

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. M. Stangassinger
Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. M. Stangassinger

Auswirkungen des Hypoxietrainings von Maultieren und Haflingern auf den
oxidativen Stress und die physische Leistungsfähigkeit

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

von
Markus Thomas Menn
aus Neheim-Hüsten

München 2006

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer

Referent: Univ.-Prof. Dr. M. Stangassinger

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Gerhards

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
2	Literaturübersicht	6
2.1	Sauerstoffbindungskapazität im Blut	6
2.2	Anpassungsmechanismen des Organismus in der Höhe	7
2.3	Spezielle negative Auswirkungen der Höhe	9
2.4	Training und Leistungsfähigkeit in der Höhe	11
2.5	Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit	13
2.6	Bildung von Sauerstoffradikalen und oxidativer Stress	15
2.7	Bildung und Bedeutung von Sauerstoffradikalen bei physischer Belastung	17
2.8	Antioxidanzien im Organismus	19
3	Zielsetzung	21
4	Material und Methoden	22
4.1	Versuchstiere	22
4.2	Haltung, Fütterung und Training	23
4.3	Versuchsanordnung	24
4.4	Probennahmezeitpunkte	25
4.5	Entnahme und Konservierung der Proben	26
4.6	Bestimmungsmethoden	27
4.6.1	Erythrozytenparameter	27
4.6.2	Ausgewählte Parameter für Organschädigungen	27
4.6.3	Laktat	27
4.6.4	Untersuchungen zur Bestimmung des oxidativen Stresses	28
4.6.4.1	TEAC	28
4.6.4.2	Vitamin C	28
4.6.4.3	Vitamin E	29
4.6.4.4	Katalase (CAT)	29
4.6.4.5	Glutathionperoxidase (GSHPx)	30
4.6.4.6	Superoxiddismutase (SOD)	30
4.6.4.7	HNE modifizierte Proteine	30
4.6.4.8	Malondialdehyd (MDA)	31
4.6.5	Beurteilung der physischen Leistungsfähigkeit	32
4.6.5.1	Messung der Laktatkonzentration nach SET	32
4.6.5.2	Messung der Herzfrequenzabnahme nach SET	32
4.7	Statistische Auswertung	33

5	Ergebnisse	34
5.1	Antioxidativer Status	34
5.1.1	Antioxidative Kapazität (TEAC)	34
5.1.2	Antioxidativ wirksame Vitamine (Vitamine C und E)	35
5.1.2.1	Vitamin C	35
5.1.2.2	Vitamin E	36
5.1.3	Antioxidativ wirksame Enzyme	37
5.1.3.1	SOD	37
5.1.3.2	GSHPx	38
5.1.3.3	CAT	38
5.2	Nachweise von Radikalfolgeprodukten	39
5.2.1	HNE modifizierte Proteine	39
5.2.2	MDA	40
5.3	Parameter für Organschädigungen: CK, AST, ALT, LDH	41
5.4	Erythrozytenzahlen, Hämatokrit, Hämoglobin	42
5.4.1	Erythrozytenzahlen	42
5.4.2	Hämatokrit, Hämoglobingehalt	43
5.5	Beurteilung der physischen Leistungsfähigkeit	44
5.5.1	Laktatkonzentration nach SET	44
5.5.2	Herzfrequenzabnahme nach SET	45
6	Diskussion	46
6.1	Antioxidative Kapazität (TEAC), Vitamine C und E	46
6.1.1	TEAC	46
6.1.2	Vitamine C und E	47
6.2	Induktion antioxidativer Enzyme (SOD, GSHPx, CAT)	49
6.3	Radikalfolgeprodukte (HNE mod. Prot., MDA)	50
6.4	Ausgewählte Enzyme zur Beurteilung von Organschädigungen	51
6.5	Veränderungen der Erythrozytenzahlen nach dem Hypoxietraining	53
6.6	Auswirkungen des Hypoxietrainings auf die Leistungsfähigkeit	55
6.7	Gruppeninterne Gesamtbetrachtung	56
6.7.1	Sommerhypoxietraining Haflinger	56
6.7.2	Sommerhypoxietraining Maultiere	56
6.7.3	Winterhypoxietraining Maultiere	56
6.8	Kritische Beurteilung	57
6.9	Ausblick	57
7	Zusammenfassung	58
8	Summary	60
9	Literaturverzeichnis	62
	Danksagung	88

1 Einleitung

Seit Jahrtausenden werden Maultiere und Pferde als Tragtiere, vor allem in vielen ariden warmen Ländern, genutzt (Legel, 1993). Maultiere kombinieren die vom Menschen gewünschten Eigenschaften von Pferden und Eseln. Bis heute hat die Aktualität dieser spezifischen Nutzung angehalten.

Ob zivil, zur Begleitung von Expeditionen oder Bewirtschaftung von ganzen gebirgigen Regionen oder militärisch, zur Versorgung und Unterstützung von Kampftruppen in schwer zugänglichem Gelände. Hiermit ist immer auch ein Aufenthalt in hohen Gebirgsregionen vergesellschaftet.

Die körperlichen Anstrengungen, die dabei von den Tragtieren erbracht werden müssen, sind enorm, wenn man bedenkt, dass beispielsweise die Maultiere der Bundeswehr mit bis zu 160 kg Gewicht belastet werden können. Dies entspricht etwa 1/3 der eigenen Körpermasse. Dazu kommen verschiedene Anpassungsmechanismen des Organismus auf die sich ändernden physikalischen Gegebenheiten mit zunehmender Höhe. Die Entstehung von den Organismus schädigenden Sauerstoffradikalen ist zusätzlich zur physischen Belastung (Kirschvink und Lekeux, 2002) durch die Höhenexposition gesteigert (Askew, 2002).

Es gibt zahlreiche Untersuchungen über die Wirkung von körperlicher Belastung und Trainingseffekten unter hypoxischen Bedingungen beim Menschen (Böning, 1997; Rodriguez et al., 1999; Rodriguez et al., 2000; Ge et al., 2002). Häufig wurde auch die oxidative Belastung und der antioxidative Status bestimmt (Palazetti et al., 2004).

Maultiere und Haflinger sind im Hinblick auf einen möglichen oxidativen Stress, sowohl in Meereshöhe, als auch im Gebirge, bisher nicht untersucht worden. Untersuchungen im Zusammenhang von körperlicher Leistungsfähigkeit und Entstehung von oxidativem Stress unter hypoxischen Bedingungen bei Maultieren und Pferden sind nicht existent.

Mit Hilfe der Studie soll untersucht werden, welche konkreten Auswirkungen ein Hypoxietraining auf den antioxidativen Status hat, ob und wie hoch der entstehende oxidative Stress ist und wie sich ein Höhengaufenthalt auf die körperliche Leistungsfähigkeit von Haflingern auswirkt.

2 Literaturübersicht

2.1 Sauerstoffbindungskapazität im Blut

Der durch die Kapillarwand in die Kapillaren diffundierende Sauerstoff wird physikalisch gelöst und in den Erythrozyten transportiert. Dort wird Sauerstoff an das zweiwertige Eisen des Hämoglobinmoleküls angelagert und das Hämoglobin dadurch oxygeniert. 1g Hämoglobin kann etwa 1,3 ml Sauerstoff binden. Von 100 ml Blut, das im Mittel 15 g Hämoglobin enthält, können somit maximal 19,5 ml O₂ chemisch gebunden werden. Das Blut weist dann eine 100 % Sättigung mit O₂ auf. Zusätzlich werden noch 0,3 ml O₂/100 ml Blut physikalisch gelöst. Das O₂-Bindungsvermögen hängt im wesentlichen vom O₂-Partialdruck ab. Mit steigendem O₂-Partialdruck enthält das Blut mehr O₂, d. h. einen größeren Prozentsatz Oxyhämoglobin (Eckert, 2002).

Die O₂-Bindungskurve weist, bedingt durch einen allosterischen Effekt nach Oxygenierung von nur einer Kette des 4-kettigen Hämoglobins, einen S-förmigen Verlauf auf. Die prozentuale Sauerstoffsättigung beträgt bei dem normalerweise im arteriellen Blut vorhandenen O₂-Partialdruck von 13 kPa nahezu 100%. Bei diesem hohen pO₂ verläuft die O₂-Bindungskurve fast horizontal (Schmidt und Thews, 1995). Folglich führen relativ große Abnahmen des pO₂, beispielsweise auf 6,7 kPa, was einem Wert in 4200 m Höhe entspricht, zu einer Verringerung der Sauerstoffsättigung um lediglich 20%.

Durch steigenden CO₂-Partialdruck, steigende Wasserstoffionenkonzentration und höhere Temperaturen kann die Bindungskurve nach rechts verlagert werden, d. h. bei gleicher O₂-Partialdruckdifferenz zwischen arteriellem Teil der Kapillare und dem Gewebe kann aufgrund erniedrigter Affinität mehr Sauerstoff an das Gewebe abgegeben werden. Da bei Muskelarbeit vermehrt CO₂ anfällt, durch die Laktatbildung die Wasserstoffionenkonzentration steigt und sich auch die Bluttemperatur erhöht, kann bei körperlicher Arbeit der Muskulatur eine größere Menge O₂ zur Verfügung gestellt werden.

2.2 Anpassungsmechanismen des Organismus in der Höhe

In der Höhe ist der Organismus veränderten physikalischen Gegebenheiten ausgesetzt. So ändern sich mit zunehmender Höhe Luftdruck, Sauerstoffpartialdruck, Luftdichte, Wasserdampfdruck der Luft, Strahlungsintensität und die Umgebungstemperatur. Um weiterhin, auch bei Erniedrigung des Sauerstoffpartialdruckes der Einatemungsluft, die ausreichende Versorgung mit genügend Sauerstoff sicherzustellen und der Gewebshypoxie infolge sinkenden Sauerstoffdruckes im arteriellen Blut entgegenzuwirken, muß vermehrt Atemluft zugeführt werden, was durch ein erhöhtes Atemminutenvolumen erzielt wird. Parallel wird das Herzminutenvolumen gesteigert.

Durch den erniedrigten arteriellen Sauerstoffdruck werden Chemorezeptoren im Bereich der A. Carotis gereizt, die über das Atemzentrum eine Zunahme des Atemminutenvolumens veranlassen. Der sich einstellende Hyperventilationseffekt verbessert die in der Höhe verschlechterten Aufnahmebedingungen für das durch die Lungenkapillarwände strömende Blut wieder, ohne jedoch Werte in Meereshöhe erreichen zu können. In 4000 m Höhe beträgt die Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes nur noch etwa 80% gegenüber knapp 100% in Meereshöhe.

Die sekundär entstehende, respiratorische Alkalose wird über vermehrte renale Ausscheidung von Bikarbonat kompensiert, wodurch aber auch die Pufferkapazität des Blutes vermindert wird (de Marees, 1981).

Schon kurze Aufenthalte unter Hypoxie, wie beispielsweise der Schlaf unter hypoxischen Bedingungen, führen zu einer geringen Zunahme der Hämoglobinkonzentration (Schmidt, 2002).

Im Bestreben, die verschiedenen Effekte des Höhengaufenthaltes besser zu charakterisieren, finden seit Beginn der neunziger Jahre Experimente statt, in denen Teilkomponenten der Höhenantwort des Organismus untersucht werden. Dabei hat eine wesentliche Erkenntnis aus der Grundlagenforschung der Applikationsforschung eine klare Richtung gegeben. Die Produktion von Erythropoietin in Nierenzellen wurde als kausale Antwort dieser Zellen auf Hypoxie, neben der Expression von Genen des vascular endothelial growth Faktor (VEGF), (Goldberg und Schneider, 1994) glycolytischer Enzyme (Semenza et al., 1994), und erhöhter Produktion von mRNAs Myoglobin codierend (Hoppeler, 2001), charakterisiert. Dabei nimmt ein zellulärer Sauerstoffsensoren die Hypoxie wahr und induziert die Produktion eines Transkriptionsfaktors. Dieser Hypoxia Inducible Factor 1 (HIF 1) steuert die erhöhte Synthese des Erythropoietins (Semenza, 2000). Interessanterweise verfügen alle in diesem Zusammenhang untersuchten Zellen des Körpers über Sauerstoffsensoren und das HIF 1-System, so auch die Skelettmuskulatur (Wiener et al. 1996). In Anbetracht der Wichtigkeit des Sauerstoffs für den Metabolismus aller Zellen im komplexen Organismus scheint dies nicht weiter verwunderlich. Vogt et al. (1999) studierten dieses System in der Muskelzelle und konnten dabei zeigen, dass die Muskelzelle, unabhängig von der Trainingsintensität, wahrnimmt, ob ein Training in Hypoxie oder Normoxie stattfindet. Dies würde die Durchführung eines Hypoxietrainings zur Leistungssteigerung unterstreichen. Training unter geringem atmosphärischem Druck ist zur Leistungssteigerung geeignet, da es einen Hypoxiestatus verursacht, der die O₂ Transportkapazität verstärkt (Kuno et al., 1994) und ein Stimulus für die EPO-Synthese sein mag (Fisher, 1988). Nur bei Training in Hypoxie findet nämlich eine

erhöhte Transkription von mRNA für die regulativ aktive Untereinheit von HIF 1 statt (Vogt, 1999). Die direkten Konsequenzen einer HIF 1-Aufregulierung auf molekularer Ebene sind derzeit noch nicht detailliert geklärt. Hinweise gibt es jedoch aus Untersuchungen an HIF 1-defizitären Mäusen, bei welchen der Mangel an HIF 1-Protein zu einer verzögerten Zunahme des Hämatokrits, der Hypertrophie des Herzens sowie des Körpergewichts in Hypoxie führte (Yu et al. 1999). Levine und Stray-Gundersen (2001) laufen hier konform mit der Aussage, dass die Effekte des Hypoxietrainings eher durch die Aklimatisationsvorgänge verursacht sind, als durch das Training unter höhenklimatischen Bedingungen.

Dauert die Höhenexposition länger an und es entsteht ein längerfristiger Sauerstoffmangel im Gewebe, wird vermehrt, hauptsächlich von der Niere (etwa 90%) aber auch der Leber (etwa 10%), Erythropoetin gebildet und ausgeschüttet (Ahlers, 1992). Hier gibt es individuell unterschiedliche Höenschwellen (Witkowski et al., 2002). In der Unterdruckkammer (540 hPa) werden beim Menschen bereits nach 90 Min. Erhöhungen der Erythropoetin-Konzentration im Plasma gefunden (Rodriguez et al., 2000). Dies bewirkt im Erfolgsorgan, dem Knochenmark, die vermehrte Bildung von Erythrozyten nach Stimulation der Vorläuferzellen des erythroiden Systems. Verschiedene Untersuchungen von De Paoli Vitali et al. (1988) und Schwandt et al. (1991) am Menschen bestätigen dies. Hier anschließend fanden auch Schena et al. (2002), Erhöhungen der Erythropoetinkonzentration nach einem 9tägigen Höhentaining in 3100m sowohl bei trainierten - hier signifikant - als auch bei untrainierten Menschen. Es entsteht eine Polyglobulie. Dadurch wird, zeitverzögert, dem Organismus die Möglichkeit gegeben, als Gegenregulation zum verminderten Sauerstoffpartialdruck, vermehrt Sauerstoff im Blut transportieren zu können und somit den gesteigerten Bedarf zu decken. Pferde, die während eines Höhenaufenthaltes von 3800m untersucht wurden, reagierten nach 9 Tagen mit einem Anstieg der Erythrozytenzahl (Greene et al., 1999; Greene et al., 2000; Wickler und Anderson, 2000).

Darüber hinaus gibt es weitere physiologische Anpassungsmechanismen die eine Steigerung der Leistungsfähigkeit unterstützen, wenn wieder Meereshöhe erreicht wird, wie etwa eine Zunahme der Muskelkapillarisation (Banchemo, 1975) und die Erhöhung der metabolischen Kapazität der Muskulatur (Greene et al., 1992; Bigard et al. 1991).

