International.
- Askew HR. 1996. Treatment of behavior problems in dogs and cats: a guide for the small animal veterinarian. Oxford: Blackwell Science.
- Baba K, Kawamura T, Shibata M, Sohirad M, Kamiya A. 1995. Capillary-Tissue Arrangement in the Skeletal Muscle Optimized for Oxygen Transport in All Mammals. *Microvascular Research* 49: 163-179.
- Bacigalupe LD & Bozinovic F. 2002. Design, limitations and sustained metabolic rate: lessons from small mammals. *J Exp Biol* 205: 2963-2970.
- Ballevre O, Anantharaman-Barr G, Gicquello P, Piguet-Welsh C, Thielin A-L, Fern E. 1994. Use of the Doubly-Labeled Water Method to Assess Energy Expenditure in Free Living Cats and Dogs. *the journal of nutrition* 124: 2594S-2600S.
- Ballor DL. 1991a. Exercise training elevates RMR during moderate but not severe dietary restriction in obese male rats. *Journal of Applied Physiology* 70: 2303-2310.
- Ballor DL. 1991b. Effect of dietary restriction and/or exercise on 23-h metabolic rate and body composition in female rats. *Journal of Applied Physiology* 71: 801-806.
- Balsom PD, Söderlund K, Ekblom B. 1994. Creatine in Humans with Special Reference to Creatine Supplementation. *Sports Medicine* 18: 268-280.
- Balsom PD, Ekblom B, Söerlund K, Sjödln B, Hultman E. 1993a. Creatine supplementation and dynamic high-intensity intermittent exercise. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 3: 143-149.
- Balsom PD, Harridge SDR, Soderlund K, Sjodin B, Ekblom B. 1993b. Creatine supplementation per se does not enhance endurance exercise performance. *Acta Physiologica Scandinavica* 149: 521-523.
- Bamford OS & Maloiy GM. 1980. Energy metabolism and heart rate during treadmill exercise in the Marabou stork. *Journal of Applied Physiology* 49: 491-496.

- Barnard RJ, Duncan HW, Baldwin KM, Grimditch G, Buckberg GD. 1980. Effects of intensive exercise training on myocardial performance and coronary blood flow. *Journal of Applied Physiology* 49: 444-449.
- Beaumont MW, Butler PJ, Taylor EW. 2003. Exposure of brown trout *Salmo trutta* to a sublethal concentration of copper in soft acidic water: effects upon gas exchange and ammonia accumulation. *J Exp Biol* 206: 153-162.
- Becque MD, Lochmann JD, Melrose DR. 2000. Effects of oral creatine supplementation on muscular strength and body composition. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 32: 654-658.
- Beerda B, Schilder MBH, van Hooff JARAM, de Vries HW, Mol JA. 1998. Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs *Applied Animal Behaviour Science* 58: 365-381.
- Bell F. 2002. Actical Prototype Development. Mini Mitter Documents.
- Benecke N. 1994. *Der Mensch und seine Haustiere: die Geschichte einer Jahrtausendealten Beziehung*. Stuttgart: Theiss.
- Bergström J. 1962. Muscle electrolytes in man determined by neutron activation analysis on needle biopsy specimens. A study on normal subjects, kidney patients, and patients with chronic diarrhoea *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 14: 1-110.
- Bessmann SP & Savabi F. 1988. The role of the phosphocreatine energy shuttle in exercise and muscle hypertrophy. Pages 167-178 in Taylor AW, Gollnick PD, Green HJ, Ianuzzo CD, Noble EG, Metivier G, Stutton JR, eds. *International Series on Sports Sciences*. Champaign, IL: Human Kinetics.
- Bevan R, Woakes A, Butler P, Boyd I. 1994. The use of heart rate to estimate oxygen consumption of free-ranging black-browed albatrosses *Diomedea melanophrys* *J Exp Biol* 193: 119-137.
- Bevan RM, Woakes AJ, Butler PJ, Croxall JP. 1995a. Heart Rate and Oxygen Consumption of Exercising Gentoo Penguins. *Physiological Zoology* 68: 855-877.
- Bevan RM, Butler PJ, Woakes AJ, Prince PA. 1995b. The Energy Expenditure of Free-Ranging Black-Browed Albatrosses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 350: 119-131.
- Bevan RM, Butler PJ, Woakes AJ, Boyd IL. 2002. The energetics of Gentoo Penguins, *Pygoscelis papua*, during the breeding season. *Functional Ecology* 16: 175-190.
- Beyreuther S. 2007. *Korrelation von Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch bei Haushunden als Maß für den Aktivitätsstoffwechsel*. Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München, Department Biologie II, Funktionelle Morphologie der Tiere / Zoologie.
- Bishop CMW, S.; Woakes, A. J.; Butler, P. J. 2002. The energetics of barnacle geese (*Branta leucopsis*) flying in captive and wild conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 133: 225-237.
- Black AE, Coward WA, Cole TJ, Prentice AM. 1996. *Human energy expenditure in affluent societies: an analysis of 574 doubly-labelled water measurements*. Basingstoke, ROYAUME-UNI: Nature Publishing Group.
- Blaxter K. 1989. *Energy metabolism in animals and man*. Cambridge University Press: New York, : XIII+336P.
- Blaza SE. 1981. The nutrition of giant breeds of dogs. *Pedigree Dig* 8: 8-9.
- Blaza SE. 1982. energy requirements of dogs in cool conditions. *Canine Practice* 9: 10-15.

- Blomqvist CG & Saltin B. 1983. Cardiovascular Adaptations to Physical Training. Annual Review of Physiology 45: 169-189.
- Boon JA. 2006. Manual of veterinary echocardiography: Blackwell Publishing.
- Boon JA, Wingfield WE, Miller CW. 1983. Echocardiographic indices in the normal dog. Veterinary Radiology & Ultrasound 24: 214-221.
- Boonyarom O & Inui K. 2006. Atrophy and hypertrophy of skeletal muscles: structural and functional aspects. Acta Physiologica 188: 77-89.
- Booth FW, Laye MJ, Spangenburg EE. 2010. Gold standards for scientists who are conducting animal-based exercise studies. Journal of Applied Physiology 108: 219-221.
- Borsook H & Borsook ME. 1951. The biochemical basis of betaine-glycocyamine therapy. Annals of Western Medicine and Surgery 5: 825-829.
- Bove AA, Hultgren PB, Ritzer TF, Carey RA. 1979. Myocardial blood flow and hemodynamic responses to exercise training in dogs. Journal of Applied Physiology 46: 571-578.
- Bozinovic F. 1992. Scaling of Basal and Maximum Metabolic Rate in Rodents and the Aerobic Capacity Model for the Evolution of Endothermy. Physiological Zoology 65: 921-932.
- Branch JD & Williams MH. 2002. Creatine as an ergogenic supplement. Pages 175-197 in Bahrke MS, Yesalis CE, eds. Performance-enhancing substances in sport and exercise. Champaign, IL: Human Kinetics.
- Brannon TA, Adams GR, Conniff CL, Baldwin KM. 1997. Effects of creatine loading and training on running performance and biochemical properties of rat skeletal muscle. Medicine & Science in Sports & Exercise 29: 489-495.
- Brattström L & Wilcken DE. 2000. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? The American Journal of Clinical Nutrition 72: 315-323.
- Briviba K, Watzl B, Nickel S, Kulling S, Bös K, Haertel S, Rechkemmer G, Bub A. 2005. A half-marathon and a marathon run induce oxidative DNA damage, reduce antioxidant capacity to protect DNA against damage and modify immune function in hobby runners. Redox Report 10: 325-331.
- Brobeck JR & Dubois AB. 1980. Energy exchange. Pages 1351-1365 in Mountcastle VB, ed. Medical Physiology, vol. 2. St. Louis, MO: Mosby, C.V.
- Broeder CE, Burrhus KA, Svanevik LS, Wilmore JH. 1992. The effects of either high-intensity resistance or endurance training on resting metabolic rate. Am J Clin Nutr 55: 802-810.
- Bruijne JJd. 1982. Ketone-body metabolism in fasting dogs.
- Bryant DM & Westerterp KR. 1983. Short-Term Variability in Energy Turnover by Breeding House Martins *Delichon urbica*: A Study Using Doubly-Labelled Water ($D_2^{18}O$). Journal of Animal Ecology 52: 525-543.
- Brzezinska Z. 1987. Muscle metabolism during prolonged physical exercise in dogs. Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie 95: 305-312.
- Bundle MW, Hoppeler H, Vock R, Tester JM, Weyand PG. 1999. High metabolic rates in running birds. Nature 397: 31-32.
- Burger IH. 1994. Energy Needs of Companion Animals: Matching Food Intakes to Requirements Throughout the Life Cycle. the journal of nutrition 124: 2584S-2593S.
- Burger IH & Johnson JV. 1991. Dogs Large and Small: The Allometry of Energy Requirements within a Single Species. the journal of nutrition 121: S18-S21.

- Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, MacDonald MJ, McGee SL, Gibala MJ. 2008. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *The Journal of Physiology* 586: 151-160.
- Butler PJ, Woakes AJ, Boyd IL, Kanatous S. 1992. Relationship between heart rate and oxygen consumption during steady-state swimming in California sea lions. *J Exp Biol* 170: 35-42.
- Butler PJ, Green JA, Boyd IL, Speakman JR. 2004. Measuring metabolic rate in the field: the pros and cons of the doubly labelled water and heart rate methods. *Functional Ecology* 18: 168-183.
- Butterwick RF & Hawthorne AJ. 1998. Advances in Dietary Management of Obesity in Dogs and Cats. *the journal of nutrition* 128: 2771S-2775S.
- Cabric M & James NT. 1983. Morphometric analyses on the muscles of exercise trained and untrained dogs. *American Journal of Anatomy* 166: 359-368.
- Cadet J, Berger M, Douki T, Ravanat J. 1997. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement, and biological significance. Pages 1-87. *Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology*, Volume 131, vol. 131 Springer Berlin Heidelberg.
- Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget J-P, Ravanat J-L, Sauvaigo S. 1999. Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 424: 9-21.
- Casey A, Constantin-Teodosiu D, Howell S, Hultman E, Greenhaff PL. 1996. Creatine ingestion favorably affects performance and muscle metabolism during maximal exercise in humans. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 271: E31-E37.
- Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. 1985. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public health reports (Washington, D.C. : 1974)* 100: 126-131.
- Cerutti P. 1985. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 227: 375-381.
- Coenen M. 2010. Remarks on the benefits of heart rate recordings in Research KE, ed. 17th proceedings of the 2010 Kentucky Equine Research Nutrition Conference. Lexington, KY.
- Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, Gaivão I, Giovannelli L, Kruszewski M, Smith CC, Štětina R. 2008. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis* 23: 143-151.
- Connor M, Labato MA, Laflamme DP. 2000. Variation in maintenance energy requirements of pet dogs. Pages 84. *Purina Nutrition Forum Proceedings Supplement to Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*.
- Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT. 2002. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions* 30: 280-285.
- Couroucé A, Geffroy O, Barrey E, Auvinet B, Rose RJ. 1999. Comparison of exercise tests in French trotters under training track, racetrack and treadmill conditions. *Equine Veterinary Journal* 31: 528-532.
- Coyle EF. 1995. Integration of the Physiological Factors Determining Endurance Performance Ability. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 23: 25-64.
- Coyle EF, Martin WH, Bloomfield SA, Lowry OH, Holloszy JO. 1985. Effects of detraining on responses to submaximal exercise. Bethesda, MD, USA: American Physiological Society.
- Coyle EF, Martin III WH, Sinacore DR, Joyner MJ, Hagberg JM, Holloszy JO. 1984. Time course of loss of adaptations after stopping prolonged intense endurance training. *Journal of Applied Physiology* 57: 1857-1864.