2.3 Spezielle negative Auswirkungen der Höhe auf den Organismus

Nicht mehr lediglich nur aus einem elementaren Nutzen heraus, sondern um einem zunehmenden Bestreben der Bergsportbegeisterten sich präventiv auf Höhenexpeditionen vorzubereiten und Ursachen und Wirkungen hypoxiespezifischer pathologischer Veränderungen des Organismus bei Mensch und Tier zu verstehen, sind einige Krankheitsbilder charakterisiert worden:

Zur akuten Berg- oder Höhenkrankheit (acute mountain sickness, AMS) kann es kommen, wenn zu schnell eine zu große Höhe erreicht wird. Durch den erniedrigten O₂-Partialdruck in zunehmender Höhe sinken ebenfalls der alveolare und der arterielle O₂-Partialdruck. Daraus resultiert ein O₂-Mangel in den Geweben, dessen erste Symptome sich an besonders empfindlichen Zellen (Nervenzellen, Gehirn) zuerst manifestieren. Möglicherweise ist dieses Syndrom mit verursacht durch eine höhere Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke. Für diese sind auch Schäden und Integrationsstörungen der Zellmembranen, unter anderem verursacht durch oxidativen Stress, mitverantwortlich (Roach et al., 2000; Roach und Hackett, 2001).

Das Krankheitsbild des Dysbarismus entsteht, wenn plötzlich Gase in Bläschenform im Blut und Gewebe frei werden oder sich in den Körperhöhlen und im Blut, bedingt durch Luftdruckabnahme in großen Höhen (Boyle-Mariotte-Gesetz), ausdehnen. Die Folge können kolikartige Dehnungsschmerzen der Hohlorgane sein. Weitere Komplikationen, wie Blutdruckabfall durch Stimulation des Parasympathicus, mit Schocksymptomatik können den Zustand verschlimmern (Bailey und Davies, 1997). Bläschenbildungen im Blut und den Gelenken können zu Gefäßverstopfung und Gelenkschmerzen führen. Die Problematik wird durch die zunehmende Konzentration an Stickstoff, das im Gegensatz zu Sauerstoff nahezu nicht an Stoffwechselfvorgängen teilnimmt, verschlimmert. Dieses kann sich zu immer größeren Blasen sammeln und endlich kleine Gefäße verstopfen, bis hin zur Luftembolie (Aeroembolismus). Auch der Flexibilitätsverlust der Erythrozyten (Simon-Schnass und Pabst, 1988) führt zu einer Veränderung der Fließeigenschaften des Blutes (Maeda und Takeshi, 1994), wodurch der Gesamtzustand nochmals verschlimmert werden kann.

Das höhenbedingte Lungenödem (high altitude pulmonary edema, HAPE), verursacht durch eine Vasokonstriktion im Lungengewebe, welche den arteriellen Druck in der Lunge steigert und so das HAPE verursacht (Wickler und Greene, 2003). Beispielsweise ist der Druck in der Lunge bei akuter Höhenexposition um 60% erhöht. Nach 7 Tagen immerhin noch 34% (Greene et al., 1999). In diesen Symptomkomplex ist auch das höhenbedingte Cerebralödem (high altitude cerebral edema, HACE) einzuordnen.

Mit der Höhenexposition findet ein gesteigerter oxidativer Stress statt (Jefferson et al., 2004), der während der Zeit des Aufenthaltes zunimmt und noch einige Zeit nach Rückkehr zu Meereshöhe anhält (Hornbein, 2001; Joanny et al., 2001; Neubauer, 2001; Askew, 2002). Dieser hat einige negative Auswirkungen auf komplexe Systeme.

Es kommt zu vermehrten DNA-Strang Unterbrechungen (Moller et al., 2001). Bereits nach 60 Minuten kommt es zu einem Anstieg von Serum Lipidperoxiden (Wing et al., 2001).

In der Höhe besitzt das Sonnenlicht eine wesentlich höhere Strahlungsintensität. Dadurch bedingt kann es zu Hautschädigungen durch UV-Strahlung kommen. UVA und UVB Strahlung penetriert die Epidermis und verursacht dort Gewebsschäden (Fuchs und Packer, 1991). Schon in 1500 m Höhe hat sich die UV-Strahlung, bedingt durch geringeren Staubgehalt der Luft, verringerte Absorption des Lichtes und die durch Eis und Schnee bedingte Reflexionswirkung, verdoppelt. Im Gegensatz hierzu werden in Meereshöhe bis zu 30% der UV-Strahlung durch die Atmosphäre absorbiert. Die Symptome entsprechen denen des Sonnenbrandes mit Verbrennungen bis hin zu drittgradigen Gewebnekrosen einschließlich Schocksymptomatik. UV-Strahlung kann die Bildung von ROS fördern (Erlenfeld, 2005). Hingewiesen sei hier auch auf die potentiell kanzerogene und mutagene Wirkung der UV-Strahlung.

Kommt dazu noch ein Kältestress, wie er durch die klimatischen Gegebenheiten in Gebirgsregionen einerseits entsteht und durch Wind in Verbindung mit der entstehenden Verdunstungskälte durch Transpiration durch körperliche Anstrengung potenziert wird, manifestiert sich dies in Verschlimmerung durch oftmals nicht bemerkte Dehydratation und entstehende freie Radikale in der CIVD (cold induced vasodilation, Purkayastha et al., 1999). Dadurch wird in Summe die physiologische Leistungsfähigkeit herabgesetzt (Askew, 1995, 1997; Cymerman, 1996; Huey und Eguskitza, 2001). Weiteres Resultat ist eine reduzierte Muskelfunktion (Brooks et al., 1999; Hoppeler und Vogt, 2001; Schoene, 2001).

2.4 Training und Leistungsfähigkeit in der Höhe

Seit etwa der zweiten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts wird die Auswirkung des Hypoxietrainings auf die Leistungsfähigkeit des Organismus genauer erforscht. Untersuchungen an Menschen liefern regelmäßig erhöhte Erythrozytenzahlen nach einem Höhentrainingsaufenthalt ab Höhen von etwa 2000 m. So sind die Werte durchschnittlich zwischen 5-12 % gegenüber den Ausgangswerten erhöht (Böning, 1997).

Um gute physiologische Leistungen in der Höhe zu erbringen, ist ein vorbereitendes Training unter entsprechenden hypoxischen Bedingungen unumstrittene Voraussetzung. Über die Effizienz darüber, ob ein solches Höhentaining die Leistungsfähigkeit in Meereshöhe mehr steigern kann, als ein vergleichbares Training dort, gibt es kontroverse Diskussionen (Jackson und Sharkey, 1988). Aufgrund der Bedeutung von Sauerstofftransport und Sauerstoffverwertung im Muskel für Ausdauerleistungen hat sich das Hypoxietraining als Vorbereitungsmaßnahme für Wettkämpfe im Flachland verbreitet. In der Höhe sinkt die maximale O₂-Aufnahme. Deshalb ist für gleiche Leistung das Training in der Höhe belastender für den Organismus. Um die besondere Qualität des Höhentrainings nachzuweisen, wurde von verschiedenen Autoren die Leistung untersucht.

Tabelle 1: Leistung nach Höhen- oder Hypoxietraining mit relativ gleicher Intensität wie in Normoxie

Autor (Jahr)	Höhe (m)	Dauer (Tage)	Max Leistung	VO₂ max	Ausdauer
Roskamm (1969)	2250 3450	- 28	↑	↑	
Mellerowicz (1970)	1800 2500	- 28	↑	↑	
Liesen (1972)	1959 2800	- 14		↑	
Meller (1976)	2050	28	↑	↑	
Mizuno (1990)	2100 2700	- 14	0	0	↑
Svedenhang (1991)	2000	14		0	↑
Hoppeler (2001)	3600 4000	- 60	↑	↑	

Die Überprüfungsmethoden von Ausdauer und Leistung waren dabei unterschiedlich, jedoch sind durchweg Verbesserungen gefunden worden.

Bemerkenswert ist, dass das Maultier gegenüber dem Haflinger höhere Hämoglobinkonzentrationen (Hurson et al., 2002), höhere Myoglobinkonzentrationen (Kolb, 1963) und eine höhere aerobe Kapazität der Muskulatur (Greene et al., 1995) besitzt, was es dem Haflinger schon unter normalen und normoxischen Bedingungen überlegen erscheinen lässt. Untersuchungen von Wickler et al. (2003) stützen diese Überlegung und fanden, dass Maultiere sich besser als Pferde an die hypoxischen Verhältnisse in Höhe anpassen, sowohl in Ruhe, als auch unter Belastung.

Der Erfolg des Höhentrainings kann hauptsächlich auf den höheninduzierten Anstieg des Erythropoietins zurückgeführt werden. Training in Kombination mit einem Höhenaufenthalt verstärkt die produktionssteigernde Wirkung durch vermehrte Erythropoetinausschüttung (Ferretti et al., 1992). Der dadurch erreichte Anstieg der Erythrozytenzahlen und der Hämoglobinkonzentration ermöglicht bei gleichem Herzminutenvolumen einen größeren Sauerstofftransport in die Peripherie (Ferretti et al., 1992). Etwa die Hälfte dieses peripheren Mehrangebotes an Sauerstoff kann von den Mitochondrien der arbeitenden Skelettmuskeln genutzt werden. Daraus resultiert eine verbesserte aerobe Leistungsfähigkeit (Vogt et al., 1999).

2.5 Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit

In einem Zeitraum von mehr als 50 Millionen Jahren haben sich bei den Wildpferden die Bewegungsorgane auf eine hohe Laufgeschwindigkeit (Zehenspitzenläufer) über lange Strecken spezialisiert, wobei eine natürliche Selektion der Tiere mit besonders hoher Leistungsfähigkeit stattfand. Nach der Domestikation wurde eine Selektion von Pferderassen für den schnellen Transport, für die Jagd und für militärische Zwecke durch den Menschen nach den Gesichtspunkten hoher Leistungsfähigkeit der Bewegungsorgane vorgenommen (Legel, 1993). Bezüglich der Geschwindigkeit und Ausdauer bei der Bewegung stehen auf Rennleistung gezüchtete Pferde unter den verschiedenen Arten mit an der Spitze. Auf kurzen Strecken sind sie allerdings weniger leistungsfähig als einige andere Tierarten (Tab. 2).

Tabelle 2: Höchstgeschwindigkeiten bei verschiedenen Arten beim Lauf auf kurzer Strecke in km/h

Rennpferd	70	Zebra	40
Elefant	25	Mensch	36
Hirsch	40	Antilope	80
Giraffe	45	Windhund	90
Wolf	60	Gepard	120

Das Pferd besitzt einen hohen Anteil an ST- (slow twitch) oder Typ I-Fasern, auch als rote Muskelfasern bezeichnet. Diese weisen eine hohe Leistungsfähigkeit bei geringer Ermüdbarkeit auf (Kolb, 1989), da sie dünner sind, als die Typ II b- und Typ II a-Fasern, relativ wenig Myofibrillen enthalten, jedoch mehr Mitochondrien, was sie zu einer hohen Oxidationskapazität befähigt. Training bewirkt eine verbesserte Kapillarisation des Muskels, Vermehrung und Vergrößerung der Mitochondrien, wodurch die Leistungsfähigkeit der Muskulatur zunimmt (de Marees, 1981). Bei intensiver körperlicher Leistung reicht die Sauerstoffversorgung der Muskulatur nicht mehr aus, um Glucose als Oxydationssubstrat vollständig zu verbrennen. Es kommt zur erhöhten Bildung von Laktat.

Laktat entsteht bei intensiver Muskelarbeit durch den anaeroben Abbau von Glucose im Muskelgewebe und den Erythrozyten durch die Reduzierung von Pyruvat mittels Nicotinamiddinucleotid. Die Synthese zu Glucose und Glykogen über Pyruvat erfolgt in der Leber (Cori-Zyklus). Die Bildung von Laktat und die Konzentration im Plasma ist ein Maß für die physische Leistungsfähigkeit und von der Dauer und Intensität der Belastung abhängig (Hodgson und Rose, 1994). Wird mehr Laktat produziert als verstoffwechselt, kommt es zum Anstieg. Der Anstieg ist umso geringer, je besser das Pferd trainiert ist. Jedoch auch die Abnahme der Laktatkonzentration in der Zeiteinheit kann zur Einschätzung des Trainingszustandes verwendet werden (von Engelhardt et al., 1973).

Ebenfalls bei körperlicher Anstrengung wird durch Sympathicus-Aktivierung die Herzschlagfrequenz gesteigert. Maximal möglich sind beim Pferd 4 Schläge je Sekunde, was einer Herzschlagfrequenz von 240/min entspricht und womit die physiologische Grenze von Herzschlägen erreicht ist (von Engelhardt, 1979). Nach

Beendigung der Belastung fällt die Herzschlagfrequenz im Verlaufe von 2 bis 20 Minuten auf den Ruhewert ab. Die Abnahme erfolgt umso schneller, je besser der Trainingszustand ist. Herzfrequenzen ab etwa 160 Schlägen/min werden bei einem Galopp erreicht.

Adenosintriphosphat (ATP) ist die Energiequelle für den Muskel. Zur Energiegewinnung wird es hydrolytisch gespalten. ATP des Muskels wird innerhalb weniger Sekunden nach beginnender Muskelbelastung verbraucht. Aus Kreatinphosphat kann anschließend noch für einige Sekunden ATP resynthetisiert werden. Dauert die Muskularbeit an, wird ATP vorwiegend durch die anaerobe Glykolyse bereitgestellt. Dabei wird Laktat gebildet. Der Laktatspiegel steigt an und kann erst nach Beendigung der Arbeit oxidativ abgebaut werden. Die Laktatkonzentration kann bei physischer Belastung von Ruhewerten unter 0,9 mmol/l auf um bis zu 60-fach erhöhte Konzentrationen ansteigen (von Engelhardt, 1992).

Es sind unterschiedliche Konzepte zur genauen Überprüfung der körperlichen Leistungsfähigkeit auf Basis der Laktatkonzentration entwickelt worden. Dabei steht jedoch die erwünschte Art der Nutzung vor der reinen physischen Ausdauer im Vordergrund. Speziell gibt es zweierlei Ansätze. Erstens wird der Anstieg des Laktatwertes im Blut bis zum Erreichen eines bestimmten Schwellenwertes (Vereinbarungsgemäß bei 4.0 mmol/l) bei definierter Belastung (Trilk et al., 2002) gemessen. Je schneller dieser Erreicht wird, desto schlechter der Leistungsstand. Zweitens kann nach Ende einer Belastung die Laktatkonzentration gemessen werden (Kolb, 1989). Je rascher diese sinkt, desto besser ist der Stand der körperlichen Leistungsfähigkeit. Es ist immer angezeigt, die Herzschlagfrequenz parallel aufzuzeichnen und im engen Zusammenhang stehend auszuwerten (Munoz et al., 1997). Auch hier gilt, je schneller die Abnahme nach Belastung, desto besser der Trainingszustand. Ein Problem stellt dabei das Maß der Belastung dar. Nur mit dem Laufband sind immer gleiche Belastungen zu erreichen. Feldversuche, die ohne dieses Hilfsmittel auskommen müssen, sollen annähernd die gleiche Belastung liefern, sind aber nicht standardisiert. Hier hat sich das Festlegen eines, der jeweiligen topographischen Gegebenheiten angepassten, so genannten standardisierten Belastungstests (engl.: standardized exercise test, SET), bewährt. Dabei ist regelmäßig darauf zu achten, dass jede einzelne Untersuchungseinheit unter möglichst kongruenten Bedingungen durchgeführt wird. Beschriebenen Untersuchungen unter Feldbedingungen ist nach einer unterschiedlich langen Aufwärmphase eine ansteigende Belastung gemeinsam. Diese wird auf unterschiedliche Weise erreicht. Davie et al. (2002) belasten Rennpferde mit 2 Laufstrecken von jeweils 1600 m unterbrochen von 5 Minuten Schritt. Bei Forschungen von White et al. (2001) wurde eine Wegstrecke von max. 1200 m, die in maximaler Geschwindigkeit zurückgelegt werden sollte, als SET definiert. Skarda et al. (1976) belastete mit einer Strecke von 1800 m. In den Untersuchungen von Mills et al. (1996) wurden die Belastungen in Intervallen von 2-20 Minuten mit jeweils Schritt, Trab und Galopp gesteigert. Es gibt keinen eindeutig definierten, allein gültigen SET.

2.6 Bildung von Sauerstoffradikalen und oxidativer Stress

Freie Radikale sind Moleküle, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzen. Ihre hohe Reaktivität resultiert aus dem Bestreben, ein Elektron mit entgegengesetztem Spin zu erreichen (Asmus und Bonifacic, 2000). Hierzu gehören einerseits die reaktiven Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species, ROS): Das Superoxid-Radikal O_2^- und Hydrogenoxid-Radikal OH^- . Andererseits nicht-radikalische Sauerstoff-Derivate wie Wasserstoffperoxid H_2O_2 , Ozon O_3 und hypochlorige Säure $HOCl$ (Halliwell, 1994).

Bereits während physiologischen Stoffwechselbedingungen in Ruhe und ebenso bei pathologischen Zuständen entstehen bei der mitochondrialen Zellatmung permanent freie Sauerstoffradikale (Halliwell, 1994; Halliwell und Gutteridge, 1985). Für etwa 25 verbrauchte O_2 Moleküle in den Mitochondrien rechnet man mit der Bildung von einem O_2^- Radikal (Kanter, 1998).

Im Verlauf der Atmungsketten-Phosphorylierung entsteht durch Reduktion von molekularem Sauerstoff das Superoxid-Radikal O_2^- (Fridovich, 1986; Halliwell, 1997). Reagieren zwei dieser Radikale entsteht, katalysiert von der Superoxid-Dismutase (SOD) und unter Anwesenheit von H^+ , Wasserstoffperoxid H_2O_2 . Diese Reaktion kann auch spontan stattfinden, jedoch ist die Reaktionsrate unter Enzymkatalysierung bedeutend höher (Butler und Halliwell, 1982; Forman und Fridovich, 1973; McCord und Fridovich, 1969).

Weiterhin entstehen Sauerstoffradikale beim Purinabbau über die Xanthinoxidase (McCord, 1985). Im Verlauf der Arachidonsäurekaskade, über die Cyclooxygenase und Lipooxygenase, bei Detoxifikationsprozessen mittels dem Zytochrom P-450 System.

Ebenso im Anschluss an die Phagozytose (besonders Neutrophile und Makrophagen). In den neutrophilen Granulozyten bildet sich an der Stelle der Aufnahme eines Bakteriums ein Phagosom aus. In diese Vakuole werden dann Hydrolasen aus den neutrophilen Granula und Peroxidase und D-Aminosäureoxidase aus den Peroxisomen abgegeben. Unter dem Einfluss der Proteasen und anderer Enzyme wird die Membran der Bakterien aufgelöst, und diese werden abgebaut. Bei der Zerlegung der Bestandteile der Mikroorganismen spielt die örtliche Bildung folgender Verbindungen eine Rolle:

Superoxid-Anionen: Molekularer Sauerstoff hat im nicht angeregten Zustand 2 ungepaarte Elektronenpaare, deren Spin in gleicher Richtung liegt. Wird ein Elektron eingefangen, entsteht das Superoxid-Radikal O_2^- , welches bakterizide Wirkung besitzt und als Oxidationsmittel wirkt.

Hydroxylradikale: Wirken stark oxidierend und entstehen beispielsweise bei der Reaktion von Superoxid-Anionen mit H_2O_2



Die Bildung von Anionen, Hydroxylradikalen und angeregten O_2^- Molekülen spielt auch beim Abbau von Parasiten durch eosinophile Granulozyten sowie bei der Zerstörung von Tumorzellen durch Makrophagen und Granulozyten eine Rolle.

Die so entstehenden Radikale werden unter physiologischen Bedingungen durch ein komplexes antioxidatives Schutzsystem abgefangen. Oxidativer Stress entsteht, wenn zu viele und, oder zu lange freie Radikale gebildet werden (Sies, 1991; Viguie et al., 1993; Halliwell, 1997; Ohlenschläger, 2000).

Nitritoxid (NO) kann ebenfalls mit Superoxid reagieren und Peroxinitrit ($ONOO^-$) bilden (Pryor und Squadrito, 1995). Peroxinitrit hat eine lange Halbwertszeit und kann Membranen passieren (Suzuki, 1990).

2.7 Bildung und Bedeutung von Sauerstoffradikalen bei körperlicher Belastung

Freie Radikale und aktivierte Sauerstoffmoleküle werden kontinuierlich als Nebenprodukte des physiologischen und pathologischen Stoffwechsels gebildet. Körperliche Belastung verstärkt deren Bildung (Jackson, 1994). Hauptsächlich dafür verantwortlich ist die Bildung von O_2^- aus O_2 im Prozess der oxidativen Phosphorylierung (Jenkins, 1988; Sjodin et al., 1990). Erreicht die Muskelarbeit ein Maximum, nimmt der Sauerstoffverbrauch in den Mitochondrien bis auf das 100fache des Ruhewertes zu. Die so ebenfalls vermehrte Freisetzung von Sauerstoffradikalen in das Zytosol führt durch Übersteigerung der Kapazität der antioxidativen Schutzmechanismen zum oxidativen Stress (Chandan, 1995).

Weiterhin entstehen während des Abbaues von Purinen, mittels der Xanthinoxidase, insbesondere nach körperlicher Anstrengung, Sauerstoffradikale (Hellsten, 1994). Durch die gestörte Synthese von ATP aufgrund des ischämiebedingten Energiemangels bei maximaler körperlicher Leistung, werden AMP, Adenosin, Inosin und Hypoxanthin gebildet (Jackson, 1994; Hellsten, 1994). Die Xanthinoxidase, induziert durch Ischämie aus der Xanthindehydrogenase, welche Elektronen auf NAD^+ überträgt, katalysiert die Entstehung von Xanthin aus Hypoxanthin und weiterhin Harnsäure, wobei es Elektronen direkt auf molekularen Sauerstoff überträgt und Sauerstoffradikale gebildet werden (Kelly, 1993; Gürke et al., 1995). Hypoxanthin, Xanthin und Harnsäure sind erhöht im Blut von Rennpferden nach körperlichen Anstrengungen gemessen worden (Mills et al., 1996).

Überdies führt die unzureichende Versorgung und Bildung von ATP zu einer verminderten Funktion der ATP-abhängigen Kalziumpumpe der Muskelzelle. Die folgende Anhäufung von Kalzium in den Mitochondrien, dem Ort der oxidativen Phosphorylierung, verstärkt die Aktivität einer Kalzium-aktivierten Protease, welche die vermehrte Reaktion von Xanthindehydrogenase zu Xanthinoxidase katalysiert, welche dann wiederum vermehrt Harnsäure und O_2^- aus Hypoxanthin bildet (Hoshikawa et al., 2001).

In Addition zur Xanthinoxidase Aktivierung durch Protease führen ansteigende Kalziumkonzentrationen zur Aktivierung der Phospholipase A₂, die Arachidonsäure von Membranlipiden freisetzt (Mobanraj et al., 1998). Cyclooxygenase kann dann mit der Arachidonsäure reagieren und zugleich Singulett-Sauerstoff und Hydroxyl-Radikale bilden.

Ein weiterer Faktor, der körperliche Belastung in Beziehung mit der Bildung freier Radikale setzt, ist die Autoxidation von Catecholaminen (Evans und Halliwell, 2001). Die Blutspiegel an Catecholaminen steigen durch physische Belastung und Hypoxie an (Sandoval und Matt, 2002). Die Autoxidation von Monoaminen, wie beispielsweise Dopamin, produziert beides: O_2^- und H_2O_2 (Bindoli et al., 1992).

Ist die körperliche Anstrengung zu stark, und entstehen dadurch Schäden in den Muskelzellen, kommt es unter anderem zu einer Infiltration mit neutrophilen Granulozyten und Makrophagen (Belcastro et al., 1996). Es resultiert eine akute Entzündungsreaktion (Evans und Cannon, 1991; Smith, 1991). Durch Aktivierung der Phagozyten werden unter hohem Sauerstoffverbrauch OH^- Radikale,

Wasserstoffperoxid H_2O_2 und Superoxid O_2^- erzeugt. Dieser "respiratory burst" wird katalysiert durch die NADPH-Oxidase der Membranen. H_2O_2 wird weiterhin in Anwesenheit von Chloridionen durch die Myeloperoxidase zu hypochloriger Säure HOCl. Aber nicht nur Bakterien werden so neutralisiert, sondern auch, durch Reaktion dieser Radikale mit Zellstrukturen (McCord, 1993), ein Integritätsverlust der Muskelzellmembran festgestellt (Ebbeling et al., 1989).

Wie schon erwähnt, besitzen freie Radikale ein ungepaartes Elektronenpaar und weisen eine hohe Reaktivität auf. Die relevantesten Sauerstoffradikale sind das Superoxidanion O_2^- , Wasserstoffperoxid H_2O_2 , das Hydroxylradikal OH^\cdot und der Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2$. Diese sind potentiell fähig, unmittelbar mit Membranlipiden, Proteinen und Nukleinsäuren zu reagieren und somit die Integrität zu schädigen. So entstehen beispielsweise die, in dieser Studie als Radikalmarker gemessenen 4-Hydroxy-Nonenal modifizierten Proteine (HNE mod. Prot.). Das Reaktionsprodukt hat durch akut zytotoxische Wirkung viele negative Konsequenzen für den Stoffwechsel:

- Hemmung der DNA-, RNA- und Proteinsynthese
- Lipidperoxidation
- Verbrauch von antioxidativen Schutzsystemen
- Störung der Ca-Homöostase.

Konzentrationen von $<0,1 \mu\text{mol/l}$ kommen unter physiologischen Bedingungen im Plasma und Geweben vor. Sie wirken auf neutrophile Granulozyten chemotaktisch (Esterbauer et al., 1991) und sind damit potentiell befähigt, Entzündungsreaktionen auszulösen. Weiterhin soll insbesondere auf die tumoröse Entartung des Gewebes durch oxidative Veränderungen und Schäden an DNA und RNA Strukturen hingewiesen werden, mit der Konsequenz der Auslöschung biologischer Information und genetischer Regulationen (Ohlenschläger, 2000).

2.8 Antioxidantien im Organismus

Antioxidantien sind Verbindungen, die selbst oxidiert werden und damit andere Substanzen vor der Oxidation bewahren können (Sen, 1995).

Der Organismus muss möglichst effizient vor Oxidation geschützt werden, um das komplizierte Zusammenspiel des Stoffwechsels zu gewährleisten und die Zellbestandteile, wie Proteine, Lipide, Kohlenhydrate und Nucleinsäuren, abzusichern.

Es werden enzymatisch wirksame und nicht enzymatische Antioxidantien unterschieden (Halliwell und Gutteridge, 1990; Chow, 1991; Michiels et al., 1994). Zu den Ersten gehören die Superoxiddismutase, die Katalase und die Glutathionperoxidase. Diese sind gleichsam die wichtigsten antioxidativen Enzyme (Fridovich, 1995). Zu den Letzteren Vitamin C und Vitamin E, Flavonoide und Tannine, β -Carotin, sowie Harnsäure, Coenzym Q₁₀, L-Cystein, L-Methionin, Liponsäure und das reduzierte Glutathion. Viele antioxidativ wirksame Substanzen werden vom Organismus selbst synthetisiert oder exogen über die Nahrung zugeführt (Sen et al., 1994).

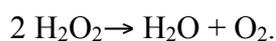
Von diesen sind folgende antioxidativ wirksamen Enzyme und Antioxidanzien für diese Studie von besonderem Interesse:

Die Superoxiddismutase (SOD) katalysiert die Reaktion von Superoxid-Radikalen zu Wasserstoffperoxid:



Das Enzym benötigt Mangan (Mn-SOD) und ist in den Mitochondrien zu finden. Die Kupfer- und Zink-SOD (CuZn-SOD) arbeitet im Zytosol.

Anschließend katalysiert die Katalase Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff:



Die Glutathionperoxidase ist Selenhaltig und wandelt Glutathionsulphydryl (GSH) in Anwesenheit von H₂O₂ zu Glutathiondisulfid (GSSG) und Wasser um:



Ebenso kann, gleichsam katalysiert von der GSHPx, GSH unmittelbar mit Hydroperoxiden, beispielsweise Lipidperoxiden, reagieren:



Vitamin C leitet sich von einem Aldehydzucker, der 1-Glucose, ab. Der Bedarf wird bei den Equiden, wie bei fast allen Haus- und Nutztieren, durch Eigensynthese in der Leber gedeckt (Kolb, 1989). Sie stellt das Gamma-Lacton der Ketogluonsäure dar. Die Enolform der Ascorbinsäure kann leicht unter Wasserstoffabspaltung in die Dehydroascorbinsäure übergeführt werden. Diese Reaktion ist reversibel (Wegger et al., 1984). Das hydrophile Vitamin C besitzt geringe Speichermöglichkeit im Organismus. Es kommt größtenteils im Cytosol und den Mitochondrien vor. Höchste Konzentrationen finden sich in der Hypophyse, Corpus luteum und der Nebenniere. Vitamin C schützt durch ein hohes Potential an Radikalfangaktivität vor ROS.

Die wirksamste Verbindung des Vitamin E ist das vom Tocol und Tocotrienol abgeleitete α -Tocopherol, welches in grünen Pflanzen vorkommt und dessen Gehalt mit zunehmendem Alter der Pflanzen abnimmt. Bei längerer Lagerung und Trocknung reduziert sich der Gehalt stark. So ist er nach 4 Monaten auf 10 % der ursprünglichen Menge abgesunken. Der Gehalt im Blut ist von der Versorgungslage abhängig. Es wird in der Leber und im Fettgewebe, ausreichend für mehrere Monate, gespeichert. Höchste Konzentrationen finden sich in Mitochondrienmembranen und Mikrosomen (Kolb, 1989). Vitamin E ist wichtigster fettlöslicher Radikalfänger. Es schützt Membranlipide vor der Oxidation. Dazu reagiert es mit Peroxyl-Radikalen. Dadurch wird es zwar selbst zum Radikal (Halliwell, 1994), ist aber weniger reaktiv. Durch Reaktion mit Vitamin C und Ubichinon wird es wieder zu α -Tocopherol.

3 Zielsetzung

Ziel der Studie war es, die Hypothese zu prüfen, dass durch das routinemäßige Hypoxietraining der Bundeswehr die physische Leistungsfähigkeit der Tragtiere erhöht, sowie der körpereigene Schutz gegen Sauerstoffradikale verstärkt wird. Dabei sollte insbesondere untersucht werden, ob die Radikalbildung und der oxidative Stress oder die Verbesserung des antioxidativen Schutzes durch Induktion antioxidativer Enzyme oder andere Mechanismen überwiegt.

Zur Beantwortung dieser Frage wurden jeweils vor und nach dem Hypoxietraining als Nachweis für auftretenden oxidativen Stress Radikalmarker (HNE-mod. Proteine und MDA) gemessen. Der antioxidative Status wurde mittels Aktivitäten antioxidativer Enzyme (GSHPx, SOD, CAT) und der gesamten antioxidativen Kapazität (TEAC), einschließlich der Vitamine C und E, bestimmt. Zur Einschätzung von Organschädigungen dienten die Aktivitätsmessungen von CK, AST, ALT und LDH. Ein Einfluss der Hypoxie auf die Sauerstofftransportkapazität wurde durch Messung von Hämatokrit, Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration erfasst. Feststellungen von Laktatkonzentrationen und Herzfrequenzabnahmen nach definierten Belastungen dienten zur Beurteilung der physischen Leistungsfähigkeit.