- Daly MM. 1985. Guanidinoacetate methyltransferase activity in tissues and cultured cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 236: 576-584.
- Davenport GM, Kelley RL, Altom EK, Lepine AJ. 2001. Effect of diet on hunting performance of English pointers. *Vet. Therapeutics* 2: 10-23.
- Davies KJA, Packer L, Brooks GA. 1981. Biochemical adaptation of mitochondria, muscle, and whole-animal respiration to endurance training. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 209: 539-554.
- Davies KJA, Packer L, Brooks GA. 1982a. Exercise bioenergetics following sprint training. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 215: 260-265.
- Davies KJA, Maguire JJ, Brooks GA, Dallman PR, Packer L. 1982b. Muscle mitochondrial bioenergetics, oxygen supply, and work capacity during dietary iron deficiency and repletion. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 242: E418-E427.
- Decombaz J, Jambon M, Piguet C, Thelin A, Ballevre O. 1995. Energy intake and expenditure of sled dogs during the Alpirod race 1995. Pages 113-118 in Grandjean D, Vanek J, eds. *the Second Annual Sled Dog Veterinary Medical Association Symposium*. Reims, France: Reims Champagne Congres.
- DeWitt TJ, Sih A, Wilson DS. 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 77-81.
- Dickhuth H-H, Lehmann M, Auch-Schwelk W, Meinertz T, Keul J. 1987. Physical Training, Vegetative Regulation, and Cardiac Hypertrophy. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 10: S71-S78.
- Dickhuth H-H, Röcker K, Mayer F, König D, Korsten-Reck U. 2004. Ausdauersport und kardiale Adaptation (Sportherz). *Herz* 29: 373-380.
- Doorey A & Barry W. 1983. The effects of inhibition of oxidative phosphorylation and glycolysis on contractility and high-energy phosphate content in cultured chick heart cells. *Circ Res* 53: 192-201.
- Dourish CT. 1987. Effects of drugs on spontaneous motor activity. Pages 153-211 in Greenshaw AJ, Dourish CT, eds. *Experimental psychopharmacology*. Clifton, NJ: Humana Press.
- Dow C, Michel KE, Love M, Brown DC. 2009. Evaluation of optimal sampling interval for activity monitoring in companion dogs. *American Journal of Veterinary Research* 70: 444-448.
- Downs LG, Crispin SM, Legrande-Defretin V, Perez-Camargo G, McCappin T, Bolton CH. The influence of lifestyle and diet on the lipoprotein profile of Border Collies. *Research in Veterinary Science* 63: 35-42.
- Downs LG, Crispin SM, Legrande-Defretin V, Perez-Camargo G, McCappin T, Bolton CH. The effect of dietary changes on plasma lipids and lipoproteins of six Labrador Retrievers. *Research in Veterinary Science* 63: 175-181.
- Doxey S & Boswood A. 2004. Differences between breeds of dog in a measure of heart rate variability. *Veterinary Record* 154: 713-717.
- Durrer JL & Hannon JP. 1962. Seasonal variations in caloric intake of dogs living in an arctic environment. *American Journal of Physiology* 202: 375-378.
- Edge J, Bishop D, Goodman C. 2006. The effects of training intensity on muscle buffer capacity in females. *European Journal of Applied Physiology* 96: 97-105.
- Eklom B & Hermansen L. 1968. Cardiac output in athletes. *Journal of Applied Physiology* 25: 619-625.
- Engelhardt M, Neumann G, Berbalk A, Reuter I. 1998a. Creatine supplementation in endurance sports. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 30: 1123-1129.

- Engelhardt M, Neumann G, Berbalk A, Reuter I. 1998b. Creatine supplementation in endurance sports. *Med Sci Sports Exerc* 7: 1123 - 1129.
- Fagard RH. 1996. Athlete's Heart: A Meta-Analysis of the Echocardiographic Experience. *Int J Sports Med* 17: S140,S144.
- Fick A. 1870. Über die Messung des Blutquantums in den Herzventrikeln. *Phys.-Med. Ges. Würzburg* 2: 16.
- Fink B, Bassenge E, Bunger R. 2001. Influence of pyruvate or moderate exercise training on excessive formation of reactive oxygen species during increasing levels of treadmill exercise. *Circulation* 104: II.415.
- Finke MD. 1991. Evaluation of the energy requirements of adult kennel dogs. *Journal of Nutrition* 121: 22-28.
- Finke MD. 1994. Energy Requirements of Adult Female Beagles. *the journal of nutrition* 124: 2604S-2608S.
- Flück M. 2006. Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. *The Journal of Experimental Biology* 209: 2239-2248.
- Flück M & Hoppeler H. 2003. Molecular basis of skeletal muscle plasticity-from gene to form and function. Pages 159-216. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, vol. 146 Springer Berlin Heidelberg.
- Frankel TL & Bell CJ. 1994. The Practicalities of Measurement and Interpretation of Field Metabolic Rate in Dogs. *The Journal of Nutrition* 124: 2614S-2615S.
- Frappell PB & Butler PJ. 2004. Minimal Metabolic Rate, What It Is, Its Usefulness, and Its Relationship to the Evolution of Endothermy: A Brief Synopsis. *Physiological & Biochemical Zoology* 77: 865-868.
- Froget G, Butler PJ, Handrich Y, Woakes AJ. 2001. Heart rate as an indicator of oxygen consumption: influence of body condition in the king penguin. *J Exp Biol* 204: 2133-2144.
- Froget G, Handrich Y, Maho YL, Rouanet J-L, Woakes AJ, Butler PJ. 2002. The heart rate/oxygen consumption relationship during cold exposure of the king penguin: a comparison with that during exercise. *J Exp Biol* 205: 2511-2517.
- Fröhlich H. 2005. Die Herzfrequenz-Monitoring-Methode zur Bestimmung des Energieverbrauchs in Felduntersuchungen - Evaluierung und Anwendung. Dissertation an der Fakultät für Kulturwissenschaften, Universität Bayreuth.
- Geliebter A, Maher M, Gerace L, Gutin B, Heymsfield S, Hashim S. 1997. Effects of strength or aerobic training on body composition, resting metabolic rate, and peak oxygen consumption in obese dieting subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 66: 557-563.
- Gerth N, Sum S, Jackson S, Starck JM. 2009a. Muscle plasticity of Inuit sled dogs in Greenland. *Journal of Experimental Biology* 212: 1131-1139.
- Gerth N, Redman P, Speakman JR, Jackson S, Starck MJ. 2009b. Energy metabolism of Inuit sled dogs. *J Comp Physiol B* 180: 577-589.
- Gibala MJ, Little JP, van Essen M, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, Raha S, Tarnopolsky MA. 2006. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *The Journal of Physiology* 575: 901-911.
- Gilbert CA, Nutter DO, Felner JM, Perkins JV, Heymsfield SB, Schlant RC. 1977. Echocardiographic study of cardiac dimensions and function in the endurance-trained athlete. *The American Journal of Cardiology* 40: 528-533.

- Gleeson M, Brown JF, Waring JJ, Stock MJ. 1982. The effects of physical exercise on metabolic rate and dietary-induced thermogenesis. *British Journal of Nutrition* 47: 173-181.
- Gollnick PD, Armstrong RB, Saltin B, Saubert CW, Sembrowich WL, Shepherd RE. 1973. Effect of training on enzyme activity and fiber composition of human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 34: 107-111.
- Gomez-Cabrera M-C, Domenech E, Viña J. 2008. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology and Medicine* 44: 126-131.
- Gotshalk LA, Volek JS, Staron RS, Denegar CR, Hagerman FC, Kraemer WJ. 2002. Creatine supplementation improves muscular performance in older men. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 34: 537-543.
- Green JA. 2001. Heart rate and rate of oxygen consumption of exercising macaroni penguins. *Journal of Experimental Biology* 204: 673 – 684.
- Green JA, Butler PJ, Woakes AJ, Boyd IL. 2002. Energy requirements of female Macaroni Penguins breeding at South Georgia. *Functional Ecology* 16: 671-681.
- Green JA, Woakes AJ, Boyd IL, Butler P. 2005. Cardiovascular adjustments during locomotion in penguins. *Canadian Journal of Zoology* 83: 445-454.
- Green JA, Frappell PB, Clark TD, Butler PJ. 2006. Predicting rate of oxygen consumption from heart rate while little penguins work, rest and play. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*: 9-17.
- Green JA, Frappell PB, Clark TD, Butler PJ. 2008. Predicting rate of oxygen consumption from heart rate while little penguins work, rest and play. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 150: 222-230.
- Green JA, Halsey LG, Wilson RP, Frappell PB. 2009. Estimating energy expenditure of animals using the accelerometry technique: activity, inactivity and comparison with the heart-rate technique. *J Exp Biol* 212: 471-482.
- Greenhaff PL. 1997. The nutritional biochemistry of creatine. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 8: 610-618.
- Greenhaff PL. 2001. The creatine-phosphocreatine system: there's more than one song in its repertoire. *The Journal of Physiology* 537: 657.
- Greenhaff PL, Bodin K, Soderlund K, Hultman E. 1994. Effect of oral creatine supplementation on skeletal muscle phosphocreatine resynthesis. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 266: E725-E730.
- Greiner SP, Rouse GH, Wilson DE, Cundiff LV, Wheeler TL. 2003. The relationship between ultrasound measurements and carcass fat thickness and longissimus muscle area in beef cattle. *J. Anim Sci.* 81: 676-682.
- Grober J. 1908. Über die Beziehungen zwischen Körperarbeit und der Masse des Herzens und seiner Teile. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 59: 424-429.
- Gröger M. 2007. Einfluss einer Beatmung mit 100% Sauerstoff auf die Ausbildung von DNA-Strangbrüchen und die Parameter des oxidativen Stress im Langzeitmodell des septischen Schocks beim Schwein Universität Ulm, Ulm.
- Gunn HM. 1978. Differences in the histochemical properties of skeletal muscles of different breeds of horses and dogs. *Journal of Anatomy* 127: 615-634.
- Haggmark T, Eriksson E, Jansson E. 1986. Muscle fiber type changes in human skeletal muscle after injuries and immobilization. *Orthopedics* 9: 181-185.

- Halsey LG, Green JA, Wilson RP, Frappell PB. 2009a. Accelerometry to estimate energy expenditure during activity: best practice with data loggers. *Physiological and Biochemical Zoology* 82: 396-404.
- Halsey LG, Fahlman A, Handrich Y, Schmidt A, Woakes AJ, Butler PJ. 2007. How accurately can we estimate energetic costs in a marine top predator, the king penguin? *Zoology* 110(2): 81-92.
- Halsey LG, Shepard ELC, Quintana F, Gomez Laich A, Green JA, Wilson RP. 2009b. The relationship between oxygen consumption and body acceleration in a range of species. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 152: 197-202.
- Halsey LG, Shepard ELC, Hulston CJ, Venables MC, White CR, Jeukendrup AE, Wilson RP. 2008. Acceleration versus heart rate for estimating energy expenditure and speed during locomotion in animals: Tests with an easy model species, *Homo sapiens*. *Zoology* 111: 231-241.
- Hamilton MT & Booth FW. 2000. Skeletal muscle adaptations to exercise: a century of progress. *Journal of Applied Physiology* 88: 327-331.
- Hammond KA & Diamond J. 1997. Maximal sustained energy budgets in humans and animals. *Nature* 386: 457-462.
- Hanton G & Lodola A. 1998. Echocardiography, a non-invasive method for the investigation of heart morphology and function in laboratory dogs: 2. Effects of minoxidil and quinidine on the left ventricle function. *Lab Anim* 32: 183-190.
- Harmeyer J. 2005. Herz in Engelhardt W, Breves G, eds. *Physiologie der Haustiere*, vol. 2. Auflage Enke Verlag, Stuttgart.
- Harris RC & Lowe JA. 1995. Absorption of creatine from meat or other dietary sources by the dog. *Veterinary Record* 137: 595.
- Harris RC, Hultman E, Nordesjö L-O. 1974. Glycogen, Glycolytic Intermediates and High-Energy Phosphates Determined in Biopsy Samples of *Musculus Quadriceps Femoris* of Man at Rest. Methods and Variance of Values. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 33: 109-120.
- Harris RC, Söderlund K, Hultman E. 1992. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clin. Sci.* 83: 367-374.
- Hartmann A, Plappert U, Raddata K, Grünert-Fuchs M, Speit G. 1994. Does physical activity induce DNA damage? *Mutagenesis* 9: 269-272.
- Hartmann A, Pfuhler S, Dennog C, Germadnik D, Pilger A, Speit G. 1998. Exercise-Induced DNA Effects in Human Leukocytes Are Not Accompanied by Increased Formation of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine or Induction of Micronuclei. *Free Radical Biology and Medicine* 24: 245-251.
- Hassen A, Wilson DE, Willham RL, Rouse GH, Trenkle AH. 1998. Evaluation of ultrasound measurements of fat thickness and longissimus muscle area in feedlot cattle: Assessment of accuracy and repeatability. Ottawa, ON, CANADA: Agricultural Institute of Canada.
- Hawkins PA, Butler PJ, Woakes AJ, Speakman JR. 2000. Estimation of the rate of oxygen consumption of the common eider duck (*Somateria mollissima*), with some measurements of heart rate during voluntary dives. *J Exp Biol* 203: 2819-2832.
- Hawley JA. 2002. Adaptations Of Skeletal Muscle To Prolonged, Intense Endurance Training. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 29: 218-222.
- Heaton PR, Ransley R, Charlton CJ, Mann SJ, Stevenson J, Smith BHE, Rawlings JM, Harper EJ. 2002. Application of Single-Cell Gel Electrophoresis (Comet) Assay for Assessing Levels of DNA Damage in Canine and Feline Leukocytes. *the journal of nutrition* 132: 1598S-1603S.