4 Material und Methoden

4.1 Versuchstiere

Als Tragtiere dienen der Bundeswehr Maultiere (Rieseneselhengst x Pferdestute) und Haflinger, deren Einsatz nach folgenden speziellen Richtlinien erfolgt: Die Tiere werden zur militärischen und ggf. zivilen Unterstützung (Almbewirtschaftung, Baumaterialtransport) in gebirgigen Regionen genutzt, die für Kraftfahrzeuge nicht zugänglich oder nicht befahrbar sind, oder wenn taktische Anforderungen deren Einsatz notwendig machen, da sie gegenüber Luftfahrzeugen geräuschärmer sind. Die Tiere tragen Lasten von maximal 120 Kilogramm. Darüber hinaus werden die Haflinger als Reittiere für Patrouillen genutzt.

Bei den untersuchten Tieren handelt es sich um den gesamten Tragtierbestand der Bundeswehr, Einsatz- und Ausbildungszentrum für Gebirgstragtierwesen 230, in Bad Reichenhall (437 m über Meereshöhe).

Der Höhengaufenthalt erfolgte jeweils im Rahmen einer militärischen Unterstützungsmaßnahme auf dem Gebirgstruppenübungsplatz Wattener Lizum, Wattens, Tirol (1700 - 2300 m über Meereshöhe).

Hier wurden im Winteraufenthalt für 10 Tage 15 Maultiere (12 weibl., 3 männl. kastriert; Alter: $15,5 \pm 4,8$ Jahre) eingesetzt.

Im Sommeraufenthalt waren 10 Maultiere (alle Stuten; Alter: $15,0 \pm 4,9$ Jahre) und 5 Haflinger (alle Wallache; Alter: $11,8 \pm 5,1$ Jahre) über 7 Tage in der Höhe. Davon musste ein Maultier wegen einer Leukozytose, ohne klinische Symptomatik, nachträglich aus der Studie genommen werden.

Das Vorhaben dauerte von Februar bis Oktober 2004.

4.2 Haltung, Fütterung und Training

Alle Tragtiere werden in Paddockhaltung mit Möglichkeit zur Einstallung auf einem separaten Gelände der Artilleriekaserne, Bad Reichenhall, gehalten.

An Futter wird den Tieren Heu ad libitum angeboten. Dazu kommen, morgens und mittags insgesamt 3 kg Hafer und, je nach Leistungsbedarf, Kraftfutter. Die erste Ration wird morgens, abhängig von den Abmarschzeiten so rechtzeitig gefüttert, dass eine ungestörte Futterraufnahme gewährleistet ist.

Während der Wintermonate werden die Tiere nur moderat, in Tagesmärschen im ebenen Gelände mit einer Traglast von 100 kg, etwa einmal pro Woche, bewegt. Zur angegebenen Nettolast addiert sich das Gewicht des speziellen Tragsattels von 46 kg. Jedes Tier wird von einem Soldaten geführt. In Ausnahmefällen können zwei Tiere hintereinander gekoppelt werden. Je nach Last, Geländebeschaffenheit und Weg können die Tiere bis zu 20 km und mehr pro Tag absolvieren. Die Haflinger werden zusätzlich, zweimal wöchentlich, in der Reithalle longiert.

Während der übrigen Zeit besteht das Training der Tragtiere in Übungsmärschen im gebirgigen Gelände, wieder mit einer Traglast von 100 kg. Die Anzahl dieser Märsche ist wöchentlich unterschiedlich und schwankt zwischen 1 und 3 Mal, abhängig vom jeweiligen Dienstauftrag. Haflinger werden überdies longiert.

In der Zeit von etwa November bis März sind witterungsbedingt die Aktivitäten der Tiere eingeschränkt. Dies bedingt ein jährlich wiederkehrendes Trainingsdefizit im Frühjahr.

4.3 Versuchsanordnung

Von den Tragtieren wurden jeweils 4 Tage vor (vHö) und 4 Tage nach (nHö) einem Höhengaufenthalt venöse Blutproben genommen.

Der Höhengaufenthalt im Winter dauerte 10 Tage und fand im Zeitraum vom 02.-11. März 2004 statt.

Im Sommer dauerte die Höhengexposition 7 Tage und erfolgte im Zeitraum 12.-18. Juli 2004.

Zusätzlich sind die Haflinger, vor und nach dem Sommerhöhengtraining, mit zunehmender Belastung longiert worden (Standardized Exercise Test, SET). Die Herzfrequenz wurde dabei aufgezeichnet und zu definierten Zeiten der Laktatwert im venösen Blut bestimmt, um dadurch Aussagen über die körperliche Leistungsfähigkeit machen zu können. Hierzu wurde die Herzfrequenzabnahme und die Laktatkonzentration bestimmt. Zusätzlich wurde eine Vergleichsgruppe von 5 Haflingern (alle Wallach, Alter: $13,6 \pm 6,2$ Jahre) untersucht, die kein Hypoxietraining absolvierte.

Zum Abschluss der Untersuchung wurden, 2 Monate nach Beendigung des 2. Höhengaufenthaltes, venöse Blutproben aller an der Studie teilnehmenden Tragtiere entnommen und ausgewählte Parameter (Hämatokrit, Hämoglobingehalt, Erythrozytenzahl) bestimmt. Zusätzlich wurde bei den Haflingern die Herzfrequenzabnahme und Laktatkonzentration nach einem SET gemessen, um längerfristige Effekte erfassen zu können.

4.4 Probennahmezeitpunkte

Vor der Probennahme erfolgte eine eingehende klinische Untersuchung. Kranke Tiere wurden von der Studie ausgeschlossen

Um möglichst standardisierte Versuchsbedingungen einzuhalten, wurde das Blut jeweils unmittelbar vor der Morgenfütterung entnommen und die Tiere möglichst nicht beunruhigt.

Überdies wurde den zu untersuchenden Haflingern im Rahmen der Überprüfung der physischen Leistungsfähigkeit unmittelbar nach Beendigung eines SET (Zeitpunkt T₀, siehe Tab. 4) eine venöse Blutprobe entnommen und sofort der Laktatwert bestimmt.

Die Belastungstests (SET) der Haflinger erfolgten zu folgenden Zeitpunkten (Tab. 3):

Tab. 3: Datum der SET

Höhengruppe:	
Winter	04. März 2004
Sommer vHö	08. Juli 2004
Sommer nHö	15. Juli 2004
Herbst	09. September 2004

Vergleichsgruppe:	
Winter	04. März 2004
Sommer	15. Juli 2004
Herbst	09. September 2004

4.5 Entnahme und Konservierung der Blutproben

Die Blutprobenentnahme erfolgte aus der Vena jugularis externa nach Desinfektion der Einstichstelle (2-Propanol 70 % , Heiland). Dazu wurde die Vene gestaut, somit sichtbar gemacht und mit einer sterilen Einmalinjektionskanüle (S-Monovette-Kanüle 21Gx1,5, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht) punktiert. Die Entnahme des Blutes erfolgte jeweils in eine Serummonovette (S-Monovette 9,0 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht), eine EDTA-Monovette (Kalium-EDTA 9,0 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht) und eine Litium-Heparin-Monovette (Plasma Lithium-Heparin 9,0 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht), worin es sofort jeweils schonend durchmischt wurde.

Das gewonnene Blut in den Serumröhrchen stand eine Stunde bei Raumtemperatur und wurde danach 5 Minuten bei 2600 g zentrifugiert (Heraeus Sepatech Zentrifuge). Abschließend wurde das so als Überstand gewonnene Serum abpipettiert, auf 4 vorbereitete Eppendorf-Reaktionsgefäße verteilt und nach sicherem Verschluss in flüssigen Stickstoff eingebracht.

Die EDTA-Monovette wurde kühl (6°C) und schonend gelagert und innerhalb einer Stunde zur Analyse der verschiedenen Erythrozytenparameter (Hkt, Hb, Erythrozytenzahl) in das etwa einen Kilometer entfernte Labor Dr. Blendinger, Dr. Ende, Bad Reichenhall, Riedelstr. 16, zur dortigen Analyse verbracht.

Die gefüllte Litium-Heparin-Monovette wurde sofort 3 Minuten bei 2600 g zentrifugiert und das so als Überstand gewonnene Plasma auf 2 vorbereitete Eppendorf-Cups befüllt, pipettiert und nach sicherem Verschluss ebenfalls in flüssigem Stickstoff gelagert. Der in den Röhrchen verbliebene Erythrozytensatz wurden 3 mal mit NaCl, 0,9 % (Fa. Braun, Melsungen, Ch.-B.: 3233A 141A) gewaschen, dann 1:4 mit destilliertem Wasser (Fa. Braun, Melsungen, Ch.-B.: 9008D 320D) verdünnt und das so entstandenen Stammhämolyt auf 4 vorbereitete Eppendorf-Reaktionsgefäße pipettiert und danach in Stickstoff gelagert.

4.6 Bestimmungsmethoden

4.6.1 Erythrozytenparameter

Die EDTA-Blutproben wurden durch ein Gen-S Messgerät (Fa. Beckmann-Coulter) mittels Widerstandsänderungsmessung im Labor Dr. Blendinger, Dr. Ende, Bad Reichenhall analysiert.

Hämatokrit, Erythrozytezahlen und Hämoglobin wurden bestimmt.

4.6.2 Ausgewählte Parameter für Organschädigungen

In den Serumproben wurden die Enzymaktivitäten von Aspartat-Amino-Transferase (AST), Alanin-Amino-Transferase (ALT), Kreatinkinase (CK) und Laktat-Dehydrogenase (LDH) gemessen.

Die Analysen fanden im Labor der ersten Medizinischen Tierklinik der LMU München mit einem Hitachi 911 Autoanalyser (Boehringer, Ingelheim) statt.

4.6.3 Laktat

Die Bestimmung des Laktatgehaltes im venösen Blut erfolgte reflexionsphotometrisch bei 660 nm innerhalb weniger Sekunden nach der Probennahme mit einem Accutrend Lactate Analysegerät Typ 3012522 (Roche, Mannheim). Zur Anwendung kamen Messstreifen BM-Lactate.

4.6.4 Untersuchungen zur Beurteilung des antioxidativen Status

4.6.4.1 Messung der antioxidativen Kapazität (TEAC)

Gemäß der von Miller et al. (1996) beschriebenen Methode wurde der antioxidative Status bestimmt. Die TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) erfasst die antioxidative Kapazität und wird in mmol/l ausgedrückt.

Ein chromogenes Radikal-Kation (ABTS^{o+}, 2,2'-Azino-bis diammonium salt) wird in einer exakt eingestellten Konzentration vorgelegt und durch Zugabe von Antioxidanzien entfärbt. Die Abnahme der Grünfärbung misst man am Photometer bei 734 nm. Als Kalibrierungsstandard dient Trolox, ein Vitamin E ähnliches wasserlösliches Antioxidans.

4.6.4.2 Bestimmung der Vitamin C-Konzentration im Serum

Zur Anwendung kam eine modifizierte Methode nach Schüep et al. (1984). Diese dient der Bestimmung von Ascorbinsäure in Körperflüssigkeiten, Geweben und Nahrungsmitteln.

L-Ascorbinsäure wird durch den Zusatz von Jodlösung oxidiert, wodurch L-Dehydroascorbinsäure entsteht. Diese bildet mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin das 2,4-Phenylhydrazon, welches mit Ethylacetat extrahiert, wird 2,4-Phenylhydrazon abschließend quantitativ mittels HPLC (high pressure liquid chromatography) bestimmt.

HPLC-Analytik:

Pumpe:	Gynotek High Precision Pump Model 300 C, Flußrate 1,5 ml/min, Druck: ca. 60 bar.
Probengeber:	Kontron HPLC Autosampler 460
Probenvolumen:	20 µl
Analysezeit:	12 min
Säule:	Lichrosorb Si 60, 5 µm, 250 x 4,6 mm, Vorsäule.
Detektor:	Uvikon 735 LC, Fa Kontron Instruments, Wellenlänge 520 nm.

Die Auswertung der Proben erfolgte mittels einer Chromatographic-Software (Borwin®, JMBS Developments). Nach Integration der Peaks und Berechnung der Flächeninhalte wurden die Flächen der Proben mit denen der bekannten Standards verglichen und so die Vitamin C Konzentration der Proben berechnet.

4.6.4.3 Bestimmung der Vitamin E Konzentration im Serum

Die Vitamin E Konzentration wurde mit einer modifizierten Methode nach Westerberg et al. (1981) ermittelt.

Zunächst werden die Proteine aus dem Plasma mit Ethanol ausgefällt. Danach extrahiert man das lipophile Vitamin E mit Hexan. Anschließend engt man das Hexan mittels Stickstoff zur Trockene ein und nimmt das verbleibende Vitamin E in einem Alkoholgemisch für die Analyse via HPLC auf.

HPLC-Analytik:

Pumpe:	Jasco BIP, Flussrate: 1 ml/min, Druck: 0,9 x 100 kg/cm ²
Probengeber:	Spectra System AS 3000, Spectra-Physics Analytical
Probenvolumen:	50 µl
Analysezeit:	10 min
Säule:	Lichrosorb RP 18, 5 µm, 125 x 4 mm, Fa. Grom
Detektor:	Jasco 821 FP Fluoreszenzdetektor (Exzitation 290 nm, Emission 330nm)

Die Auswertung erfolgte mittels einer Chromatographie-Software (Borwin®?? JMBS Developments). Nach Integration der Peaks und Berechnung der Flächeninhalte werden die Flächen der Proben mit denen der bekannten Standards verglichen und die Vitamin E Konzentrationen der Proben ausgerechnet.

4.6.4.4 Bestimmung der Katalase

Die Aktivität der Katalase wurde nach einer Anleitung von Aebi (1984), modifiziert von der Fa. Sigma, bestimmt.

Das Enzym katalysiert die Umsetzung von Wasserstoffperoxid (H₂O₂) zu Wasser und Sauerstoff. Die Abnahme von Wasserstoffperoxid kann spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 280 nm verfolgt werden. Maß für die Katalaseaktivität ist die Extinktionsänderung pro Zeiteinheit (ABS/min) bei 25°C.

H₂O₂-Lösung (0,036 %) wird bei 240 nm auf eine Anfangsextinktion 0,550 – 0,520 eingestellt. Nach Zugabe des verdünnten Vollbluthämolylysats wird die Extinktionsänderung pro Zeiteinheit mit einem Spectralphotometer (Beckman DU 530) gemessen.

4.6.4.5 Bestimmung der Glutathion-Peroxidase (GSHPx)

Die Aktivität der GSHPx wurde mit der von Paglia und Valentine (1967) entwickelten und von Levander et al. (1983) modifizierten spectralphotometrischen Methode bestimmt.

Organische Hydroperoxide werden durch GSHPx in deren Alkohole abgebaut. Diese Reaktion wird im Test genutzt. Durch Glutathion als Reduktionsmittel entsteht GSSG, welches, mittels der Glutathion-Reduktase und NADPH als Coenzym wieder regeneriert wird. Der Verbrauch an NADPH wird photometrisch erfasst. Die Abnahme der Absorption bei 340 nm dient zur Berechnung der GSHPx Aktivität.

4.6.4.6 Bestimmung der Superoxiddismutase (SOD)

Die Aktivität der SOD wurde nach einer Methode von Marklund und Marklund (1974) im Erythrozytenhämolyolat gemessen. Der Test umfasst prinzipiell sowohl das Kupfer (Cu)- Zink (Zn)- abhängige Enzym, als auch die Mangan (Mn)-abhängige Form. Erythrozyten beinhalten jedoch nur die Cu-Zn-SOD (Kurata et al., 1993).

Die SOD verhindert die Autoxidation von Pyrogallol. Die Zunahme des Oxidationsproduktes von Pyrogallol wird spektralphotometrisch bei 420 nm verfolgt. Je größer die Zunahme an oxidiertem Pyrogallol, desto geringer ist die SOD-Aktivität.

4.6.4.7 Bestimmung der HNE-modifizierten Proteine (HNE-mod. Prot)

Durch Reaktion von Sauerstoffradikalen mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Poly Unsaturated Fatty Acids (PUFAs)) in der Zellmembran entsteht 4-Hydroxy-Nonenal (HNE), (Pryor, 1990). Hier reagiert HNE mit deren Proteinen und diffundiert anschließend in die wässrige Phase des Zytosols. Dort reagiert es mit Proteinen des Zellplasmas.

Zum Nachweis dieser veränderten Proteine bedient man sich eines indirekten ELISA's (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

Das Antigen (HNE-mod. Prot.) in der Plasmaprobe wird über Nacht an die Kavität einer Kunststoffplatte gebunden. Danach wird ein spezifischer Antikörper angelagert und mit einem zweiten peroxidasekonjugierten Antikörper verstärkt. Dieser Komplex wird mittels einer enzymatischen Reaktion angefärbt und photometrisch ausgewertet. Als Ergebnis erhält man die OD (optical density) bei 450 nm. Da hier kein Kalibrierstandard zur Verfügung steht, wird nicht auf μmol umgerechnet.

4.6.4.8 Nachweis von Malondialdehyd (MDA)

MDA entsteht durch den Einfluss von ROS mit Membranlipiden, ist ein Indikator für die entstandene Schädigung und lässt eine Aussage über Intensität und Dauer der physischen Belastung zu (Marlin et al., 2002).

Der Thiobarbitursäure-Test (TBA-Test) basiert auf der Komplexbildung von zwei Molekülen TBA mit einem Molekül MDA unter dem Einfluß von Hitze im sauren Milieu (Halliwell und Gutteridge, 1989). Der MDA-TBA-Komplex absorbiert Licht bei einer Wellenlänge von 532 nm bzw. fluoresziert bei 553 nm. Die Komplexbildung mit TBA ist jedoch nicht für MDA spezifisch. Das Probenmaterial wird zur Komplexbildung mit TBA erhitzt, die Reaktion durch Abkühlen gestoppt und der TBA-Komplex mit Butanol extrahiert. Die Butanolphase wird zur Messung mittels HPLC verwendet.

HPLC-Analytik:

Elutionsmittel:	Phosphatpuffer (0,05 M) ph 6,8 : Methanol, 60:40
Pumpe:	Jasco BIP-1, 1 ml/min Fluß
Probenvolumen:	20 µl
Säule:	Lichrosorb RP 18, 5µm; 125x4 mm LiChrospher 100 RP- 10 (5µl)
Detektor:	Jasco 821 FP Intelligent Spectralphotometer Anregung (Ex): 525 nm, Emission (Em): 550 nm, Gain: 100
Integration:	Borwin, JMBS Developments

4.6.5 Bestimmung der physischen Leistungsfähigkeit

Um die physische Leistungsfähigkeit der Haflinger bestimmen zu können, wurden kontinuierliche Messungen der Herzfrequenz während einer definierten Belastung (SET) und der anschließenden Erholungsphase durchgeführt (Tab. 4).

Tab. 4: SET

Gangart	Dauer (min)	Geschwindigkeit (km/h)
Schritt	6	4
Trab	6	13
Galopp1	6	16
Galopp2	6	16

Abschließend wurden die Pferde noch, bis zum Erreichen einer Herzfrequenz im Ruhebereich, mindestens jedoch 20 Minuten, geführt.

4.6.5.1 Messung der Laktatkonzentration

Die Laktatkonzentration im Blut wurde am Ende eines SET (T0) gemessen und mit den jeweils gemessenen Konzentrationen der anderen Entnahmedaten verglichen. Je geringer die Laktatkonzentration, desto besser die physische Leistungsfähigkeit.

4.6.5.2 Messung der Herzfrequenzabnahme

Zur Bestimmung der Herzfrequenzabnahme wird die Herzfrequenz unmittelbar nach dem Ende des 2. Galoppintervalles, zu Beginn der Erholung (T0), innerhalb eines Zeitraumes von 8 Minuten ausgewertet und graphisch dargestellt. Je schneller die Herzfrequenzabnahme innerhalb der Zeit, desto besser ist der Trainingszustand des Organismus.

Die Messung erfolgte mit dem Polar Horse Trainer S 710 (Fa. Polar Electro, FIN-90440 Kempele, Finnland). Zwei mit leitfähigem Gel (Fa. Atarost, Twistring, Ch.-B.: 30567) benetzte Ableitungselektroden, von denen die positive Elektrode auf der linken Seite des Widerristes unter dem Sattel, die negative Elektrode am Bauch des Pferdes, nahe dem Herzschallfeld, befestigt wurden, leiten die Herzfrequenz ab und übertragen diese an einen, am Sattel befestigten, Sender. Dabei musste unbedingt ein direkter Kontakt der Elektroden mit dem Tier gewährleistet sein. Der Sender überträgt die Messdaten drahtlos an einen Empfänger, wo die kontinuierliche Aufzeichnung der Herzfrequenz stattfindet und abschließend via IR-Interface auf den PC übertragen wird. Abschließend wird mit Hilfe spezieller Software (Polar Equine Software 3.0) ausgewertet.

4.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der gemessenen Werte wurden mit dem GraphPad InStat Programm am PC durchgeführt. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte, MW, mit den zugehörigen Standardabweichungen, \pm SD, dargestellt.

Die jeweiligen Daten wurden zunächst mit Hilfe der Varianzanalyse auf signifikante Unterschiede geprüft. Der Zwei-Gruppen-Vergleich wurde im Falle eines statistisch signifikanten Wertes ($p < 0,05$) mit dem nicht parametrischen zweiseitigen Wilcoxon-Test durchgeführt.

Die Irrtumswahrscheinlichkeiten sind mit Sternsymbolen (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$) gekennzeichnet.

5 Ergebnisse

Das Hypoxietraining der Haflinger verursachte Anpassungen der Sauerstofftransportkapazität (Hämatokrit, Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration) sowie oxidativen Stress.

Auch bei den Maultieren wurden Anzeichen für Anpassungsmechanismen als Reaktion auf oxidativen Stress (Anstieg der Vitamin C-Konzentration, Verminderung der SOD-Aktivität nach dem Hypoxietraining im Winter) gefunden.

5.1 Antioxidativer Status

5.1.1 Antioxidative Kapazität (TEAC)

Als Reaktion auf eine im Vergleich zum Winter stärkere Belastung stieg die TEAC im Blutserum nach dem Sommerhypoxietraining innerhalb der Haflingergruppe um 23 %, bei den Maultieren um 18 %, an. Die antioxidative Kapazität wurde durch das Höhenttraining erhöht. Im Gegensatz dazu bewirkte das Winterhypoxietraining der Maultiere keine Veränderung (MvHö: $0,51 \pm 0,03$ mmol/l; MnHö: $0,55 \pm 0,03$ mmol/l, n=15), da, aufgrund der kürzeren Tagesmärsche, die Tiere geringer belastet wurden.

Nach dem Sommertraining war die TEAC der Maultiere (MvHö: $0,60 \pm 0,02$ mmol/l; MnHö: $0,71 \pm 0,02$ mmol/l, n=9, **) sowie der Haflinger (HvHö: $0,64 \pm 0,06$ mmol/l; HnHö: $0,79 \pm 0,05$ mmol/l, n=5, *) signifikant erhöht (Abb. 1).

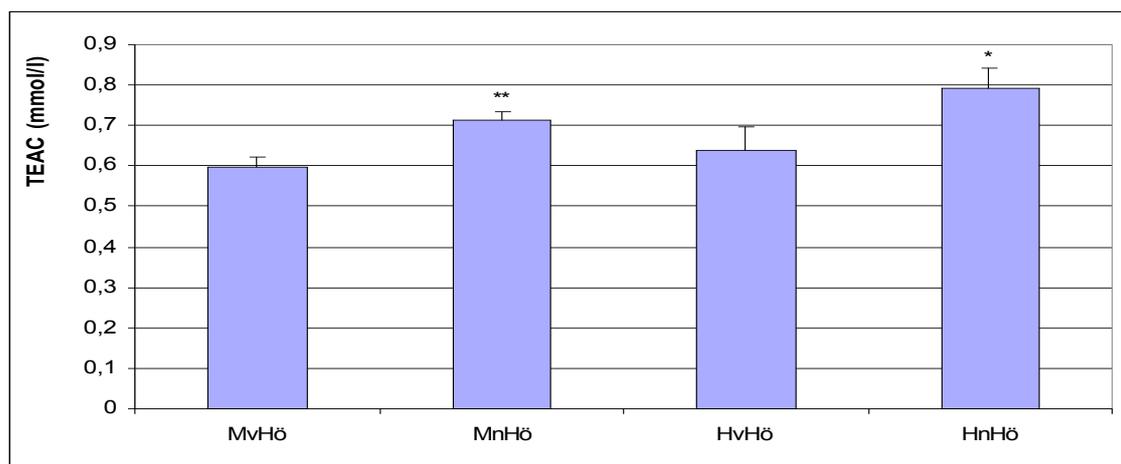


Abb 1.: Mittlere Konzentration der TEAC im Serum vor und nach dem Sommerhypoxietraining

5.1.2 Antioxidativ wirksame Vitamine (Vitamin C und Vitamin E)

5.1.2.1 Vitamin C

Die Veränderungen sind im Vergleich zur TEAC unterschiedlich. Maultiere reagieren im Gegensatz zu den Haflingern mit einer signifikanten Erhöhung der Vitamin C-Konzentration im Blutplasma im Winter. Die Zunahme im Sommer war fast genauso stark ausgeprägt, jedoch aufgrund der grösseren Streuung nicht signifikant. Auf die Vitamin C-Konzentrationen der Haflinger hat das Hypoxietraining keinen Einfluss.

Deutliche Unterschiede traten nach dem Hypoxietraining der Maultiere im Winter (MvHö: $15,43 \pm 6,41 \mu\text{mol/l}$; MnHö: $24,51 \pm 7,56 \mu\text{mol/l}$, $n=15$, **) und im Sommer auf (MvHö: $15,43 \pm 6,26 \mu\text{mol/l}$; MnHö: $23,69 \pm 10,49$, $n=9$, Abb. 2).

Innerhalb der Haflingergruppe waren nach dem Sommerhöhenaufenthalt keine Unterschiede (HvHö: $19,04 \pm 5,82 \mu\text{mol/l}$; HnHö: $17,34 \pm 6,04 \mu\text{mol/l}$, $n=5$, Abb. 2) zu bemerken.

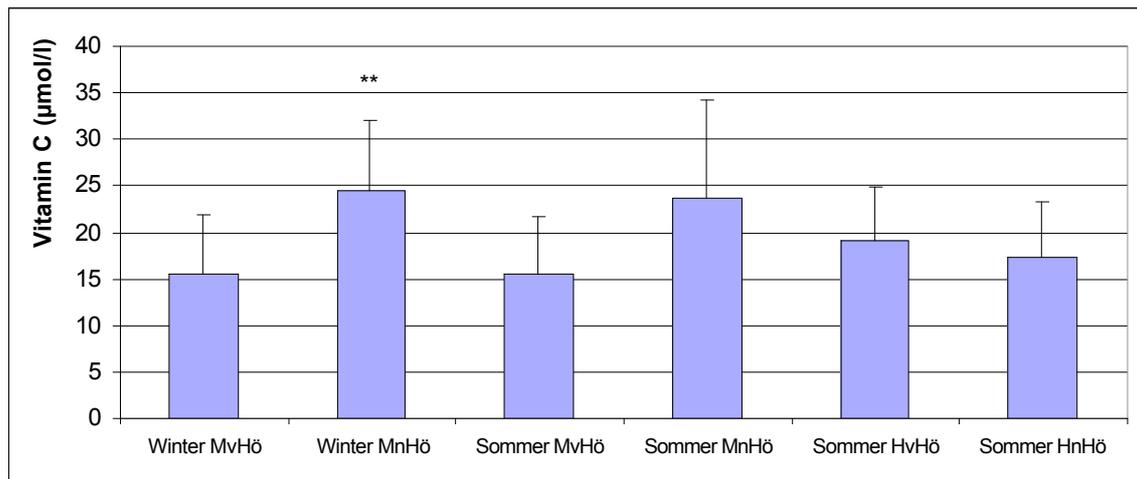


Abb 2.: Mittlere Konzentration von Vitamin C im Plasma vor und nach dem Höhenaufenthalt

5.1.2.2 Vitamin E

Die Vitamin E-Konzentration des Serums ist die Bilanz aus Aufnahme (mit dem Futter) und Verbrauch (als Antioxidanz). Eine Abnahme ist zu keinem Zeitpunkt nach dem Hypoxietraining erkennbar.

Sowohl Winter- als auch Sommerhöhenstraining hatten keine Auswirkungen auf die mittleren Konzentrationen an Vitamin E innerhalb der Gruppen (Tab. 5).

Tab. 5: Konzentrationen von Vitamin E im Serum Mittelwert und Standardabweichung ($\mu\text{mol/l}$)

	Vor Höhe		Nach Höhe	
Maultiere Winter (n = 15)	6,75	$\pm 3,44$	7,59	$\pm 2,93$
Maultiere Sommer (n = 10)	5,31	$\pm 1,40$	5,02	$\pm 1,79$
Haflinger Sommer (n =5)	3,36	$\pm 1,55$	3,29	$\pm 1,03$

5.1.3 Antioxidativ wirksame Enzyme

5.1.3.1 Superoxid-Dismutase (SOD)

Die SOD Aktivität ist von der später diskutierten Regulation durch Vitamin C (vergl. Abb. 2) geprägt.

Die SOD-Aktivität im Erythrozytenhämolysat nach dem Winterhöhenstraining der Maultiere verringerte sich deutlich (MvHö: $2,60 \pm 0,84 \mu\text{mol/s/mmol Hb}$; MnHö: $1,48 \pm 0,56 \mu\text{mol/s/mmol Hb}$, $n=15$, **, Abb. 3).

Im Sommer waren keinen nennenswerten Veränderungen der Aktivität in Maultiergruppe (MvHö: $1,27 \pm 0,54 \mu\text{mol/s/mmol Hb}$; MnHö: $0,91 \pm 0,25 \mu\text{mol/s/mmol Hb}$, $n=9$) und Haflingergruppe (HvHö: $0,93 \pm 0,39 \mu\text{mol/s/mmol Hb}$; HnHö: $0,95 \pm 0,26 \mu\text{mol/s/mmol Hb}$, $n=5$, Abb. 3).

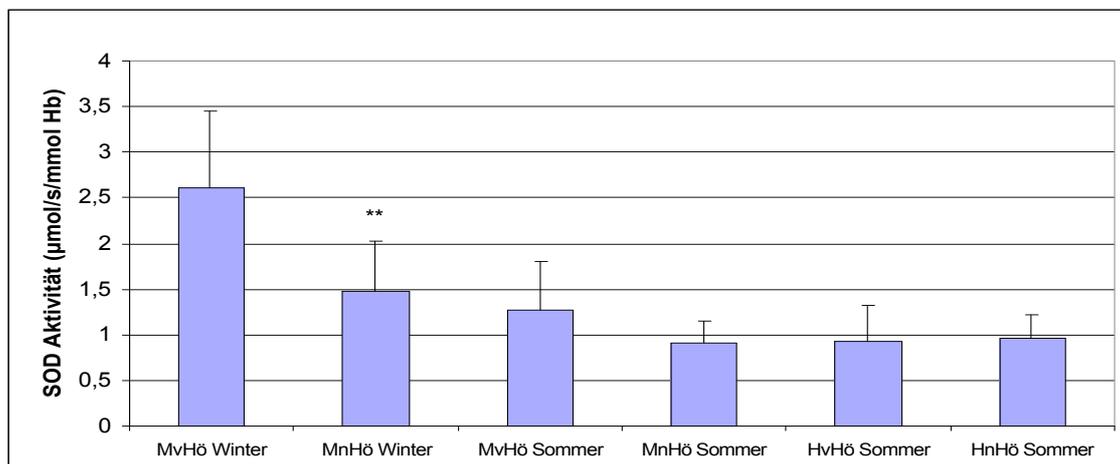


Abb 3.: Mittlere Aktivität an SOD im Erythrozytenhämolysat der Maultiergruppe.