- Henriksson J & Reitman JS. 1976. Quantitative Measures of Enzyme Activities in Type I and Type II Muscle Fibres of Man after Training. *Acta Physiologica Scandinavica* 97: 392-397.
- Henriksson J & Reitman JS. 1977. Time Course of Changes in Human Skeletal Muscle Succinate Dehydrogenase and Cytochrome Oxidase Activities and Maximal Oxygen Uptake with Physical Activity and Inactivity. *Acta Physiologica Scandinavica* 99: 91-97.
- Herring WO, Miller DC, Bertrand JK, Benyshek LL. 1994. Evaluation of machine, technician, and interpreter effects on ultrasonic measures of backfat and longissimus muscle area in beef cattle. *J. Anim Sci.* 72: 2216-2226.
- Heunks LMA, Viña J, van Herwaarden CLA, Folgering HTM, Gimeno A, Dekhuijzen PNR. 1999. Xanthine oxidase is involved in exercise-induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 277: R1697-R1704.
- Heymsfield S, Arteaga C, McManus C, Smith J, Moffitt S. 1983. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *The American Journal of Clinical Nutrition* 37: 478-494.
- Hickner R, Dyck D, Sklar J, Hatley H, Byrd P. 2010. Effect of 28 days of creatine ingestion on muscle metabolism and performance of a simulated cycling road race. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 7: 26.
- Hienz RD, Turkkan JS, Spear DJ, Sannerud CA, Kaminski BJ, Allens RP. 1992. General activity in baboons measured with a computerized, lightweight piezoelectric motion sensor: Effects of drugs. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 42: 497-507.
- Higuchi M, Cartier L-J, Chen M, Holloszy JO. 1985. Superoxide Dismutase and Catalase in Skeletal Muscle: Adaptive Response to Exercise. *Journal of Gerontology* 40: 281-286.
- Hill JO, Davis JR, Tagliaferro AR, Stewart J. 1984. Dietary obesity and exercise in young rats. *Physiology & Behavior* 33: 321-328.
- Hill RC. 1998. The nutritional requirements of exercising dogs. *Journal of Nutrition* 128: 2686S-2690S.
- Hill RC, Lewis DD, Scott KC, Randell SC, Sundstrom DB, Speakman JE, Butterwick RF. 1999. Mild food restriction increases the speed of racing Greyhounds. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 13: 281.
- Hill RC, Bloomberg MS, Legrand-Defretin V, Burger IH, Hillock SM, Sundstrom DA, Jones GL. 2000. Maintenance energy requirements and the effect of diet on performance of racing Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* 61: 1566-1573.
- Hill RC, Lewis DD, Scott KC, Omori M, Jackson M, Sundstrom DA, Jones GL, Speakman JR, Doyle CA, Butterwick RF. 2001. Effect of increased dietary protein and decreased dietary carbohydrate on performance and body composition in racing Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* 62: 440-447.
- Hinchcliff KW, Reinhart GA, Burr JR, Schreier CJ, Swenson RA. 1997. Metabolizable energy intake and sustained energy expenditure of Alaskan sled dogs during heavy exertion in the cold. *American Journal of Veterinary Research* 58: 1457-1462.
- Hoeijmakers JHJ. 2001. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 411: 366-374.
- Holter JB, Urban WE, Hayes HH, Silver H. 1976. Predicting metabolic rate from telemetered heart rate in white-tailed deer. *J Wild Manage* 40: 626-629.
- Hoppeler H & Kayar SR. 1988. Capillarity and Oxidative Capacity of Muscles. *News Physiol Sci* 3: 113-116.

- Hoppeler H & Flück M. 2002. Normal mammalian skeletal muscle and its phenotypic plasticity. *J Exp Biol* 205: 2143-2152.
- Horn F, Lindenmeier G, Moc I, Grillhösl C, Berghold S, Schneider N, Münster B. 2005. *Biochemie des Menschen: das Lehrbuch für das Medizinstudium*. Stuttgart: Thieme.
- Howard AN. 1997. Improvements in or relating to compositions containing creatine in The Howard Foundation, ed. Great Britain.
- Hruszkewycz AM & Bergtold DS. 1988. Oxygen, radicals, lipid peroxidation and DNA damage in mitochondria. Pages 449-457 in Simic MG, Taylor KA, Ward JF, von Sonntag C, eds. *Oxygen radicals in biology and medicine*. New York: Plenum Press.
- Huso ME, Hampl JS, Johnston CS, Swan PD. 2002. Creatine supplementation influences substrate utilization at rest. *Journal of Applied Physiology* 93: 2018-2022.
- Ichikawa M, Fujita Y, Ebisawa H, Ozeki T. 2000. Effects of long-term, light exercise under restricted feeding on age-related changes in physiological and metabolic variables in male Wistar rats. *Mechanisms of Ageing and Development* 113: 23-35.
- Ingjer F. 1979. Effects of endurance training on muscle fibre ATP-ase activity, capillary supply and mitochondrial content in man. *Journal of Physiology* 294: 419-432.
- Ingwall JS. 1975. Creatine and the control of muscle-specific protein synthesis in cardiac and skeletal muscle. *Circ Res* 38 1115-1125.
- Izquierdo M, Ibanez J, Gonzalez-Badillo JJ, Gorostiaga EM. 2002. Effects of creatine supplementation on muscle power, endurance, and sprint performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 34: 332-343.
- Jacobus WE & Lehninger AL. 1973. Creatine Kinase of Rat Heart Mitochondria. *Journal of Biological Chemistry* 248: 4803-4810.
- Janssen Y, van Houten B, Borm P, Mossman B. 1993. Biology of disease. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Laboratory Investigation* 69: 261-274.
- Jenkins RR. 1988. Free Radical Chemistry: Relationship to Exercise. *Sports Medicine* 5: 156-170.
- Jenkins RR & Halliwell B. 1994. Metal-binding agents: possible role in exercise. Pages 59-76 in Sen CK, Packer L, Hanninen O, eds. *Exercise and Oxygen Toxicity*. Amsterdam: Elsevier.
- Ji LL. 1999. Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 222: 283-292.
- Ji LL. 2002. Exercise-induced Modulation of Antioxidant Defense. *Annals of the New York Academy of Sciences* 959: 82-92.
- Ji LL, Gomez-Cabrera M-C, Vina J. 2006. Exercise and Hormesis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1067: 425-435.
- Jones D, Round J, de Haan A. 2008. *Skeletal muscle from molecules to movement. A textbook of muscle physiology for sport, exercise, physiotherapy and medicine*: Churchill Livingstone.
- Jones DP. 2006. Redefining Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling* 8: 1865-1879.
- Kalra D. 2004. Homocysteine and cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports* 6: 101-106.
- Kayar S, Hoppeler H, Lindstedt S, Claassen H, Jones J, Essen-Gustavsson B, Taylor C. 1989. Total muscle mitochondrial volume in relation to aerobic capacity of horses and steers. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 413: 343-347.

- Kelly VG & Jenkins DG. 1998. Effect of Oral Creatine Supplementation on Near-Maximal Strength and Repeated Sets of High-Intensity Bench Press Exercise. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 12: 109-115.
- Keul J, Dickhuth H-H, Simon G, Lehmann M. 1981. Effect of static and dynamic exercise on heart volume, contractility and left ventricular dimensions. *Circ Res* 48: 1162-170.
- Keul J, Dickhuth HH, Lehmann M, Staiger J. 1982. The Athlete's Heart - Haemodynamics and Structure. *Int J Sports Med* 03: S33,S43.
- Kienzle E & Rainbird A. 1991. Maintenance energy requirement of dogs: What is the correct value for the calculation of metabolic body weight in dogs? *Journal of Nutrition* 121: 39-40.
- Kindermann W, Dickhuth HH, Röcker K, Nieß A, Urhausen A, Kindermann W. 2007. Physiologische Anpassungen des Herz-Kreislauf-Systems an körperliche Belastung. Pages 1-20. *Sportkardiologie, Steinkopff*.
- Kirksey B, Stone MH, Warren BJ, Johnson RL, Stone M, Haff GG, Williams FE, Proulx C. 1999. The Effects of 6 Weeks of Creatine Monohydrate Supplementation on Performance Measures and Body Composition in Collegiate Track and Field Athletes. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 13: 148-156.
- Klausen K, Andersen LB, Pelle I. 1981. Adaptive changes in work capacity, skeletal muscle capillarization and enzyme levels during training and detraining. *Acta Physiologica Scandinavica* 113: 9-16.
- Kleiber M. 1961. *The Fire of Life*. New York: John Wiley & Sons.
- Kleiber M. 1975. *The fire of life: an introduction to animal energetics* Malabar, Florida: Krieger, R.E. Publishing Company.
- Klinke RS, S. 2003. *Lehrbuch der Physiologie*: Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Knasmüller S, Majer BJ, Buchmann C. 2004. Identifying antimutagenic constituents of food. Pages 581-605 in Remacle C, Reusens B, eds. *Functional foods, ageing and degenerative disease*. Boca Raton; Cambridge: CRC Press ; Woodhead Publishing.
- Komoto J, Takata Y, Konishi K, Ogawa H, Gomi T, Fujioka M, Takusagawa F. 2003. Monoclinic guanidinoacetata methyltransferase and gadolinium ion binding characteristics. *Acta Crystallographica, Biological Crystallography* D59: 1589-1596.
- Korhonen H, Harri M, Hohtola E. 1985. Response to cold in the blue fox and raccoon dog as evaluated by metabolism, heart rate and muscular shivering: a re-evaluation. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 82A: 959-964.
- Kraemer W & Volek J. 1999. Creatine supplementation. Its role in human performance. *Clinics in Sports Medicine* 18: 651 - 666.
- Kreider RB. 2003. Effects of creatine supplementation on performance and training adaptations. *Molecular and Cellular Biochemistry* 244: 89-94.
- Kreider RB, Ferreira M, Wilson M, Grindstaff P, Plisk S, Reinardy J, Cantler E, Almada AL. 1998. Effects of creatine supplementation on body composition, strength, and sprint performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 30: 73-82.
- Kronfeld D, Hammel E, Ramberg C, Dunlap H. 1977. Hematological and metabolic responses to training in racing sled dogs fed diets containing medium, low, or zero carbohydrate. *The American Journal of Clinical Nutrition* 30: 419-430.
- Külbs F. 1912. Ueber den Einfluß der Bewegung auf den wachsenden und erwachsenen Organismus. *Deutsch Med. Wochenschr.* 38: 1916-1920.
- Külbs F. 1929. Neuere Untersuchungen über Herz und Arbeit. *Zeitschr. gesamt. Exper. Med.* 67: 822-827.

- Kupriyanov VV, Seppet EK, Emelin IV, Saks VA. 1980. Phosphocreatine production coupled to the glycolytic reactions in the cytosol of cardiac cells *Biochimica et Biophysica Acta* 592: 197-210.
- Lang RM, et al. 2005. Recommendations for Chamber Quantification: A Report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, Developed in Conjunction with the European Association of Echocardiography, a Branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 18: 1440-1463.
- Larsson C, Junghans P, Tauson A-H. 2010. The ¹³C-bicarbonate tracer (¹³C-BT) technique for estimation of CO₂ production and energy expenditure in dogs during rest and physical activity.
- Leeuwenburgh C & Heinecke JW. 2001. Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Current Medicinal Chemistry* 8: 829-838.
- Lenz H, Schmidt M, Welge V, Schlattner U, Wallimann T, Elsasser H-P, Wittern K-P, Wenck H, Stab F, Blatt T. 2005. The Creatine Kinase System in Human Skin: Protective Effects of Creatine Against Oxidative and UV Damage In Vitro and In Vivo. *J Investig Dermatol* 124: 443-452.
- Levine H. 1997. Rest heart rate and life expectancy. *J Am Coll Cardiol* 30: 1104-1106.
- Lifson N, Gordon GB, McClintock R. 1955. Measurement of Total Carbon Dioxide Production by Means of D₂¹⁸O. *Journal of Applied Physiology* 7: 704-710.
- Lifson N, Little WS, Levitt DG, Henderson RM. 1975. D₂¹⁸O (deuterium oxide) method for CO₂ output in small mammals and economic feasibility in man. *Journal of Applied Physiology* 39: 657-664.
- Liu B, Chen Y, St. Clair DK. 2008. ROS and p53: A versatile partnership. *Free Radical Biology and Medicine* 44: 1529-1535.
- Loft S & Poulsen HE. 1996. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *Journal of Molecular Medicine* 74: 297-312.
- Lowe JA, Murphy M, Nash V. 1998. Changes in Plasma and Muscle Creatine Concentration after Increases in Supplementary Dietary Creatine in Dogs. *the journal of nutrition* 128: 2691S-2693S.
- Lucas MC. 1994. Heart rate as an indicator of metabolic rate and activity in adult Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology* 44: 889-903.
- Lusk G. 1917. *The elements of the science of nutrition*. Philadelphia and London: W. B. Saunders company.
- Mackintosh IC, Dormehl IC, van Gelder AL, du Plessis M. 1983. Blood volume, heart rate, and left ventricular ejection fraction changes in dogs before and after exercise during endurance training. *Am J Vet Res* 44:: 1960-1962.
- Maguire JJ, Davies KJA, Dallman PR, Packer L. 1982. Effects of dietary iron deficiency on iron-sulfur proteins and bioenergetic functions of skeletal muscle mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 679: 210-220.
- Männer K. 1991. Energy requirements for maintenance of adult dogs. *Journal of Nutrition* 121: 37-38.
- Marin E, Kretzschmar M, Arokoski J, Hänninen O, Klinger W. 1993. Enzymes of glutathione synthesis in dog skeletal muscles and their response to training. *Acta Physiologica Scandinavica* 147: 369-373.
- Marnett LJ. 2000. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 21: 361-370.
- Maron BJ. 1986. Structural features of the athlete heart as defined by echocardiography. *Journal of the American College of Cardiology* 7: 190-203.