5.1.3.2 Glutathionperoxidase (GSHPx)

Das Hypoxietraining bewirkte keine signifikanten Veränderungen der GSHPx-Aktivität. Der Mittelwert der GSHPx-Aktivität war nach dem Winterhypoxietraining der Maultiere erniedrigt. Nach dem Sommerhöhenttraining wurden in beiden Gruppen erhöhte Mittelwerte der Enzymaktivität gemessen (Tab. 6).

Tab. 6: Aktivität der GSHPx im Erythrozytenhämolytats Mittelwert und Standardabweichung ($\mu\text{mol/s}/\mu\text{mol Hb}$)

Gruppe	Vor Höhe		Nach Höhe	
Winter Maultiere	1,16	$\pm 0,29$	0,99	$\pm 0,17$
Sommer Maultiere	1,27	$\pm 0,36$	1,45	$\pm 0,29$
Sommer Haflinger	1,25	$\pm 0,11$	1,41	$\pm 0,13$

5.1.3.3 Katalase (CAT)

Die CAT-Aktivität ist in ihrem Verlauf der GSHPx ähnlich. Nach dem Winterhypoxietraining der Maultiere waren die mittleren Aktivitäten des Enzyms niedriger, nach dem Sommerhöhenttraining bei Maultieren und Haflingern höher.

Das Winterhöhenttraining bewirkt eine Erniedrigung des Mittelwertes der CAT-Aktivität bei den Maultieren (MvHö: $110,33 \pm 34,73$ nmol/s/ $\mu\text{mol Hb}$; MnHö: $99,11 \pm 32,28$ nmol/s/ $\mu\text{mol Hb}$, n=15, Abb. 4).

Nach dem Sommerhypoxietraining waren die Mittelwerte der CAT-Aktivität erhöht (MvHö: $60,14 \pm 17,82$ nmol/s/ $\mu\text{mol Hb}$; MnHö: $71,14 \pm 18,96$ nmol/s/ $\mu\text{mol Hb}$, n=9) und Haflinger (HvHö: $93,58 \pm 19,68$ nmol/s/ $\mu\text{mol Hb}$; HnHö: $107,75 \pm 16,21$ nmol/s/ $\mu\text{mol Hb}$, n=5, Abb. 4).

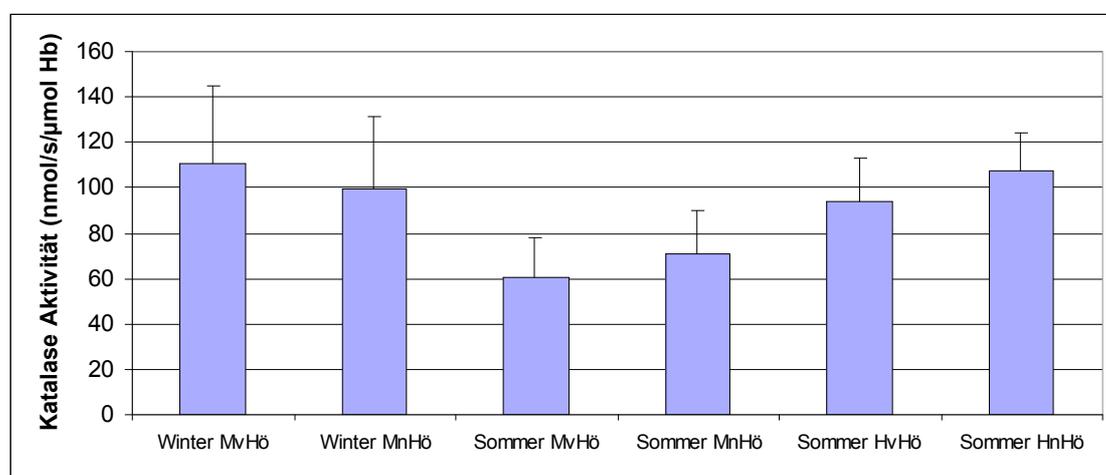


Abb. 4: Katalaseaktivität im Erythrozytenhämolytats vor und nach dem Höhengaufenthalt

5.2 Nachweise von Radikalfolgeprodukten

5.2.1 HNE modifizierte Proteine

Das Winterhypoxietraining stellt für die Tiere eine geringere physische Belastung dar, als das Sommerhöhenstraining. Durch die unterschiedlich langen Nutzungszeiten (mehr Tageslicht im Sommer, mehr Nutzung durch intensivere Truppenbewegungen, längere Bewegungsmärsche da keine Schneebehinderungen) bewirkt das Sommerhypoxietraining einen stärkeren oxidativen Stress, als das Winterhöhenstraining. Die Haflinger sind dabei einer noch höheren Belastung durch zusätzliche Nutzung als Reittiere ausgesetzt. Aus diesem Grunde konnten beim Nachweis der Radikalfolgeprodukte, HNE modifizierte Proteine und MDA, in dieser Gruppe signifikant erhöhte Werte gemessen werden.

Nach dem Höhenaufenthalt im Winter konnte bei den Maultieren im Plasma ein niedrigerer mittlerer Wert gemessen werden (MvHö: $0,052 \pm 0,033$ OD 450 nm; MnHö: $0,038 \pm 0,021$ OD 450 nm, n=15, Abb. 5).

Nach dem Sommertraining waren die Mittelwerte höher, sowohl bei den Maultieren (MvHö: $0,052 \pm 0,037$ OD 450 nm; MnHö: $0,077 \pm 0,034$ OD 450 nm, n=9), als auch bei der Haflingergruppe. Hier signifikant (HvHö: $0,038 \pm 0,032$ OD 450 nm, HnHö: $0,101 \pm 0,028$ OD 450 nm, *, n=5, Abb. 5).

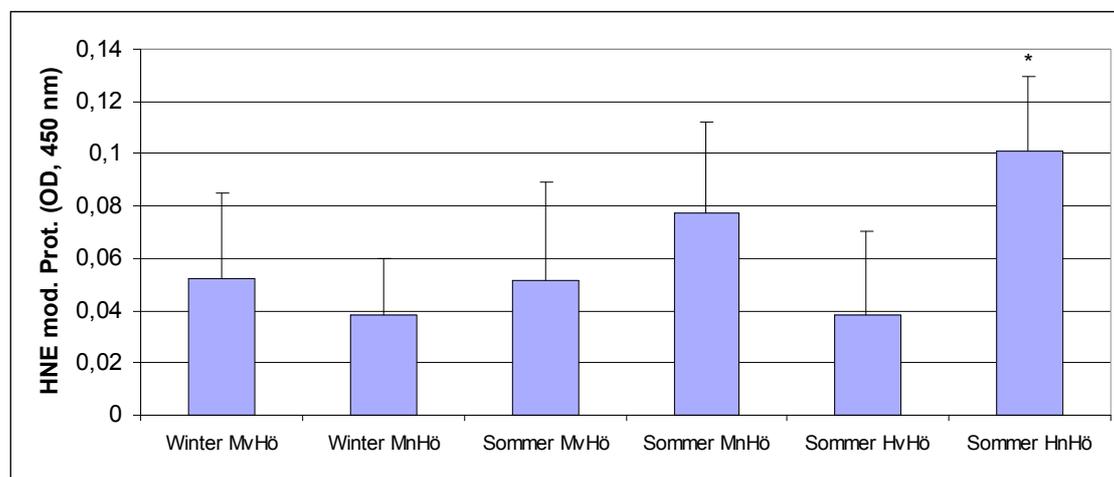


Abb. 5: Mittlere Konzentration an HNE mod. Protein im Plasma vor und nach dem Höhenaufenthalt

5.2.2 Malondialdehyd (MDA)

Bei den MDA-Konzentrationen im Erythrozytenhämolysat deutet sich ein ähnlicher Verlauf wie bei den HNE modifizierten Proteinen an. Die Veränderungen sind nach höherem oxidativem Stress im Sommer deutlicher, als nach geringerer Belastung im Winter.

Die Maultiergruppe weist nach Beendigung des Winterhöhentrainings nur minimal veränderte Konzentrationen gegenüber den Vorwerten auf (MvHö: $2,08 \pm 0,49$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$; MnHö: $2,26 \pm 0,40$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$; n=15, Abb. 6).

Nach dem Sommerhypoxietraining waren die gefundenen Ergebnisse bei der Maultiergruppe identisch (Sommer MvHö: $1,28 \pm 0,27$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$; Sommer MnHö: $1,27 \pm 0,26$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$; n=9, Abb. 6).

Innerhalb der Haflingergruppe stieg die Entstehung von MDA signifikant an (HvHö: $1,33 \pm 0,38$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$; HnHö: $1,93 \pm 0,26$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$; *, n=5, Abb. 6).

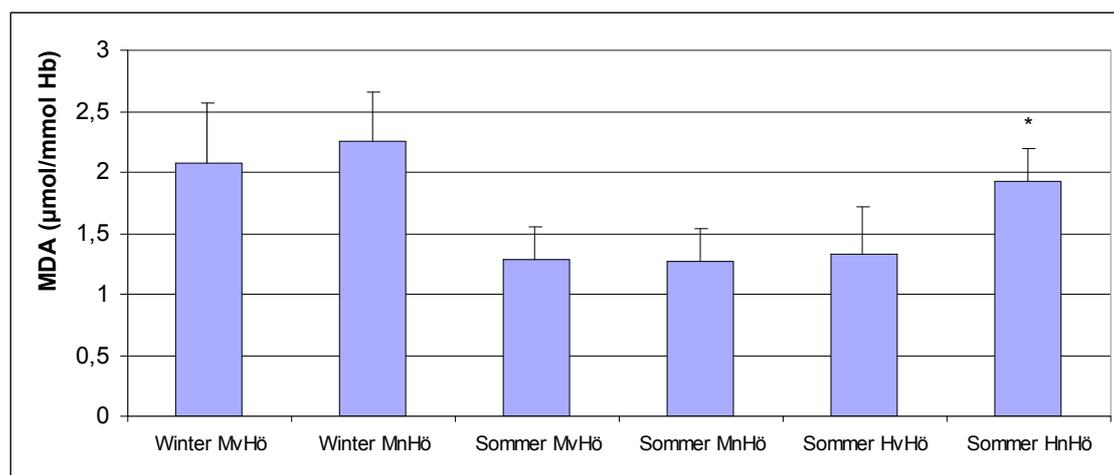


Abb. 6: Konzentrationen von MDA im Erythrozytenhämolysat vor und nach dem Höhengaufenthalt

5.3 Parameter für Organschäden

Die Parameter für Organschäden, sind sich, mit Ausnahme der CK, in ihrem Verlauf ähnlich. Bedingt durch die schon beschriebenen unterschiedlich starken Belastungen während des Höhentrainings im Winter und Sommer, traten nach dem Winterhypoxietraining der Maultiere keine Veränderungen der Aktivitäten auf. Nach dem Sommerhypoxietraining waren die Mittelwerte der Aktivitäten von LDH, ALT und AST, bedingt durch einen gesteigerten oxidativen Stress, erhöht (Tab. 7).

Bei der Messung von CK, LDH, ALT und AST wurden folgende Aktivitäten gefunden:

Tab. 7: Aktivität von CK, LDH, ALT, AST im Serum Mittelwert und Standardabweichung (nkat/l)

Gruppe	CK		LDH		ALT		AST	
Winter MvHö	2240	± 342	2754	± 637	113	± 28	4654	± 766
Winter MnHö	2270	± 585	3007	± 947	100	± 30	4730	± 741
Sommer MvHö	2419	± 331	2907	± 427	100	± 26	4449	± 442
Sommer MnHö	2559	± 266	3616	± 637	139	± 86	5001	± 941
Sommer HvHö	4064	± 1082	6918	± 2554	153	± 22	6691	± 1020
Sommer HnHö	3676	± 531	9192	± 3071	220	± 64	13679	± 3985

5.4 Erythrozytenzahlen, Hämatokrit, Hämoglobin

Die Veränderungen bei Hämatokrit, Erythrozytenzahlen und Hämoglobinkonzentration sind wie erwartet nach dem Winterhypoxietraining geringer als nach dem Sommerhöhenstraining. Hier wurden bei Maultieren erhöhte Mittelwerte gemessen. In der Haflingergruppe waren die Anstiege signifikant. Dieser Anpassungsmechanismus ist die Reaktion auf den Hypoxiereiz in Verbindung mit der, im Sommer deutlich stärkeren, Trainingsintensität.

5.4.1 Erythrozytenzahlen

Die Erythrozytenzahl verändern sich nach dem Höhengaufenthalt der Maultiere im Winter leicht (MvHö: $6,54 \pm 0,85$ T/l; MnHö: $6,35 \pm 0,80$ T/l, n=15, Abb. 7).

Nach dem Sommerhypoxietraining haben sich die mittleren Erythrozytenzahlen der Maultiergruppe erhöht (MvHö: $6,28 \pm 0,59$ T/l; MnHö: $6,50 \pm 0,50$, n=9, Abb. 7).

In der Haflingergruppe steigen nach dem Höhengaufenthalt die Erythrozytenzahlen signifikant an (HvHö: $6,14 \pm 0,48$ T/l; HnHö: $7,43 \pm 0,32$ T/l, n=5, **, Abb. 7).

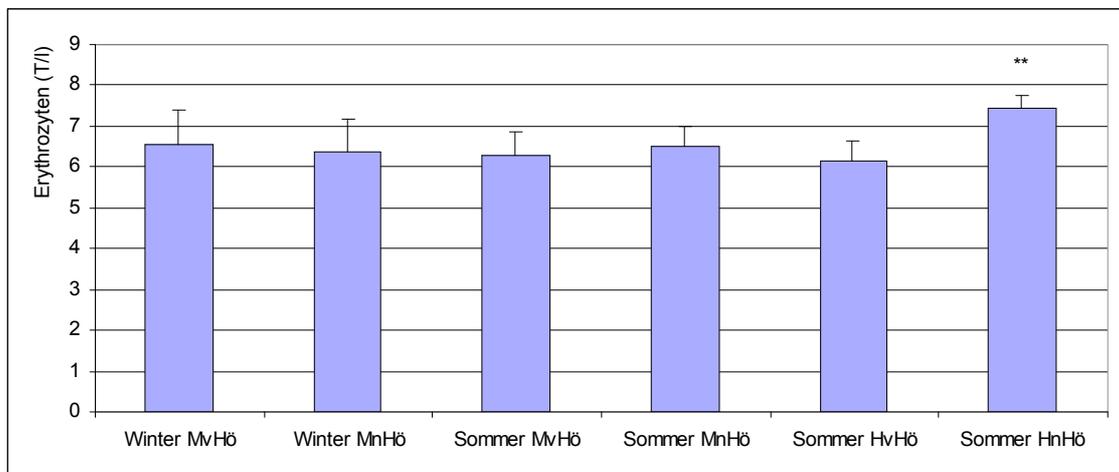


Abb. 7: Mittlere Erythrozytenwerte vor und nach dem Höhengaufenthalt in Tera/Liter (T/l)

Bei der Bestimmung der Erythrozytenzahlen im Herbst, zum Ende der Untersuchung, haben die Werte aller untersuchten Gruppen wieder nahezu die Werte vor dem Sommerhypoxietraining, 2,5 Monate vorher, erreicht (Maultiere Herbst: $6,21 \pm 0,69$; n=9; Haflinger Herbst: $6,34 \pm 0,62$; n=5).

5.4.2 Hämatokrit, Hämoglobingehalt

Der Hämatokrit und die Hämoglobinkonzentrationen der Maultiere verändern sich infolge des Winterhypoxietrainings nicht.

Der Sommerhöhenaufenthalt bewirkt bei der Maultiergruppe eine Erhöhung des Hämatokrit- und Hämoglobin Mittelwertes. In der Haflingergruppe ist bezüglich beider Parameter ein signifikanter Anstieg festzustellen (Tab. 8).