- Mars M, Govender S, Weston A, Naicker V, Chaturgoon A. 1998. High Intensity Exercise: A Cause of Lymphocyte Apoptosis? *Biochemical and Biophysical Research Communications* 249: 366-370.
- Mattson MP. 2008. Hormesis defined. *Ageing Research Reviews* 7: 1-7.
- McCarron, Buffenstein, Fanning, Dawson. 2001. Free-ranging heart rate, body temperature and energy metabolism in eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*) and red kangaroos (*Macropus rufus*) in the arid regions of South East Australia. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 171: 401-411.
- McCue MD. 2006. Specific dynamic action: A century of investigation. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 144: 381-394.
- McNamara JM & Houston AI. 1996. State-dependent life histories. *Nature* 380: 215.
- McPhee JMR, D.A.S.; Andrews, R.D.; Trites, A.W. 2003. Predicting metabolic rate from heart rate in juvenile Steller sea lions *Eumetopias jubatus*. *Journal of Experimental Biology* 206: 1941-1951.
- Meijer G, Janssen G, Westerterp K, Verhoeven F, Saris W, ten Hoor F. 1991. The effect of a 5-month endurance-training programme on physical activity: evidence for a sex-difference in the metabolic response to exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 62: 11-17.
- Melanson EL & Freedson PS. 1996. Physical activity assessment: A review of methods. Philadelphia, PA, ETATS-UNIS: Taylor & Francis.
- Mitchell JH, Sproule BJ, Chapman CB. 1958. The physiological meaning of the maximal oxygen intake test. *The Journal of Clinical Investigation* 37: 538-547.
- Miyamae Y, Iwasaki K, Kinae N, Tsuda S, Murakami M, Tanaka M, Sasaki YF. 1997. Detection of DNA lesions induced by chemical mutagens using the single-cell gel electrophoresis (Comet) assay: 2. Relationship between DNA migration and alkaline condition. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 393: 107-113.
- Miyazaki H, Yoshida M, Samura K, Matsumoto H, Ikemoto F, Tagawa M. 2002. Ranges of diurnal variation and the pattern of body temperature, blood pressure and heart rate in laboratory beagle dogs. *Experimental Animals* 51: 95-98.
- Moller P, Loft S, Lundby C, Olsen NV. 2001. Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage in humans. *The FASEB Journal* 15: 1181-1186.
- Mujika I, Padilla S, Ibanez J, Izquierdo M, Gorostiaga E. 2000. Creatine supplementation and sprint performance in soccer players. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 32: 518.
- Mullen RK. 1970. Respiratory metabolism and body water turnover rates of *Perognathus formosus* in its natural environment. *Comparative Biochemistry and Physiology* 32: 259-265.
- Müller R & Schrader L. 2003. A new method to measure behavioural activity levels in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science* 83: 247-258.
- Murphy AJ, Watsford ML, Coutts AJ, Richards DAB. 2005. Effects of creatine supplementation on aerobic power and cardiovascular structure and function. *Journal of Science and Medicine in Sport* 8: 305-313.
- Musch TI, Haidet GC, Ordway GA, Longhurst JC, Mitchell JH. 1985. Dynamic exercise training in foxhounds. I. Oxygen consumption and hemodynamic responses. *Journal of Applied Physiology* 59: 183-189.

- Nagy KA. 1972. Water and electrolyte budgets of a free-living desert lizard, *Sauromalus obesus*. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 79: 39-62.
- National Research Council NRC. 2006. Nutrient requirements of dogs and cats: National Academies Press.
- Navarro A, Gomez C, López-Cepero JM, Boveris A. 2004. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 286: R505-R511.
- Nelson AG, Day R, Glickman-Weiss EL, Hegsted M, Kokkonen J, Sampson B. 2000. Creatine supplementation alters the response to a graded cycle ergometer test. *European Journal of Applied Physiology* 83: 89-94.
- Niess AM, Hartmann A, Grünert-Fuchs M, Poch B, Speit G. 1996. DNA Damage After Exhaustive Treadmill Running in Trained and Untrained Men. *Int J Sports Med* 17: 397,403.
- Niess AM, Baumann M, Roecker K, Horstmann T, Mayer F, Dickhuth H-H. 1998. Effects of intensive endurance exercise on DNA damage in leucocytes. Torino, ITALIE: Minerva medica.
- Nilssen KJ, Johnsen HK, Rognmo A, Blix AS. 1984. Heart rate and energy expenditure in resting and running Svalbard and Norwegian reindeer. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 246: R963-R967.
- Nolet BA, Butler PJ, Masman D, Woakes AJ. 1992. Estimation of Daily Energy Expenditure from Heart Rate and Doubly Labeled Water in Exercising Geese. *Physiological Zoology* 65: 1188-1216.
- O'Grady MR, Bonagura JD, Powers JD, Herring DS. 1986. Quantitative cross-sectional echocardiography in the normal dog *Veterinary Radiology* 27: 34-49.
- Okamura K, Doi T, Sakurai M, Hamada K, Yoshioka Y, Sumida S, Sugawa-Katayama Y. 1997. Effect of Endurance Exercise on the Tissue 8-Hydroxy-deoxyguanosine Content in Dogs. *Free Radical Research* 26: 523-528.
- Ordway GA, Floyd DL, Longhurst JC, Mitchell JH. 1984. Oxygen consumption and hemodynamic responses during graded treadmill exercise in the dog. *Journal of Applied Physiology* 57: 601-607.
- Orr NWM. 1966. The feeding of sledge dogs on Antarctic expeditions. *British Journal of Nutrition* 20: 1-12.
- Owen RB. 1969. Heart rate, a measure of metabolism in blue-winged teal. *Comparative Biochemistry and Physiology* 31: 431-436.
- Packer L. 1997. Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *Journal of Sports Sciences* 15: 353-363.
- Packer L, Cadenas E, Davies KJA. 2008. Free radicals and exercise: An introduction. *Free Radical Biology and Medicine* 44: 123-125.
- Palazzetti S, Richard M-J, Favier A, Margaritis I. 2003. Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. Champaign, IL, USA: Human Kinetics Publishers.
- Palazzetti S, Rousseau A-S, Richard M-J, Favier A, Margaritis I. 2004. Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. Cambridge: Cambridge University Press.
- Palestrini C, Previde E, Spiezio C, Verga M. 2005. Heart rate and behavioural responses of dogs in the Ainsworth's Strange Situation: A pilot study. *Applied Animal Behaviour Science* 94: 75-88.

- Pape LA, Price JM, Alpert JS, Rippe JM. 1986. Hemodynamics and left ventricular function: a comparison between adult racing greyhounds and greyhounds completely untrained from birth. *Basic Research in Cardiology* 81: 417-424.
- Patil AR & Bisby TM. 2001. Comparison of maintenance energy requirement of client-owned dogs and kennel dogs. St. Louis, Mo: Purina Nutrition Forum.
- Pauls RW. 1980. Heart rate as an index of energy expenditure in red squirrels (*Lamiasciurus hudsonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 67: 409-418.
- Peeters BM, Lantz CD, Mayhew JL. 1999. Effect of Oral Creatine Monohydrate and Creatine Phosphate Supplementation on Maximal Strength Indices, Body Composition, and Blood Pressure. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 13: 3-9.
- Perrault H & Turcotte RA. 1994. Exercise-Induced Cardiac Hypertrophy: Fact or Fallacy? *Sports Medicine* 17: 288-308.
- Peters E, Van Eden M, Tyler N, Ramautar A, Chuturgoon A. 2006. Prolonged exercise does not cause lymphocyte DNA damage or increased apoptosis in well-trained endurance athletes. *European Journal of Applied Physiology* 98: 124-131.
- Peterson RD, Beatty CH, Bocek RM, Dixon HH, West ES. 1955. The effect of glycoylamine on the high-energy phosphate fractions in rat muscle. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 54: 349-354.
- Pette D. 2001. Plasticity in Skeletal, Cardiac, and Smooth Muscle: Historical Perspectives: Plasticity of mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* 90: 1119-1124.
- Pette D. 2002. The adaptive potential of skeletal muscle fibers. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 27: 423-448.
- Pette D & Staron RS. 2000. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microscopy Research and Technique* 50: 500-509.
- Pinto ML & Shetty PS. 1995. Exercise induced changes in the energy expenditure of female Wistar rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 33: 105-108.
- Pluim BM, Zwinderman AH, van der Laarse A, van der Wall EE. 2000. The Athlete's Heart: A Meta-Analysis of Cardiac Structure and Function. *Circulation* 101: 336-344.
- Poulsen Natrup C & Tobias R. 1998. Atlas und Lehrbuch der Ultraschall Diagnostik bei Hund und Katze. Hannover: Schlütersche Verlag.
- Proscurshim P, Russo AK, Silva AC, Piçarro IC, Freire E, Tarasantchi J. 1989. Aerobic training effects on maximum oxygen consumption, lactate threshold and lactate disappearance during exercise recovery of dogs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 94: 743-747.
- Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, Cardozo-Pelaez F, Goto S. 2002. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 445: 273-278.
- Rainbird A & Kienzle E. 1990. Studies on the energy requirement of dogs depending on breed and age. *Kleintierpraxis* 35: 149-158.
- Reardon T, Ruell P, Fiatarone Singh M, Thompson C, Rooney K. 2006. Creatine supplementation does not enhance submaximal aerobic training adaptations in healthy young men and women. *European Journal of Applied Physiology* 98: 234-241.
- Refsum H, Ueland PM, Nygård O, Vollset SE. 1998. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annual Review of Medicine* 49: 31-62.

- Reichhold S, Neubauer O, Bulmer AC, Knasmüller S, Wagner K-H. 2009. Endurance exercise and DNA stability: Is there a link to duration and intensity? *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682: 28-38.
- Reichmann H, Hoppeler H, Mathieu-Costello O, von Bergen F, Pette D. 1985. Biochemical and ultrastructural changes of skeletal muscle mitochondria after chronic electrical stimulation in rabbits. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 404: 1-9.
- Reynolds ND. 1998. An investigation into the effect of dietary creatine on treadmill performance of beagles University of Nottingham, Leicestershire.
- Rico-Sanz J & Marco MTM. 2000. Creatine enhances oxygen uptake and performance during alternating intensity exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 32: 379.
- Riedhammer HH, Rafflenbeul W, Weihe WH, Krayenbühl HP. 1976. Left ventricular contractile function in trained dogs with cardiac hypertrophy. *Basic Research in Cardiology* 71: 297-308.
- Ritzer TF, Bove AA, Carey RA. 1980a. Left ventricular performance characteristics in trained and sedentary dogs. *Journal of Applied Physiology* 48: 130-138.
- Ritzer TF, Bove AA, Carey RA. 1980b. Left ventricular performance characteristics in trained and sedentary dogs. *J Appl Physiol* 48: 130-138.
- Rowell LB. 1974. Human cardiovascular adjustments to exercise and thermal stress. *Physiological Reviews* 54: 75-159.
- Rubner M. 1883. Ueber den Einfluss der Koerpergroesse auf Stoff- und Kraftwechsel. *Z. Biol.* 19: 535-562.
- Rubner M. 1902. Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung. Leipzig und Wien: F. Deuticke.
- Sachdev S & Davies KJA. 2008. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology and Medicine* 44: 215-223.
- Sahlin K, Ekberg K, Cizinsky S. 1991. Changes in plasma hypoxanthine and free radical markers during exercise in man. *Acta Physiologica Scandinavica* 142: 275-281.
- Salo DC, Donovan CM, Davies KJA. 1991. HSP70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart, and liver during exercise. *Free Radical Biology and Medicine* 11: 239-246.
- Saltin B, Nazar K, Costill DL, Stein E, Jansson E, Essen B, Gollnick D. 1976. The nature of the training response; peripheral and central adaptations of one-legged exercise. *Acta Physiologica Scandinavica* 96: 289-305.
- Sanders M, White F, Bloor C. 1977. Cardiovascular responses of dogs and pigs exposed to similar physiological stress. *Comp. Biochem. Physical.* 58: 365-370.
- Schantz P. 1986. Plasticity of human skeletal muscle: with special reference to effects of physical training on enzyme levels of the NADH shuttles and phenotypic expression of slow and fast myofibrillar proteins. *Acta Physiologica Scandinavica* 128: 1-62.
- Scheuer J & Tipton CM. 1977. Cardiovascular Adaptations to Physical Training. *Annual Review of Physiology* 39: 221-251.
- Schmidt-Nielsen K. 1997. *Animal physiology. adaptation and environment.* Cambridge: Cambridge University Press.
- Schoeller DA & van Santen E. 1982. Measurement of energy expenditure in humans by doubly labeled water method. *Journal of Applied Physiology* 53: 955-959.
- Schulz L & Schoeller D. 1994. A compilation of total daily energy expenditures and body weights in healthy adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 60: 676-681.

- Secor S. 2009. Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 179: 1-56.
- Sen CK. 1995. Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology* 79: 675-686.
- Sen CK, Packer L, Hanninen O. 1994. Exercise and Oxygen Toxicity.
- Sestili P, Martinelli C, Bravi G, Piccoli G, Curci R, Battistelli M, Falcieri E, Agostini D, Gioacchini AM, Stocchi V. 2006. Creatine supplementation affords cytoprotection in oxidatively injured cultured mammalian cells via direct antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine* 40: 837-849.
- Sharp TA, Reed GW, Sun M, Abumrad NN, Hill JO. 1992. Relationship between aerobic fitness level and daily energy expenditure in weight-stable humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 263: E121-128.
- Shvartz E & Reibold RC. 1990. Aerobic fitness norms for males and females aged 6 to 75 years: a review. *Aviation, Space and Environmental Medicine* 61: 3-11.
- Sies H. 1985. Oxidative stress: introductory remarks. Pages 1-8. *Oxidative stress*. London: Academic Press.
- Sipilä I, Rapola J, Simell O, Vannas A. 1981. Supplementary Creatine as a Treatment for Gyrate Atrophy of the Choroid and Retina. *New England Journal of Medicine* 304: 867-870.
- Sneddon JC, Minnaar PP, Grosskopf JFW, Groeneveld HT. 1989. Physiological and blood biochemical responses to submaximal treadmill exercise in canaan dogs before, during and after training. *Journal of the South African Veterinary Association* 60: 87-91.
- Snow DH. 1987. Metabolic responses in racing greyhounds. Pages 86-93 in Clifford RJ, ed. *The racing Greyhound.*, vol. Volume 4. London: World Greyhound Racing Federation.
- Snyder PS, Sato T, Atkins CE. 1995. A comparison of echocardiographic indices of the nonracing, healthy greyhound to reference values from other breeds. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 36: 387-392.
- Soderlund K & Hultman E. 1986. Effects of delayed freezing on content of phosphagens in human skeletal muscle biopsy samples. *Journal of Applied Physiology* 61: 832-835.
- Speakman J. 1998. The history and theory of the doubly labeled water technique. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68: 932S-938S.
- Speakman JR & Selman C. 2003. Physical activity and resting metabolic rate. *Proceedings of the Nutrition Society* 62: 621-634.
- Speakman JR, Perez-Camargo G, McCappin T, Frankel T, Thomson P, -Defretin L. 2001. Validation of the doubly-labelled water technique in the domestic dog (*Canis familiaris*). *British Journal of Nutrition* 85: 75-87.
- Speit G & Hartmann A. 1999. The Comet Assay (Single-Cell Gel Test). Pages 203-212 in Henderson DS, ed. *DNA Repair Protocols*, vol. 113 Humana Press.
- Spörri H. 1987. *Lehrbuch der Veterinärphysiologie*. Hamburg: Paul Paray Verlag Berlin.
- SPSS Inc. 1999. *SPSS Base 10.0 applications guide*: SPSS Inc.
- Stahl WR. 1967. Scaling of respiratory variables in mammals. *Journal of Applied Physiology* 22: 453-460.
- Stead LM, Au KP, Jacobs RL, Brosnan ME, Brosnan JT. 2001. Methylation demand and homocysteine metabolism: effects of dietary provision of creatine and

- guanidinoacetate. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 281: E1095-E1100.
- Stein PK, Ehsani AA, Domitrovich PP, Kleiger RE, Rottman JN. 1999. Effect of exercise training on heart rate variability in healthy older adults. *American Heart Journal* 138: 567-576.
- Steinhaus AH, Hoyt LA, Rice HA. 1932. Studies in the physiology of exercise. X. The effects of running and swimming on the organ weights of growing dogs. *Am J Physiol* 99: 512-520.
- Stepien RL, Hinchcliff KW, Constable PD, Olson J. 1998. Effect of endurance training on cardiac morphology in Alaskan sled dogs. *Journal of Applied Physiology* 85: 1368-1375.
- Stichnoth J. 2002. Stresserscheinungen beim praxisähnlichen Einsatz von elektrischen Erziehungshalsbändern beim Hund. Dissertation. Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.
- Stone HL. 1977. Cardiac function and exercise training in conscious dogs. *Journal of Applied Physiology* 42: 824-832.
- Stroud MA, Holliman D, Bell D, Green AL, Macdonald IA, Greenhaff PL. 1994. Effect of oral creatine supplementation on respiratory gas exchange and blood lactate accumulation during steady-state incremental treadmill exercise and recovery in man. *Clin. Sci.* 87: 707-710.
- Taylor C, Schmidt-Nielsen K, Raab J. 1970. Scaling of energetic cost of running to body size in mammals. *American Journal of Physiology* 219: 1104-1107.
- Taylor CR & Heglund NC. 1982. Energetics and Mechanics of Terrestrial Locomotion. *Annual Review of Physiology* 44: 97-107.
- Taylor EJ, Adams C, Neville R. 1995. Some nutritional aspects of ageing in dogs and cats. *Proceedings of the Nutrition Society* 54: 645-656.
- Thomason DB, Herrick RE, Surdyka D, Baldwin KM. 1987. Time course of soleus muscle myosin expression during hindlimb suspension and recovery. *Journal of Applied Physiology* 63: 130-137.
- Thörner W. 1930. Trainingsversuche an Hunden. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 3: 1-26.
- Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu J-C, Sasaki YF. 2000. Single cell gel/comet assay : Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. Hoboken, NJ, ETATS-UNIS: Wiley-Liss.
- Tipton CM, Carey RA, Eastin WC, Erickson HH. 1974. A submaximal test for dogs: evaluation of effects of training, detraining, and cage confinement. *Journal of Applied Physiology* 37: 271-275.
- Torre PD, Kirby AC, Church DB, Malik R. 2000. Echocardiographic measurements in Greyhounds, Whippets and Italian Greyhounds - dogs with a similar conformation but different size. *Australian Veterinary Journal* 78: 49-55.
- Tremblay A, Coveney S, Després JP, Nadeau A, Prud'homme D. 1992. Increased resting metabolic rate and lipid oxidation in exercise-trained individuals: evidence for a role of beta-adrenergic stimulation. *Can J Physiol Pharmacol.* 70: 1342-1347.
- Treuth MSA, A.L.; Butte, N.F. 1998. Energy expenditure in children predicted from heart rate and activity calibrated against respiration calorimetry. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 275: 12-18.
- Tsubakihara Y, Suzuki A, Hayashi T, Shoji T, Togawa M, Okada N. 1999. The effect of guanidinoacetic acid supplementation in patients with chronic renal failure. Pages

- 139-144 in Mori A, Ishida M, Clark JF, eds. Guanidino Compounds in Biology and Medicine, vol. 5 Blackwell Science Asia.
- van Loon LJC, Oosterlaar AM, Hartgens F, Hesselink MKC, Snow RJ, Wagenmakers AJM. 2003. Effects of creatine loading and prolonged creatine supplementation on body composition, fuel selection, sprint and endurance performance in humans. *Clin. Sci.* 104: 153-162.
- Vandebuerie F, Eynde BV, Vandenberghe K, Hespel P. 1998. Effect of Creatine Loading on Endurance Capacity and Sprint Power in Cyclists. *Int J Sports Med* 19: 490,495.
- Vandenberghe K, Gillis N, Van Leemputte M, Van Hecke P, Vanstapel F, Hespel P. 1996. Caffeine counteracts the ergogenic action of muscle creatine loading. *J Appl Physiol* 80: 452 - 457.
- Vandenberghe K, Goris M, Van Hecke P, Van Leemputte M, Vangerven L, Hespel P. 1997. Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance during resistance training. *Journal of Applied Physiology* 83: 2055-2063.
- Viguie CA, Frei B, Shigenaga MK, Ames BN, Packer L, Brooks GA. 1993. Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *Journal of Applied Physiology* 75: 566-572.
- Viña J, Gomez-Cabrera M-C, Lloret A, Marquez R, Miñana JB, Pallardó FV, Sastre J. 2000a. Free Radicals in Exhaustive Physical Exercise: Mechanism of Production, and Protection by Antioxidants. *IUBMB Life* 50: 271-277.
- Viña J, Gimeno A, Sastre J, Desco C, Asensi M, Pallardó FV, Cuesta A, Ferrero JA, Terada LS, Repine JE. 2000b. Mechanism of Free Radical Production in Exhaustive Exercise in Humans and Rats; Role of Xanthine Oxidase and Protection by Allopurinol. *IUBMB Life* 49: 539-544.
- Vincent IC, Michell AR, Leahy RA. 1993. Non-invasive measurement of arterial blood pressure in dogs: a potential indicator for the identification of stress. *Research in Veterinary Science* 54: 195-201.
- Volek JS, Duncan ND, Mazzetti SA, Staron RS, Putukian M, Gómez AL, Pearson DR, Fink WJ, Kraemer WJ. 1999. Performance and muscle fiber adaptations to creatine supplementation and heavy resistance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 31: 1147-1156.
- von Sonntag C. 1989. The chemical basis of radiation biology. London; Philadelphia, PA: Taylor & Francis.
- Wald DS, Law M, Morris JK. 2002. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 325: 1202.
- Walker JB. 1979. Creatine: Biosynthesis, regulation, and function. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* 50: 177-241.
- Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. 1992. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine-circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochemical Journal* 281: 21-40.
- Wallimann T, Walzthöny D, Wegmann G, Moser H, Eppenberger HM, Barrantes FJ. 1985. Subcellular Localization of Creatine Kinase in Torpedo Electrocytes: Association with Acetylcholine Receptor-Rich Membranes. *The Journal of Cell Biology* 100: 1063-1072.
- Walters LM, Ogilvie GK, Salman MD, Joy L, Fettman MJ, Hand MS, Wheeler SL. 1993. Repeatability of energy expenditure measurements in clinically normal dogs by use of indirect calorimetry. *Am J Vet Res* 54: 1881-1885.

- Walton RS, Wingfield WE, Ogilvie GK, Matteson VL. 1996. Energy Expenditure in 104 Postoperative and Traumatically Injured Dogs with Indirect Calorimetry. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 6: 71-79.
- Ward SB, C.M.; Woakes, A.J.; Butler, P.J. 2002. Heart rate and the rate of oxygen consumption of flying and walking barnacle geese (*Branta leucopsis*) and bar-headed geese (*Anser indicus*). *Journal of Experimental Biology* 205: 3347-3356.
- Weibel ER, Richard Taylor C, Hoppeler H. 1992. Variations in function and design: Testing symmorphosis in the respiratory system. *Respiration Physiology* 87: 325-348.
- Weimerskirch H, Shaffer SA, Mabile G, Martin J, Boutard O, Rouanet JL. 2002. Heart rate and energy expenditure of incubating wandering albatrosses: basal levels, natural variation, and the effects of human disturbance. *J Exp Biol* 205: 475-483.
- Westerterp K. 2009. Assessment of physical activity: a critical appraisal. *European Journal of Applied Physiology* 105: 823-828.
- Westerterp KR. 2001. Energy and Water Balance at High Altitude. *News Physiol Sci* 16: 134-137.
- Westerterp KR. 2003. Impacts of vigorous and non-vigorous activity on daily energy expenditure. *Proceedings of the Nutrition Society* 62: 645-650.
- Westerterp KR. 2008. Physical activity as determinant of daily energy expenditure. *Physiology & Behavior* 93: 1039-1043.
- Westerterp KR & Plasqui G. 2004. Physical activity and human energy expenditure. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 7: 607-613.
- Westerterp KR & Speakman JR. 2008. Physical activity energy expenditure has not declined since the 1980s and matches energy expenditures of wild mammals. *Int J Obes* 32: 1256-1263.
- Westerterp KR, Saris WH, van Es M, ten Hoor F. 1986. Use of the doubly labeled water technique in humans during heavy sustained exercise. *Journal of Applied Physiology* 61: 2162-2167.
- Westerterp KR, Meijer GAL, Janssen EME, Saris WHM, Hoor FT. 1992. Long-term effect of physical activity on energy balance and body composition. *British Journal of Nutrition* 68: 21-30.
- Weyer C, Walford RL, Harper IT, Milner M, MacCallum T, Tataranni PA, Ravussin E. 2000. Energy metabolism after 2 y of energy restriction: the Biosphere 2 experiment. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72: 946-953.
- Wichert B, Opitz B, Wehr U, Kienzle E. 1999. Energy requirements of pet dogs. 26th World Veterinary Association (WVA), 24th World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), 3rd Conference of European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (ESVCN). Lyon.
- Williams TM, Friedl WA, Haun JE. 1993. The physiology of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): heart rate, metabolic rate and plasma lactate concentration during exercise. *J Exp Biol* 179: 31-46.
- Wilson RP, White CR, Quintana F, Halsey LG, Liebsch N, Martin GR, Butler PJ. 2006. Moving towards acceleration for estimates of activity-specific metabolic rate in free-living animals: the case of the cormorant. *Journal of Animal Ecology* 75: 1081-1090.
- Wilterdink EJ, Ballor DL, Keeseey RE. 1992. Amount of exercise per day and weeks of training: effects on body weight and daily energy expenditure. *Med Sci Sports Exerc.* 24: 396-400.
- Wu S-H, Zhang L-N, Speakman JR, Wang D-H. 2009. Limits to sustained energy intake. XI. A test of the heat dissipation limitation hypothesis in lactating Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *J Exp Biol* 212: 3455-3465.