Tab. 8: Hämatokrit (Hkt) und Hämoglobingehalt (Hb) im Blut, Mittelwert und Standardabweichung

Gruppe:	Hkt (l/l)		Hb (mmol/l)	
Winter MvHö	0,32	± 0,05	7,71	± 1,03
Winter MnHö	0,32	± 0,04	7,88	± 1,03
Sommer MvHö	0,32	± 0,03	7,20	± 0,72
Sommer MnHö	0,34	± 0,03	7,67	± 0,63
Sommer HvHö	0,30	± 0,02	7,06	± 0,57
Sommer HnHö	** 0,36	± 0,02	* 8,29	± 0,39

Die Abschlussmessung im Herbst ergab für den Hämatokrit beider Höhengruppen nahezu wieder gleiche Prozentwerte, wie vor dem Hypoxietraining (Maultiere Herbst: $0,32 \pm 0,04$ l/l, n=10; Haflinger Herbst: $0,31 \pm 0,03$ l/l, n=5).

Bei der Endbestimmung der Hämoglobinkonzentrationen im Herbst liegen die Messwerte bei allen Gruppen wieder deutlich unter den gefundenen Werten im Sommer nach dem Höhenttraining (Maultiere Herbst: $7,20 \pm 0,89$ mmol/l, n=9; Haflinger Herbst: $7,16 \pm 0,63$ mmol/l, n=5), haben aber damit ähnliche Konzentrationen wie vor dem Höhenaufenthalt erreicht.

5.5 Beurteilung der physischen Leistungsfähigkeit

Die festgestellten Veränderungen bezüglich der Laktatkonzentration nach dem Hypoxietraining weisen zwar in Richtung gesteigerter Leistungsfähigkeit, waren aber nicht signifikant. Die Herzfrequenzabnahmen nach einer kurzen intensiven Belastung waren nach dem Höhenttraining gleich.

Mit den durch die Hypoxie ausgelösten Anpassungsmechanismen wird die Sauerstofftransportkapazität im Blut erhöht. Dadurch ist eine höhere Leistungsfähigkeit möglich.

5.5.1 Laktatkonzentration nach standardisierter Belastung

Der Zeitpunkt T0 zeigte in der Haflinger Höhen­gruppe nach durchgeführtem SET einen geringeren Mittelwert nach dem Hypoxietraining an. Die Konzentration im Blut stieg um 38 % (vHö: $9,58 \pm 3,77$ mmol/l; nHö: $6,12 \pm 1,29$ mmol/l) weniger an. Im Herbst hat der Laktatspiegel wieder ähnliche Konzentrationen wie im Winter oder vor dem Höhenttraining erreicht (Winter: $9,44 \pm 4,16$ mmol/l; Herbst: $9,93 \pm 2,28$ mmol/l, Abb. 8).

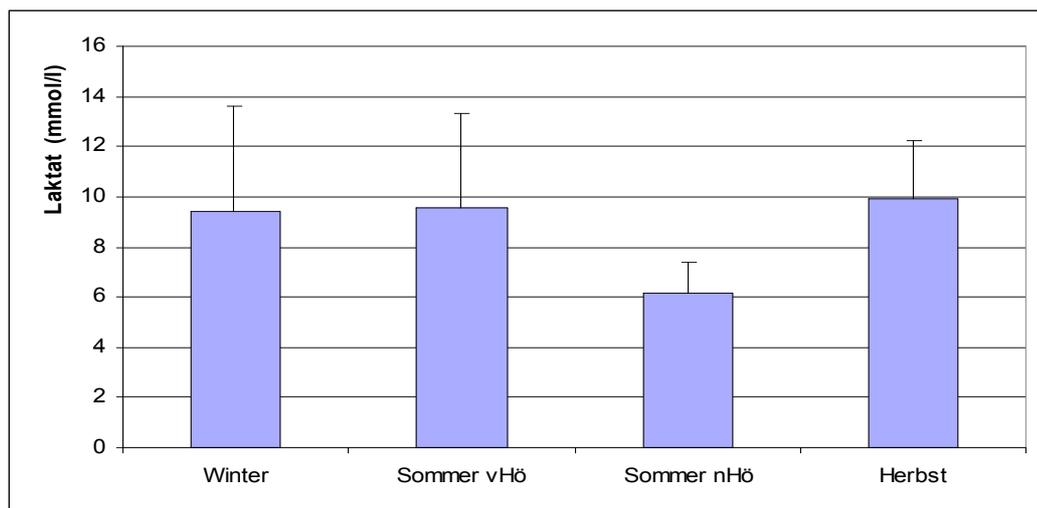


Abb. 8: Laktatkonzentrationen im Blut zum Zeitpunkt T0 (mmol/l)

Die Laktatkonzentrationen der Vergleichsgruppe zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Veränderungen. Nach einer Erhöhung der mittleren Konzentrationen im Sommer gegenüber dem Winter, waren die Laktatwerte im Herbst ähnlich (Tab. 9)

Tab. 9: Laktatkonzentrationen der Vergleichsgruppe ohne Hypoxietraining Mittelwert und Standardabweichung (mmol/l)

	T 0	
Winter	8,22	± 3,92
Sommer	10,18	± 5,03
Herbst	10,78	± 3,29

5.5.2. Herzfrequenzabnahme nach standardisierter Belastung

Die Herzfrequenzabnahmen sind bei der Höhengruppe nach dem Höhenttraining unverändert (vHö: $14,98 \pm 1,46$; nHö: $15,40 \pm 2,54$; $n=5$). Zu Beginn der Messperiode im Winter und zu Ende im Herbst sind die Werte nahezu identisch (Winter: $16,24 \pm 1,73$; $n=5$ Herbst: $16,23 \pm 2,06$; $n=4$, Abb. 9).

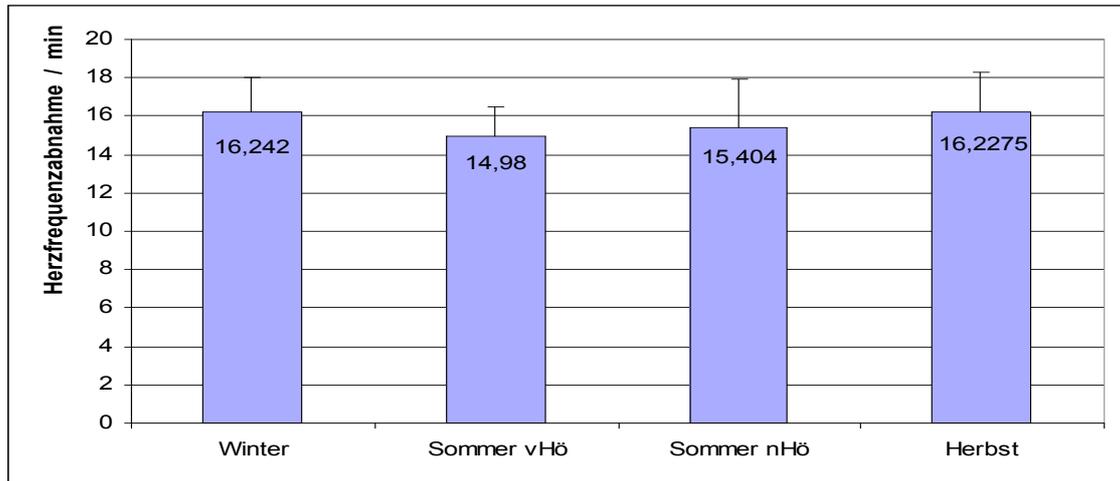


Abb. 9: Herzfrequenzerholungszeit der Haflinger-Höhengruppe

Bei der Vergleichsgruppe ergeben sich ebenfalls keine Veränderungen. (Winter: $14,72 \pm 1,57$; Sommer: $13,23 \pm 2,67$; Herbst: $16,02 \pm 3,29$; $n=5$, Abb. 10).

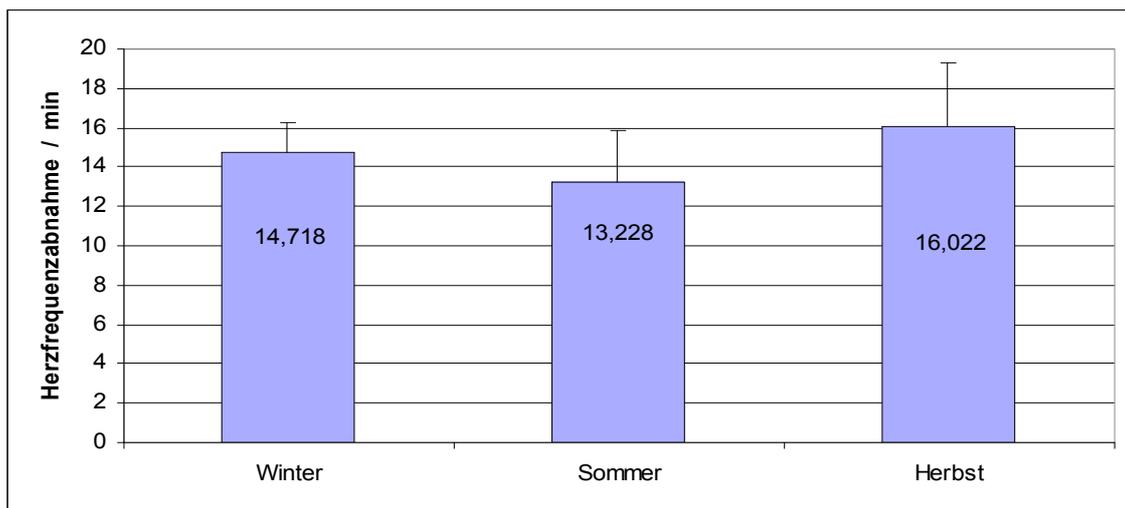


Abb. 10: Herzfrequenzerholungszeit der Haflinger-Vergleichsgruppe

6 Diskussion

6.1 Antioxidative Kapazität (TEAC), Vitamin C und Vitamin E

6.1.1 TEAC

Die TEAC im Serum setzt sich aus einer Vielzahl Antioxidanzien, wie z. Bsp. Albumin, Bilirubin, Glutathion, Harnsäure und den Vitaminen C und E, zusammen. Eine Veränderung eines oder mehrerer dieser antioxidativ wirksamen Stoffe kann deutliche Konzentrationsunterschiede bewirken. Da die einzelnen Komponenten unterschiedlich reguliert werden, sind tierartlich und innerhalb der Spezies Unterschiede denkbar. Dies erklärt, dass die zu Beginn der jeweiligen Höhengaufenthalte gemessenen TEAC-Werte (um 0,5 mmol/l) etwa 0,2 mmol/l höher liegen, als in anderen Arbeiten von Brincker (2004) über Galopprennpferde oder Stohrer et al. (2001) über Fohlen. Bei Schlittenhunden beispielsweise wurde eine mittlere Konzentration von 0,8 mmol/l als Ruhewert gemessen (Stohrer et al., 2002).

Vier Tage nach Ende des Sommerhypoxietrainings war die TEAC sowohl in der Maultiergruppe als auch in der Haflingergruppe signifikant angestiegen. Damit ist die anfänglich gestellte Hypothese, dass sich das Höhenttraining positiv auf die antioxidative Gesamtkapazität auswirken kann, bestätigt. Der antioxidative Status war nach dem Sommerhypoxietraining verbessert.

Teilweise lässt sich die gestiegene TEAC bei den Maultieren durch eine erhöhte mittlere Konzentration an Vitamin C nach dem Sommerhypoxietraining (s. Abb. 1) erklären. Bei der Haflingergruppe ist der TEAC Anstieg jedoch nicht auf Veränderungen in den in dieser Studie gemessenen Antioxidantien wie Vitamin C- oder Vitamin E zu erklären. Es ist davon auszugehen, dass Erhöhungen anderer antioxidativ wirksamer Stoffen, einzeln oder in Addition, die gefundenen Veränderungen ergaben. Das Winterhöhenttraining hatte keinen Einfluss auf den antioxidativen Status.

Brincker (2004) untersuchte die TEAC bei Galopprennpferden nach physischer Belastung und fand 20 Stunden nach einer Belastung ebenfalls keine Änderung der TEAC-Konzentration. Durch den guten Trainingszustand der Pferde und die dadurch schon grundsätzlich gesteigerte antioxidative Kapazität, konnte hier wahrscheinlich der auftretende oxidative Stress kompensiert werden. Eine Verbesserung war nach lediglich einer Trainingsbelastung nicht zu erwarten.

Im Gegensatz zu den hier ermittelten Daten stehen die Ergebnisse bei Schlittenhunden von Stohrer et al. (2002), bei denen ein ausgeprägter Abfall der TEAC nach einem Rennen gemessen wurde, was auf einen vermehrten Verbrauch von Antioxidanzien durch die vermehrte Bildung von Sauerstoffradikalen schließen lässt. Hier war der auftretende oxidative Stress erheblich und die Tiere nicht genügend trainiert, um diesen abzuschwächen.

6.1.2 Vitamine C und E

Wie bereits erwähnt zeigt die vorliegende Studie Erhöhungen der Vitamin C Konzentrationen in der Maultiergruppe, im Winter signifikant, nach dem Höhentaining. Bei den Haflingern hingegen verringerte sich die mittlere Konzentration an Vitamin C im Plasma (s. Abb. 2). Dies lässt den Schluss zu, dass die Haflinger im Gegensatz zu den Maultieren vermehrt Sauerstoffradikale bilden, wodurch mehr Vitamin C als Antioxidanz verbraucht wird, was bewirkt, dass lediglich nach dem belastungsärmeren Höhentaining der Maultiere im Winter die Konzentrationen signifikant erhöht waren. Gestützt wird dies durch signifikante Erhöhungen an Radikalfolgeprodukten, HNE-modifizierte Proteine (s. Abb. 5) und Malondialdehyd (s. Abb. 6) nach dem Sommerhypoxietraining der Haflinger, was einen deutlichen oxidativen Stress zeigt. Eine Ursache dafür ist die größere körperliche Belastung, da die Haflinger während des Höhentainings nicht nur als Tragtiere, sondern zusätzlich als Reittiere genutzt wurden. Hier war der oxidative Stress größer.

Möglicherweise hat diese spezielle Form des Trainings im Zusammenhang mit dem Höhentaining einen steigernden Einfluss auf die Vitamin C Konzentration bei Maultieren. In vitro Studien zeigten, dass die Vitamin C Synthese durch seine Konzentration über einen Feedback Mechanismus kontrolliert wird (Banhegyi et al., 1997). Exogen zugeführtes Vitamin C hätte demnach eine Erniedrigung der Vitamin C Synthese zur Folge gehabt, die Konzentration im Plasma jedoch steigern können. Da keine Futterumstellung während des Höhentainings erfolgte, scheidet diese mögliche Ursache aus. Erhöhte Konzentrationen wurden unmittelbar nach körperlichen Belastungen gemessen und mit einer Regulation durch die Nebennierenrinde (NNR) in Verbindung gebracht (Maxwell et al., 1993). Durch Stresseinwirkung kommt es zur Ausschüttung des Corticotropin Releasing Factors (CRF) aus dem Hypothalamus, welcher im Hypophysenvorderlappen eine Freisetzung des Adrenocorticotropen Hormons (ACTH) bewirkt. Im Rattenversuch verursachte die Verabreichung von ACTH eine Freisetzung des Vitamin C (Overbeek, 1985). 20 – 40 % des in der Nebenniere verfügbaren Vitamin C werden ins Blut abgegeben. Die Vitamin C Gehalte sind in der NNR mit 400 – 600 mg/100 g zwar höher als in der Leber (25 – 35 mg/100g), reichen jedoch in Anbetracht der Gesamtgröße des Organs lediglich aus, den Vitamin C Spiegel in der NNR-Vene um das maximal 3-fache zu steigern, was möglicherweise einen Steuermechanismus darstellt (Overbeek, 1985). Die Erhöhung des Blutspiegels wird durch Freisetzung aus der Leber (1-2 mg/100ml) erreicht und durch ACTH gefördert. Hier ist die freigesetzte Menge ausreichend, um Anstiege im Blut zu bewirken (Overbeek, 1985). Zum Anderen provoziert ACTH in der zona fasciculata der Nebennierenrinde die vermehrte Ausschüttung von Cortisol. Cortisol erhöht unter anderem den Glucosespiegel durch Stimulation der Glycolyse. Diese Stimulation bewirkt eine erhöhte Vitamin C Synthese (Banhegyi et al., 1996). Wickler et al. (2004) fanden zwar nach 4 Tagen in 4800 m Höhe wieder eine Angleichung des, durch akuten Hypoxiereiz und verringerten Sauerstoffpartialdruck (Wickler et al. 2004), angestiegenen Cortisols auf Normalwerte, aber weiter erhöhte Glucosespiegel als Folge verstärkter Glycolyse durch Anstiege von Catecholaminkonzentrationen und den Anstieg des Cortisolspiegels zuvor. Ein verminderter Verbrauch des Vitamins (als Antioxidans) könnte bei gesteigerter Produktionsrate eine Erhöhung der Plasma Konzentration erklären. Die Radikalmarker zeigten jedoch eine konstante Belastung

durch Sauerstoffradikale und auch die übrigen Ergebnisse deuten auf kein besonderes Stressgeschehen hin.