- Wyatt H, Heng M, Meerbaum S, Hestenes J, Cobo J, Davidson R, Corday E. 1979. Cross-sectional echocardiography. I. Analysis of mathematic models for quantifying mass of the left ventricle in dogs. *Circulation* 60: 1104-1113.
- Wyatt HL & Mitchell JH. 1974. Influences of physical training on the heart of dogs. *Circulation Research* 35: 883-889.
- Wyss M & Wallimann T. 1994. Creatine metabolism and the consequences of creatine depletion in muscle. *Molecular and Cellular Biochemistry* 133: 51-66.
- Wyss M & Kaddurah-Daouk R. 2000. Creatine and Creatinine Metabolism. *Physiological Reviews* 80: 1107-1213.
- Yamada M & Tokuriki M. 2000. Spontaneous Activities Measured Continuously by an Accelerometer in Beagle Dogs Housed in a Cage. *J Vet Med Sci* 62: 443-447.
- Zentek J & Meyer H. 1992. Energieaufnahme adulter Deutscher Doggen (Energy intake of adult Great Danes). *Berliner und Muenchener Tieraerztliche Wochenschrift* 105: 325-327.
- Zentek J & Meyer H. 1993. Verdaulichkeit und faekale Wasserausscheidung-ein Vergleich zwischen Doggen und Beagles (Digestibility and faecal excretion of water-a comparison between Great Danes and Beagles). *Kleintierpraxis* 38: 311-318.
- Zhang K, Sun M, Werner P, Kovera AJ, Albu J, Pi-Sunyer FX, Boozer CN. 2002. Sleeping metabolic rate in relation to body mass index and body composition. Basingstoke: Nature Publishing Group.

9 Anhang

9.1 Comet Assay Protokoll

9.1.1 Chemikalien und Reagenzien

- DMSO Merck, Darmstadt
- Ethanol VWR International GmbH, Darmstadt
- Ethidiumbromid Carl Roth, Karlsruhe
- LMP-Agarose Sigma-Aldrich, Steinheim
- MEEO-Agarose Merck, Darmstadt
- Na₂EDTA Carl Roth, Karlsruhe
- Natriumchlorid AppliChem GmbH, Darmstadt
- Natriumhydroxid VWR International GmbH, Darmstadt
- PBS-Puffer GIBCO, Life Technologies, Carlsbad, USA
- Salzsäure VWR International GmbH, Darmstadt
- Tris-Base Sigma-Aldrich, Steinheim
- Triton X-100 Sigma-Aldrich, Steinheim

9.1.2 Medien, Puffer und Lösungen

Alle Medien und Lösungen wurden, soweit nicht anders beschrieben mit bidestilliertem Wasser (H₂O) hergestellt.

- Lyse Stammlösung

NaCl:	2,5 mol
Na ₂ EDTA:	100 mmol
Tris-Base:	10 mmol
- Lyselösung

Triton-X100:	42,5 mmol in Lyse Stammlösung
DMSO:	1,41 mol in Lyse Stammlösung
- Alkali-Elektrophoresepuffer

NaOH:	300 mmol
Na ₂ EDTA:	1 mmol

- Neutralisationspuffer
Tris-Base: 48,5 mg/ml
- Färbelösung
Ethidiumbromid: 20 µg/ml
- LMP-Agarose
LMP-Agarose: 15 mg/ml PBS

9.1.3 Methodischer Ablauf des Comet Assays

9.1.3.1 Herstellung der für die Präparate verwendeten Agarose beschichteten Objektträger

Für die Agarosebeschichtung wurden Objektträger mit Mattrand verwendet. Auf dem Mattrand wurde eine Seite mit einer Bleistiftmarkierung versehen, um sie als Oberseite zu kennzeichnen. Die Objektträger wurden mit einem fusselfreien Tuch (KimWipes, Kimberly-Clark Corporation, USA) gereinigt und anschließend in flüssige 1,5 %ige medium-electro-endosmosis (MEEO)-Agarose getaucht. Zur Herstellung der Agarose wurden jeweils 1,5 g MEEO-Agarose mit 100 ml PBS-Puffer in einem Erlenmeyerkolben in der Mikrowelle zweimal sprudelnd aufgekocht. Anschließend wurde die MEEO-Agarose im Wasserbad auf 60 °C heruntergekühlt.

Die Objektträger wurden einzeln mit dem klaren Ende voran bis etwa zur Hälfte des Beschriftungsfeldes in die MEEO-Agarose eingetaucht. Dies gewährleistet eine bessere Haftung der MEEO-Agarose auf den Objektträgern. Anschließend wurde die Agarose von der Unterseite des Objektträgers mit einem fusselfreien Tuch entfernt und die Objektträger in horizontaler Lage auf einer Ablageplatte unter dem Abzug zum Trocknen abgelegt. Dort wurden sie für ca. 24 h bei Zimmertemperatur bis zum vollständigen Trocknen belassen. Die so präparierten Objektträger konnten über mehrere Monate hinweg bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden.

9.1.3.2 Präparation der LMP-Agarose-Aliquote und Lyse nach der Probenentnahme

Für die Untersuchung der Vollblutproben der Messzeitpunkte „Min 0“, „Min 15“, „Min 120“ wurden LMP-Agarose-Aliquote in Eppendorf Micro-Test-Tubes (Eppis) vorbereitet. Jeweils 100 mg LMP-Agarose wurden hierfür in 20 ml PBS zweimal aufgekocht und anschließend jeweils 125 µl in Eppis pipettiert. Die hergestellten Aliquote konnten mehrere Monate im Kühlschrank bei 4 °C gelagert werden.

Vor der Probennahme wurden die Eppis zur Verflüssigung der Agarose im Wasserbad aufgekocht und anschließend in einem Thermoblock auf 37 °C temperiert. Möglichst unmittelbar nach der Probennahme wurden 5 µl heparinisiertes Vollblut in die 37 °C warme LMP-Agarose pipettiert, vermischt und gleichmäßig auf die Agarose-

beschichteten Objektträger aufgetragen. Danach wurden die Objektträger mit einem Deckglas (26 x 60 mm, Menzel, Braunschweig, Deutschland) versehen und für 3 Minuten bis zum Ausgelieren der Agarose in den Kühlschrank gelegt. Anschließend wurden die Deckgläser seitlich, im rechten Winkel zur späteren Migrationsrichtung der DNA-Fragmente im elektrischen Feld, von den Objektträgern abgezogen. Dadurch entstehende Artefakte konnten auf diese Weise als solche erkannt und aus der Auswertung ausgeschlossen werden.

Die so behandelten Objektträger wurden für einen Zeitraum von mindestens einer Stunde (maximal 48 Stunden) in eine lichtgeschützte Küvette mit 4 °C kalter gebrauchsfertiger Lyselösung gestellt. Dieser Schritt wurde unter Lichtabschluss durchgeführt, um zusätzliche DNA-Schäden zu vermeiden. Während der Lyse erfolgt der Abbau sämtlicher Zellmembranen, die DNA wird freigesetzt. Sie bleibt jedoch in Form des früheren Zellkernes in der Agarose fixiert. Zur Herstellung der Lyselösung wurden zu 89 ml der auf 4 °C temperierten Lyse-Stammlösung 1 ml Triton X-100 und 10 ml DMSO zugegeben und vermischt.

Die Verarbeitungszeit der heparinisierten Vollblutproben wurde möglichst unter 10 Minuten gehalten, um eine bereits einsetzende Reparatur der DNA-Schäden zu vermeiden.

9.1.3.3 Alkalidenaturierung und anschließende Elektrophorese

Im Anschluss an die Lyse der Zellkerne fanden die Alkalidenaturierung der DNA und die Expression alkalilabiler Stellen statt. Dazu wurden die Objektträger aus der Lyselösung genommen, kurz abgetropft und mit der Gelschicht nach oben auf die Plattform der Elektrophoresekammer (Sub-Cell GT Systems, Bio-rad, München, Deutschland) gelegt. Die Beschriftung der Objektträger zeigte dabei zum schwarzen Pol, frei bleibende Plätze wurden mit leeren Objektträgern aufgefüllt. Die Objektträger in der Elektrophoresekammer wurden dann mit dem vorbereiteten 4 °C kalten, alkalischen Elektrophoresepuffer (pH > 13) überschichtet und für 40 min darin belassen. Im Zuge der Alkalidenaturierung kommt es zu einer Entspiralisierung der DNA und zu einer Überführung von alkalilabilen Stellen in DNA-Strangbrüche. Dies ist eine sinnvolle Modifikation des Comet Assays, da sich oxidative DNA-Schäden nicht nur in Form von Strangbrüchen, sondern auch als Basenmodifikationen und Veränderungen am Zuckerphosphatgerüst der DNA auswirken können. Diese Veränderungen wirken sich nicht unmittelbar als Strangbrüche aus, können jedoch durch die Alkalidenaturierung in solche überführt und somit sichtbar gemacht werden (Miyamae et al. 1997).

Im Anschluss an die Alkalidenaturierung wurde die Elektrophorese im demselben Puffer durchgeführt. Dazu wurde die Spannungsquelle an die Elektrophoresekammer angeschlossen und durch Zugabe oder Abpipettieren des Puffers die Füllhöhe so reguliert, dass bei einer Spannung von 25 V ein Strom von 300 mA floss. Die Elektrophorese wurde über eine Dauer von 30 min durchgeführt.

Nach Beendigung der Elektrophorese wurden die Objektträger neutralisiert. Dazu wurden sie aus dem Elektrophoresepuffer genommen, auf ein Abtropfgestell gelegt, dreimal für 5 Minuten mit Neutralisationspuffer überschichtet, kurz in eine Küvette mit destilliertem

H₂O getaucht und für 5 Minuten in 98 %igem Alkohol dehydriert. Über Nacht wurden die Objektträger unter Lichtabschluss bei Raumtemperatur getrocknet.

Von jeder Blutprobe wurden jeweils zwei Objektträger angefertigt, um bei einem Verlust eines Objektträgers, beispielsweise durch Glasbruch, Verunreinigungen oder ein Ablösen der Agarosebeschichtung während der Verarbeitung, noch einen auswertbaren Objektträger zur Verfügung zu haben. Die Duplikate wurden mit 1 und 2 gekennzeichnet.

9.1.3.4 Anfärbung der DNA und fluoreszenzmikroskopische Auswertung der Präparate

Dieser Schritt wurde von Dr. Michael Gröger, Sektion Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung, Universitätsklinikum Ulm, durchgeführt. Der Vollständigkeit halber wird die Durchführung der Auswertung unten aufgeführt.

Unmittelbar vor der Auswertung wurden die Proben mit 50 µl Ethidiumbromid-Färbelösung (20 µg/ml) überschichtet und mit einem Deckglas eingedeckt. Die Auswertung erfolgte bei einer 400-fachen Vergrößerung mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops bei einer Anregungswellenlänge von 515 nm – 560 nm und einem Sperrfilter bei 590 nm.

Die Aufnahme der Bilder des Mikroskops erfolgte mit einem digitalen Kamerasensor. Die von der Kamera aufgenommenen Bilder wurden auf einen PC übertragen. Mit dem Bildanalyseprogramm Comet Assay II V2.11 wurde das Tailmoment jeder einzelnen untersuchten Zelle ermittelt.

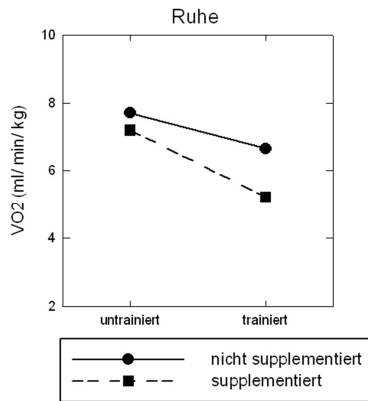
Als Tailmoment bezeichnet man das Produkt aus der relativen Fluoreszenzintensität des Kometenschweifes gegenüber dem Kometenkopf und der auf den Schwerpunkt des Kopfes korrigierten Wanderungslänge der DNA. Die vom Programm hierzu ermittelten Messgrößen sind Schweiflänge und Kopfdurchmesser sowie Leuchtintensität von Schweif und Kopf. Der Kometenschweif entsteht dadurch, dass chromosomale DNA aus dem Bereich des ehemaligen Zellkernes in Richtung Anode wandert.

Von jeder Blutprobe wurde der als Nummer 1 bezeichnete Objektträger ausgewertet. Nur im Falle eines Verlustes dieses Objektträgers wurde der als Nummer 2 bezeichnete Objektträger zur Auswertung herangezogen. Auf jedem Präparat wurden 50 zufällig ausgewählte Zellkerne ausgewertet. Als Maß für die Schädigung der DNA wurde der Mittelwert das Tailmoment der 50 gemessenen Zellen herangezogen.

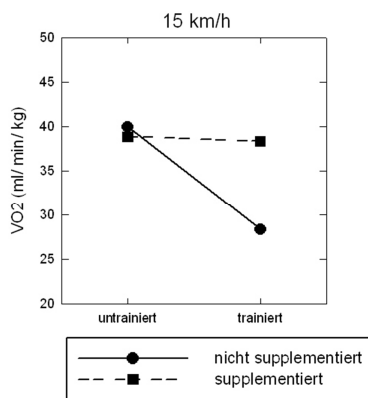
9.2 Interaktionen

9.2.1 Sauerstoffverbrauch

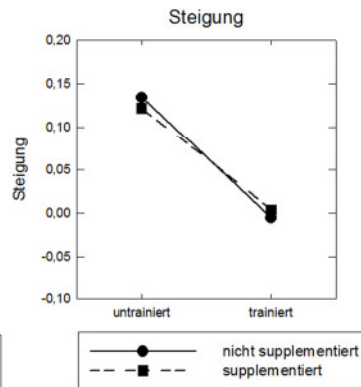
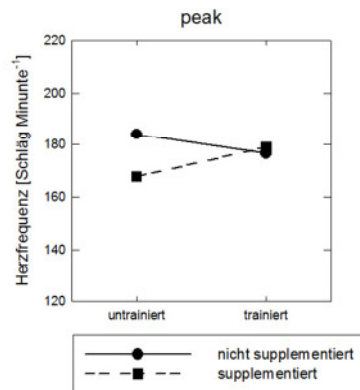
9.2.1.1 In Ruhe



9.2.1.2 Unter Belastung (Schwellentest)

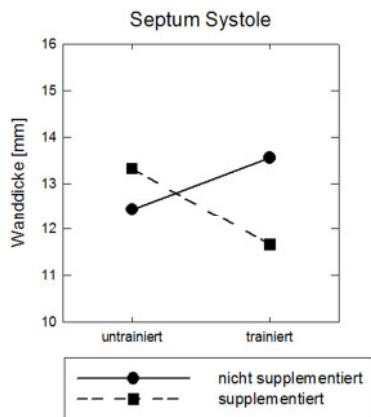


9.2.2 Herzfrequenz

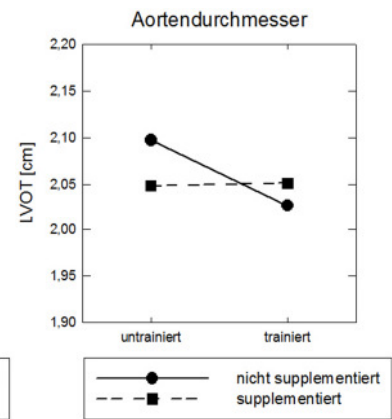
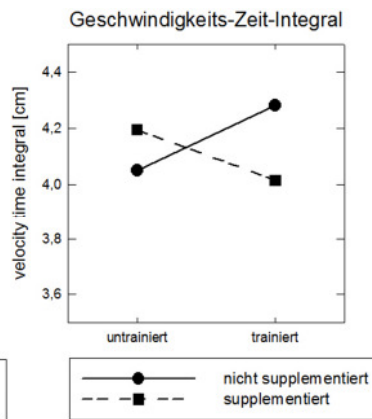
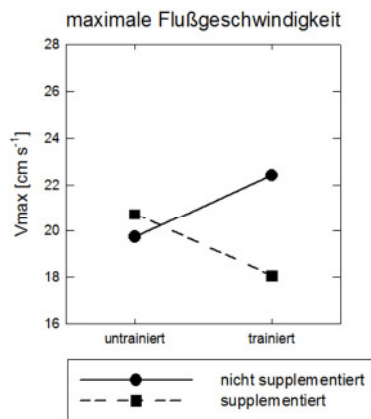


9.2.3 Echokardiographische Parameter

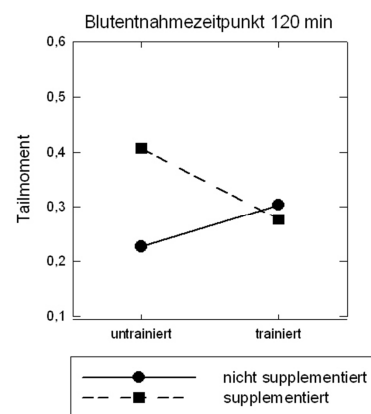
9.2.3.1 Vermessung des linken Ventrikels



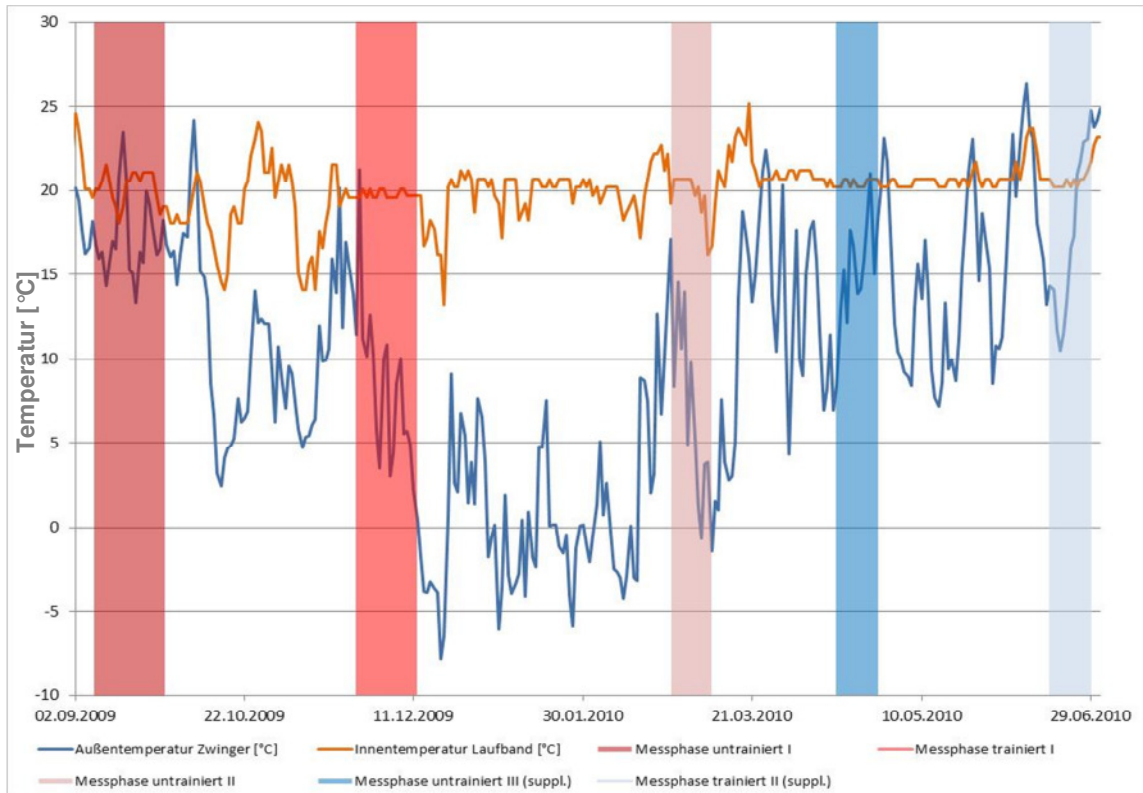
9.2.3.2 Volumenfluss



9.2.4 Comet Assay (Blutentnahmezeitpunkt „Min 120“)



9.3 Temperaturverlauf von Innen- und Außentemperatur während der gesamten Studie



Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Ruhestoffwechselrate (RMR, schlafend) in Abhängigkeit von der fettfreien Masse (N= 152).	20
Abb. 2: Zeit- und Arbeitsplan, Überblick über Dauer und Reihenfolge der einzelnen Arbeitsphasen. Blau: nicht supplementiert, Orange: supplementiert	36
Abb. 3: (links) Laufband mit Lichtschranke, Windmaschine und Sicherungsleine; (rechts) der Hund konnte seine Position auf dem Laufband frei wählen.	37
Abb. 4: Übersicht über Dauer und Geschwindigkeit des aeroben Trainings im Verlauf des 6-wöchigen Ausdauertrainings.	38
Abb. 5: Übersicht über Dauer und Geschwindigkeit der Sprint- und Erholungsphasen während des Minutenlaufs im Verlauf des 6-wöchigen Ausdauertrainings.	39
Abb. 6: Übersicht über Dauer und Geschwindigkeit der Sprint- und Erholungsphasen während des 1-Minuten Sprints.	40
Abb. 7: Atemmaske für Ruhemessungen (links), etwas größere Atemmaske mit Sensorschutz (ohne Volumen-Sensor) für Belastungsmessungen (rechts).	42
Abb. 8: Anordnung der Messgeräte am Hund während den Belastungsmessungen, (links) Atemmaske mit Sensorschutz, (rechts) Grundgerät im Rucksack auf dem Rücken des Hundes.	42
Abb. 9: FBI-Hündin „Trisha“ während einer Ruhemessung.	44
Abb. 10: Typische Verlaufskurve des Sauerstoffverbrauchs (VO_2) während des Schwellentests.	45
Abb. 11: Typische Verlaufskurve des Sauerstoffverbrauchs (VO_2) während des Maximaltests.	46
Abb. 12: M-Modus Echokardiographie. (A) Vermessung des linken Ventrikels und des Septums in Diastole (LVd, Sd) und Systole (LVs, Ss); (B) Messung der Volumenfluss-Parameter (SV, VTI, Vmax).	47
Abb. 13: Ultraschallbilder der Messstellen und Muskeldickemessungen.	49
Abb. 14: Entnahmestelle der Muskelbiopsien und Überführung der entnommenen Biopsie in Cryo-Micro-Test-Tubes.	50
Abb. 15: Schematischer Ablauf des Comet Assays (Einzelzell-Gelelektrophorese) in der alkalischen Version (verändert nach Speit & Hartmann (1999)).	51
Abb. 16: Ergebnisse des Comet Assays bei unterschiedlich starken DNA-Schädigungsgraden (verändert nach Gröger (2007)).	51
Abb. 17: Effekte von Training und Trainingspause auf den massenspezifischen RMR. ..	56
Abb. 18: Vergleich der Effekte von GAA-Supplementierung und Training auf den massenspezifischen RMR.	57
Abb. 19: Vergleich des massenspezifischen Sauerstoffverbrauchs in Ruhe von Hunden der Laufbandgruppe (●) und der Kontrollgruppe (◆).	58
Abb. 20: Massenspezifischer Sauerstoffverbrauch von untrainierten Hunden, trainierten Hunden und Hunden nach einer Trainingspause bei verschiedenen Geschwindigkeiten.	59

Abb. 21: Massenspezifischer Sauerstoffverbrauch von untrainierten (I+II) und trainierten FBI-Hunden bei verschiedenen Geschwindigkeiten.	60
Abb. 22: Vergleich der Effekte von GAA-Supplementierung und Training auf den massenspezifischen Sauerstoffverbrauch bei verschiedenen Geschwindigkeiten.	60
Abb. 23: Effekte von Training und Trainingspause auf die Parameter des Maximaltests.	61
Abb. 24: Effekt von Training auf die Parameter des Maximaltest.	62
Abb. 25: Vergleich der Effekte von Training und Supplementierung während des Maximaltests.	62
Abb. 26: Vergleich der Effekte von Training und Supplementierung während des Maximaltests.	63
Abb. 27: Effekte von Training und Trainingspause auf die Ruheherzfrequenz von FBI-Hunden.	65
Abb. 28: Vergleich der Effekte von Training und Supplementierung auf die Ruheherzfrequenzen.	65
Abb. 29: Vergleich der Ruheherzfrequenzen von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.	66
Abb. 30: Vergleich der Herzfrequenz von untrainierten Hunden, trainierten Hunden und Hunden nach der Trainingspause bei verschiedenen Geschwindigkeiten.	67
Abb. 31: Effekt von Training auf die Ruheherzfrequenz von FBI-Hunden bei verschiedenen Geschwindigkeiten.	67
Abb. 32: Effekte von Training und Supplementierung auf die Herzfrequenz unter Belastung bei verschiedenen Geschwindigkeiten.	68
Abb. 33: Effekt von Training und Trainingspause auf die Parameter des Maximaltest.	69
Abb. 34: Effekt von Training auf die Parameter des Maximaltests.	70
Abb. 35: Effekte von Training und Supplementierung auf die Parameter des Maximaltests.	71
Abb. 36: Regressionsgerade (-) und Vorhersageintervall (---) der Trainingszustände (links) „untrainiert“ und (rechts) „trainiert“.	72
Abb. 37: Regressionsgerade (-) und Vorhersageintervalle (---) für untrainierte und trainierte Hunde.	73
Abb. 38: Regressionsgerade (-) und Vorhersageintervalle (---) für untrainierte und trainierte Hunde.	74
Abb. 39: Effekte von Training und Trainingspause auf die Wanddicke des linken Ventrikels und des Septums in Diastole und Systole.	75
Abb. 40: Effekt von Training auf die Wanddicke des linken Ventrikels in Diastole und Systole und des Septums in der Diastole und Systole.	76
Abb. 41: Effekte von Training und GAA-Supplementierung auf die Wanddicke des linken Ventrikels und des Septums in Diastole und Systole.	76
Abb. 42: Vergleich der Wanddicke des linken Ventrikels in der Diastole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.	77
Abb. 43: Vergleich der Wanddicke des linken Ventrikels in der Systole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.	77

Abb. 44: Vergleich der Wanddicke des Septums in der Diastole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.....	78
Abb. 45: Vergleich der Wanddicke des Septums in der Systole von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.....	78
Abb. 46: Effekte von Training und Trainingspause auf die Volumenflussparameter.....	79
Abb. 47: Effekt von Training auf die Volumenflussparameter.	80
Abb. 48: Effekte von Training und GAA-Supplementierung auf die Volumenflussparameter.....	81
Abb. 49: Vergleich des Schlagvolumens von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.	82
Abb. 50: Vergleich der maximalen Volumenflussgeschwindigkeit von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.....	82
Abb. 51: Vergleich des Geschwindigkeits-Zeit-Integral von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.	83
Abb. 52: Vergleich des Durchmessers der Aorta von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.	83
Abb. 53: Effekte von Training und Trainingspause auf die Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln.	84
Abb. 54: Effekt von Training auf die Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln.	84
Abb. 55: Effekte von Training und GAA-Supplementierung auf die Muskeldicke der untersuchten Lokomotionsmuskeln.....	85
Abb. 56: Vergleich der Muskeldicke des M. supraspinatus von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.....	86
Abb. 57: Vergleich der Muskeldicke des M. infraspinatus von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.....	86
Abb. 58: Vergleich der Muskeldicke des M. brachialis von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.	87
Abb. 59: Vergleich der Muskeldicke des M. quadriceps femoris von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.....	87
Abb. 60: Vergleich der Muskeldicke des M. longissimus lumborum von Hunden der Laufbandgruppe und der Kontrollgruppe.....	88
Abb. 61: Effekt von GAA-Supplementierung auf den Gehalt an Kreatin, Kreatinphosphat, Gesamt-Kreatin, ATP und das Verhältnis von Gesamt-Kreatin und ATP in der Muskulatur von Hunden.....	89
Abb. 62: Effekt von Training und Trainingspause auf das Tailmoment.	90
Abb. 63: Effekt von GAA-Supplementierung in Kombination mit Training auf das Tailmoment.....	91
Abb. 64: Effekt von Training und GAA-Supplementierung auf das Tailmoment.	91
Abb. 65: Vergleich der freien Aktivität von FBI-Hunden während verschiedenen Wochentagen in der Trainingspause.....	93
Abb. 66: Effekt von Training und Supplementierung auf die freie Aktivität von FBI-Hunden.....	94

Abb. 67: Aktivitäts- und Temperaturdaten während der Trainingspause.	95
Abb. 68: Aktivitäts- und Temperaturdaten während der Messphase untrainiert II.....	95
Abb. 69: Aktivitäts- und Temperaturdaten während der Trainingsphase (supplementiert).	96
Abb. 70: Effekt von GAA-Supplementierung auf die untersuchten Blutwerte.....	97

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Angaben zum Erhaltungsenergiebedarf von Hunden in Abhängigkeit von Rasse, Alter, Haltung und Aktivität, verändert nach NRC (2006).	12
Tabelle 2: Energieverbrauch von Hunden während des Stehens und Rennens bei konstanter Belastung auf einem Laufband, verändert nach NRC (2006).	14
Tabelle 3: Energiebedarf für Hunde verschiedener Rassen bei unterschiedlichen Belastungen, verändert nach NRC (2006).	15
Tabelle 4: Name des Hundes, Tätowierungsnummer, Geburtsdatum und Gewichte zu Beginn des Versuchs für die 10 Versuchstiere.	34
Tabelle 5: Dauer und Geschwindigkeit der einzelnen Trainingsbestandteile über die 6-wöchige Trainingsphase mit jeweils 3 Trainingseinheiten pro Woche.	38
Tabelle 6: Verhältnis des Ruhe- zum Leistungsstoffwechsel (metabolic scope). Die Mittelwerte für RMR und MR wurden aus den Werten sämtlicher Messphasen („untrainiert I+II“, „trainiert I“, „untrainiert III“ (suppl.) und „trainiert II“ (suppl.)) berechnet. Angabe des Mittelwertes und der Standardabweichung.	64
Tabelle 7: Übersicht über das Tailmoment zu den untersuchten Blutentnahmezeitpunkten und der an diesem Tag vorherrschenden Außentemperatur in °C.	92
Tabelle 8: Aktivitätsmittelwerte der Wochentage Montag, Dienstag, Mittwoch, Donnerstag, Freitag, Samstag und Sonntag während der Trainingspause (nicht supplementiert).	93
Tabelle 9: Mittelwerte von Außentemperatur und Aktivität während verschiedenen Phasen.	96

Danksagung

Zu allererst möchte ich Prof. Dr. J. Matthias Starck für die Ermöglichung und Betreuung dieses Projektes sowie die freundliche Unterstützung in allen Phasen dieser Arbeit danken. Die Zusammenarbeit mit Ihnen hat mir sehr viel Freude gemacht.

Vielen Dank auch an Dr. Britta Dobenecker vom Institut für Tierernährung und Diätetik der LMU München für die Übernahme der Betreuung, die mir die Arbeit mit den Hunden überhaupt ermöglichte und sich sehr für diese Kooperation einsetzte. Ebenso danke ich Prof. Dr. Ellen Kienzle für die Übernahme der Korrektur und die Betreuung dieser Arbeit.

Ein großer Dank geht an die AlzChem Trostberg GmbH, insbesondere an Dr. Ulrike Braun und Dr. Barbara Nieß für das Vertrauen in dieses Projekt, die finanzielle und die fachliche Unterstützung.

Ich danke Dr. Michael Gröger der Sektion Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung am Universitätsklinikum Ulm für die Einarbeitung in den Comet Assay, die Übernahme der Auswertung sowie zahlreiche Tipps und Tricks bei der Problembewältigung und nicht zuletzt für die Leihgabe der Geräte. Außerdem danke ich Prof. Dr. Peter Radermacher, der diese Kooperation überhaupt ermöglichte.

Ganz besonders möchte ich mich bei Dr. Nadine Gerth für die unermüdliche Hilfsbereitschaft bei zahlreichen Messungen und Probeentnahmen sowie das immer offene Ohr und die netten Spaziergänge bedanken.

Vielen Dank an die liebenswerte Hunde-Bande für die vielen lustigen, aber auch anstrengenden Stunden sowie das geduldige Laufbandlaufen und die Kooperation bei sämtlichen Messungen. Mögen Eure Futternäpfe immer gut gefüllt sein!

Ein ganz besonders großer Dank geht an die Tierpfleger und -Azubis im Oberwiesefeld, insbesondere Nadja, Steffen, Adrian, Gabi und Chrissi, die mir immer hilfsbereit zur Seite standen und die Arbeit dort sehr erheiterten, ab und an allerdings auch für Überraschungen sorgten...

Ein großer Dank geht auch an Julia Faltermeier für die Hilfe im Labor und die immerwährende gute Laune.

Außerdem möchte ich dem Rest der AG Starck für die freundliche Unterstützung, netten Gespräche, Kaffeeklatsch und die Hundespaziergänge danken. Liebe Rike, lieber Kai, es war wirklich eine schöne Zeit bei Euch!

Vielen, lieben Dank an Daniela Zollner, die mir vor allem während den letzten Messphasen dieses Projektes eine große Hilfe und eine willkommene Gesellschaft war. Ich wünsch Dir noch viel Erfolg und Durchhaltevermögen für Deine Dissertation.

Ich danke auch allen Praktikanten und Studenten, die im Rahmen dieses Projektes mitarbeiteten, für die Hilfe mit den Hunden und bei der Analyse von Daten.

Von Herzen bedanke ich mich bei meinen Freunden für ihr Verständnis, ihre Aufmunterungen und die vielen schönen Unternehmungen, die mir halfen, den Kopf wieder frei zu bekommen. Besonders danke ich Pierre König für seine kompetente Hilfe bei der Ausarbeitung des Trainingsprotokolls für das Laufbandtraining der Hunde.

Ein ganz besonderer Dank geht an meinen Freund, Hannes Imhof, der für alle meine Problemchen und Probleme, die im Laufe dieser Arbeit auftraten, eine Lösung wusste und es auch nicht scheute, selbst mit anzupacken. Danke Hannes, dass Du mir manch' schwere Zeit versüßt hast und immer für mich da bist!

Ich danke auch Kiara, unserem unglaublichen Hund, die tagtäglich den Werdegang dieser Arbeit begleitete, für ihren täglich wedelnden Schwanz und die erheiternde gemeinsame Zeit.

Zu guter Letzt danke ich meinen Eltern für alles, was sie für mich getan haben. Dafür, dass sie immer an mich geglaubt haben und mich stets darin bestärkt haben, meinen Idealen treu zu bleiben. Ohne Eure Unterstützung wäre dies alles nicht möglich gewesen!

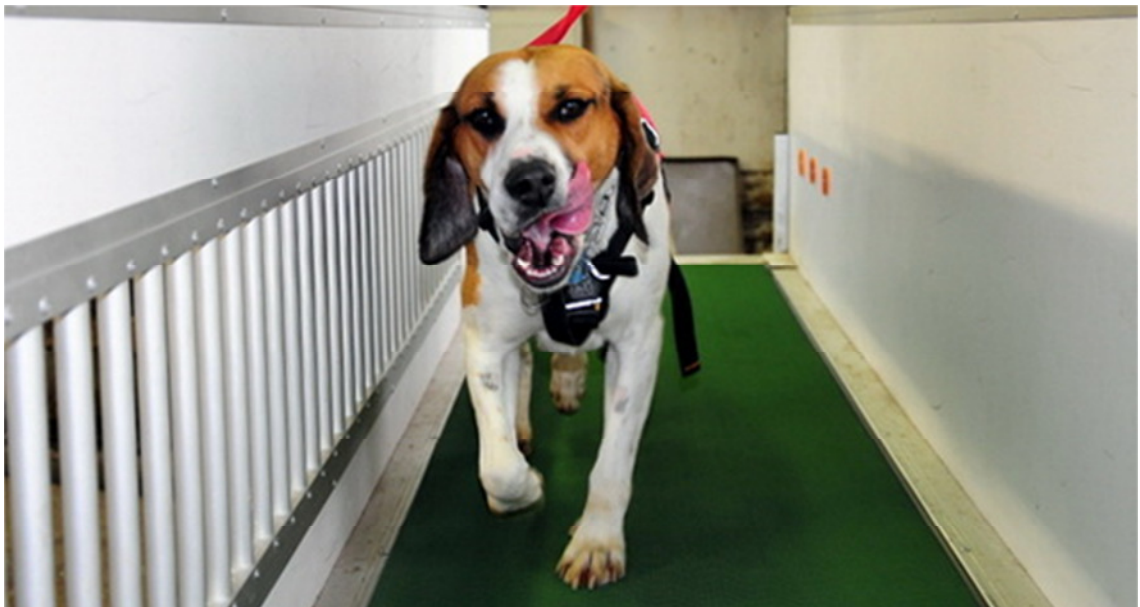


Abb.: FBI-Hündin „Stella“ während dem Laufbandtraining.