In der Literatur finden sich, gegensätzlich zur vorliegenden Untersuchung, meist Abnahmen der Vitamin C Konzentration nach einer physischen Belastung bei verschiedenen Organismen (Gleeson et al., 1987, bei Menschen; Snow et al., 1987, bei Pferden; Hargreaves et al., 2002, bei Pferden; Stohrer et al., 2002, bei Schlittenhunden; Brincker, 2004, bei Pferden), was durchweg einen erhöhten Verbrauch nach Belastung aufzeigt. Von unveränderten Werten nach einem 1000 m-Rennen berichtet eine Untersuchung an 44 Vollblutpferden (White et al., 2001), welche durch ihren guten Trainingszustand diese Belastung gut kompensieren konnten.

Bezüglich der Vitamin E Konzentration ergaben sich nach der Belastung nur sehr geringe, nicht einheitliche Veränderungen (s. Tab. 5), wie sie auch von Brincker (2004) bei Pferden und Maxwell et al. (1993) beim Menschen beschrieben sind. Auffallend ist, dass die Vitamin E Konzentration insgesamt mit Werten zwischen 3 und 7 $\mu\text{mol/l}$ im Vergleich zu anderen Studien sehr gering war. Andere Autoren fanden höhere mittlere Konzentrationen im Pferdeplasma von 12 – 16 $\mu\text{mol/l}$ (McMeniman und Hintz, 1992; Brincker, 2004). Das Hypoxietraining hatte keine Auswirkung auf den Gehalt an Vitamin E im Serum bei Haflingern und Maultieren. Die Konzentration im Blut ist zunächst von der Versorgungslage abhängig. Die Qualität des angebotenen trockenen Grünfutters ist sehr unterschiedlich. Die Bezugsquellen variieren und die Lagerzeiten sind verschieden. Hier sind sehr hohe Schwankungen möglich. Die Menge an Vitamin E im Futter und die damit verbundene Versorgungslage, haben Auswirkungen auf den Gehalt im Blut. Die Vitamin E-Konzentrationen ergeben sich als Bilanz von Aufnahme und Verbrauch. Eine starke Belastung bewirkt durch Auftreten eines großen oxidativen Stresses zu Abnahmen der Vitamin E-Konzentration. So wiesen Stohrer et al. (2002) nach einem Schlittenhunderennen einen deutlichen Verbrauch nach.

6.2 Induktion antioxidativer Enzyme (SOD, GSHPx, CAT)

Laut Askew (2002) bewirkt regelmäßiges Ausdauertraining eine Erhöhung der Superoxiddismutase (SOD). Die Induktion der SOD wird durch Belastung erhöht und durch seine Reaktionsprodukte gehemmt (Higuchi et al., 1983; Fuchs und Borders, 1983). Einer erhöhten Belastung durch Sauerstoffradikale wird somit durch eine hochgeregelte SOD Aktivität begegnet. Dieser Regulationsmechanismus hätte eine Zunahme der SOD-Aktivität nach dem Hypoxietraining erwarten lassen. Nach dem Winterhöhenttraining der Maultiere nahm die Aktivität des Enzyms jedoch signifikant ab (s. Abb. 3). Eine Erklärung dafür liegt unter anderem in der Regulation von Genexpression und Aktivität der SOD durch die Vitamin C Konzentration (Kao et al., 2003). Kao et al. wiesen an in vitro Studien von Astrozyten nach, dass sich die SOD-Aktivität in Abhängigkeit von zugeführtem Vitamin C erniedrigt und auch die Genexpression des Enzyms herunterreguliert wird. Nach dem Winterhypoxietraining stieg die Vitamin C-Konzentration signifikant an (s. Abb.2). Dies verursachte die verminderte SOD Genexpression und die geringere Aktivität. Nach dem Sommerhypoxietraining ergab sich nahezu keine Veränderung der SOD Aktivität in beiden Gruppen (s. Abb. 3). Untersuchungen nach intensiver Belastung bei Hochleistungspferden (Balogh et al., 2001), Ratten (Alessio und Goldfarb, 1988) und Menschen (Corbucci et al., 1984) zeigten ähnliche Ergebnisse. Wahrscheinlich sind auch in der vorliegenden Studie Vitamin C Steuerungsmechanismen an den unveränderten Aktivitäten des Enzyms mit beteiligt. Ähnlich der SOD-Aktivität scheint eine gesteigerte wöchentliche Trainingsintensität die Enzymaktivitäten von GSHPx und CAT steigern zu können (Robertson et al., 1991) und eine Hochregulierung zu bewirken.

Die vorliegende Studie ergab unterschiedliche tendenzielle Veränderungen in der GSHPx- und Katalase- Aktivität. Im Sommer zeigte sich zwar eine Erhöhung der mittleren Aktivität beider Enzyme nach dem Hypoxietraining bei Maultieren und Haflingern, jedoch war die Belastung nicht ausreichend, um signifikante Aktivitätsveränderungen zu bewirken (Tab. 6; Abb. 4). Einen deutlichen Anstieg der Enzymaktivitäten nach intensiver körperlicher Belastung wiesen dagegen Hargreaves et al. (2002) bei Pferden, Askew (2002) bei Menschen und Stohrer et al. (2002) nach einem Schlittenhunderennen nach. Hier bewirkten starke physische Belastungen, die mit hoher Bildungsrate von Sauerstoffradikalen einhergehen, signifikante Anstiege der Enzymaktivitäten.

Die gefundenen tendenziell verringerten Enzym-Aktivitäten von GSHPx und CAT nach dem Winterhypoxietraining sind im Wesentlichen auf zwei Ursachen zurückzuführen: Einerseits war die Belastung nicht ausreichend, um eine Enzyminduktion zu bewirken. Trotz länger dauerndem Hypoxietraining im Winter war die körperliche Anstrengung im Sommer intensiver. Dies zeigt sich auch in der mäßigen Entstehung von Radikalmarkern. Andererseits leistet auch die signifikante Erhöhung des Vitamin C Gehaltes (s. Abb. 2) einen entscheidenden Beitrag zum verminderten oxidativen Stressgeschehen während des Winters.

In der Literatur sind jedoch auch Fallbeispiele beschrieben, in denen sich die Enzymaktivitäten nach Training nicht verändern, wenn die Belastung nicht ausreichend intensiv ist (Balogh et al., 2001; Taylor et al., 2003).

6.3 Radikalfolgeprodukte (HNE-modifizierte Proteine und MDA)

Diese zwei Parameter beschreiben als Radikalmarker eine aufgetretene Freisetzung von Sauerstoffradikalen und die Schädigung von Zellmembranen. In Gesamtbetrachtung mit dem Verbrauch an Antioxidantien, den antioxidativ tätigen Enzymen und den Veränderungen der Parameter für Organschädigungen liefern sie Hinweise auf die klinische Relevanz des oxidativen Stresses.

HNE-modifizierte Proteine und MDA sind bis heute selten untersuchte Parameter beim Pferd und bisher beim Maultier nicht erforscht.

Der signifikante Anstieg an Malondialdehyd (MDA) in der Haflingergruppe dokumentiert die erhöhte Belastung durch Sauerstoffradikale (s. Abb.6). Erhöhungen nach deutlichen physischen Belastungen stellten beispielsweise auch Marlin et al. (2002) bei Pferden nach 140 km Reitstrecke sowie Alessio und Goldfarb (1988) in einem Rattenversuch nach einer langfristigen Belastung über 18 Wochen. Auch 16 Stunden nach Ende der Ausdauerbelastung waren die MDA-Werte noch signifikant erhöht gegenüber den Ausgangswerten vor der Belastung (Alessio und Goldfarb, 1988). Die Maultiergruppe wies nach dem jeweiligen Höhenttraining keine Veränderungen auf.

Die HNE-modifizierten Proteine (HNE-mod. Prot.) erhöhen sich ebenfalls signifikant nach dem Sommerhypoxietraining in der Haflingergruppe. In der Maultiergruppe steigen die mittleren Messwerte um 48 % an (s. Abb. 5). Dadurch wird in beiden Gruppen eine erhöhte Freisetzung von Sauerstoffradikalen belegt. Auch Stohrer et al. (2002) fanden einen Anstieg der HNE-modifizierten Proteine im Blutplasma bei Schlittenhunden 24 Stunden nach einer starken körperlichen Belastung. Interessant war dabei, dass die Radikalmarker direkt nach dem Belastungsende geringere Mittelwerte zeigten. Die Freisetzung von Sauerstoffradikalen nimmt zeitverzögert zu und ist, wie in der vorliegenden Studie auch 96 Stunden nach Ende der Belastung, noch teilweise signifikant erhöht. Es ist anzunehmen, dass auch dieser Zeitpunkt keinen Maximalwert darstellt, jedoch eine Beurteilung erlaubt.

Nach dem Winterhypoxietraining der Maultiere wurden dagegen keine veränderten Werte an HNE.-modifizierten Proteinen gefunden. Die dadurch belegte nur mäßige Belastung mit Sauerstoffradikalen bestätigen weitere, durch den Höhentaufenthalt nicht veränderte Parameter für Organschädigungen und die untersuchten antioxidativen Enzyme. Eine Erklärung ist einmal mehr die geringere körperliche Belastung im Winter.

6.4 Ausgewählte Enzyme zur Beurteilung von Organschädigungen

Anstiege von CK-, AST-, ALT- und LDH-Aktivität im Serum können auf Schädigungen in Herz- und Skelettmuskulatur, beziehungsweise Lebergewebe hinweisen. Anstiege bis zum Dreifachen werden als geringgradig bezeichnet (Kraft und Dürr, 1997).

Ähnlich den Veränderungen der antioxidativ wirksamen Enzyme GSHPx und CAT, verlaufen auch die Aktivitätsänderungen der Enzyme zur Beurteilung von Organschädigungen. Grundsätzlich stehen erhöhten mittleren Aktivitäten nach dem Sommerhypoxietraining unveränderten Aktivitäten nach dem Winterhypoxietraining gegenüber. Jederzeit sind die Veränderungen jedoch als geringgradig zu bezeichnen. Die Normalwerte der Haflinger liegen auf einem deutlich höheren Niveau. Dies ist Speziesbedingt und physiologisch (v. Rennenkampff, 1987).

Kreatinkinase (CK)

Die Kreatinkinasewerte sind, sowohl vor und nach dem Winter-, als auch dem Sommeraufenthalt und bei allen Höhengruppen, nahezu gleich den jeweiligen Ausgangswerten. 96 Stunden nach Ende des Höhentrainings können anhand der CK keine Anhaltspunkte für Schädigungen der Muskulatur diagnostiziert werden (Tab. 7).

Die Kreatinkinase (CK) wird regelmäßig zur Bestimmung von Schädigungen an Herz- oder Skelettmuskulatur verwandt. Bestimmungen der CK-Aktivität zeigen schon nach einer 15minütigen Belastung einen geringgradigen Anstieg, welche nach 24 Stunden wieder Normalwert erreicht hat (Kraft und Dürr, 1997). Durch diese, im Gegensatz zu anderen Enzymen zur Beurteilung von Organschädigungen, sehr kurze Halbwertszeit, lassen sich besser relevante Aussagen bezüglich auftretender Muskelschädigungen treffen. Eine Organzuordnung ist eindeutiger möglich. Daher waren eventuelle, akut aufgetretene Aktivitätserhöhungen in dieser Studie zum Zeitpunkt der Probennahme, 4 Tage nach Ende der Belastung, nicht zu erwarten. Nur schwere und akute Muskelschädigungen, wie sie sich zum Beispiel nach ungewohnten körperlichen Belastungen und trainingsinduzierten Muskelzellapoptosen (Boffi et al., 2002) und auch bei Vitamin-E Mangel oder Herzmuskelschädigungen finden, hätten zu dieser Zeit eine erhöhte Aktivität feststellen lassen.

Betrachtet man jedoch weitere Serumparameter, die in Kombination detailliertere Aussage über spezifische Belastungen zulassen, verändert sich der Eindruck, das Hypoxietraining hätte keine Belastung dargestellt:

AST, ALT und LDH

Die Interpretation der Ergebnisse ist problematisch. Suchprogramme zum Abklären konkreter Organerkrankungen, wie aus der Kleintiermedizin bekannt, sind beim Pferd nur bedingt anwendbar. Die ALT ist beispielsweise nicht so eindeutig Leberspezifisch wie bei Hund und Katze (Kraft und Dürr, 1997). Erhöhte Aktivitäten der AST eignen sich bei dieser Tierart lediglich zur Leberdiagnostik, wenn Muskelschädigungen ausgeschlossen werden können. Eine angemessene Deutung sollte sich daher in

Richtung Muskulatschädigung orientieren, da zudem kein auftreten klinischer Erkrankungen beobachtet wurde, dass auf eine Fehlfunktion anderer Organe Rückschlüsse zugelassen hätte.

Durch die gefundenen Veränderungen der Enzymaktivitäten zur Bestimmung von Organschädigungen wird eine Belastung während des Sommerhypoxietrainings, vor allem in der Haflingergruppe, erkennbar (Tab. 7). Die Aspartat-Amino-Transferase (AST) ist zwar nicht organspezifisch, zeigt jedoch v. a. in Herz- und Skelettmuskulatur hohe Aktivitäten. Aufgrund ihrer langen Halbwertszeit ist sie für die Diagnose von Muskulatschädigungen interessant. So steigen die Aktivitäten z. Bsp. bei Myopathien auch nach 24-48 Stunden noch deutlich an (Kraft und Dürr, 1997). Normalwerte werden erst nach 10-20 Tagen wieder erreicht. Ansteigende Aktivitäten der AST sind, vor allem im Zusammenhang mit Erhöhungen der CK-Aktivität und dem Auftreten von Lipid-Hydroperoxiden, als Indikator für die Existenz und das Maß von oxidativem Stress anzusehen (Hargreaves et al., 2002; Williams et al., 2004). Die Veränderungen der Konzentrationen im Serum der untersuchten Gruppen des Sommeraufenthaltes zeigen nach Rückkehr vom Höhenttraining höhere mittlere Aktivitäten als zuvor. Haflinger reagieren insgesamt mit deutlicheren Veränderungen als die Maultiere. Hier kommt die größere Belastung dieser Tiere zum Ausdruck (Trag-, und Reittiere).

Die ALT Aktivität ist grundsätzlich in ihrem Verlauf ähnlich der Aktivität von AST und LDH. Dieser empfindliche Indikator für Myopathien und verstärkte Beanspruchung oder degenerative Prozesse des Muskelgewebes zeigt nach dem Sommerhöhenaufenthalt tendenziell erhöhte Aktivitäten an, was eine mäßige physische Belastung erkennen lässt.

Die Laktatdehydrogenase (LDH, gewebsunspezifisches Enzym) zeigt bei allen Gruppen eine tendenziellen Erhöhung der mittleren Aktivität nach dem Sommerhypoxietraining. Diese Tendenz ist am Deutlichsten in der Haflingergruppe festzustellen. Wickler und Greene (2003) prüften die Veränderungen der LDH bei 6 Pferden nach einem 9 tätigen Aufenthalt mit submaximaler Belastung in 3800 m und fanden ebenfalls nur geringfügige Erhöhungen.

Nach Untersuchungen zum antioxidativen Status von Neugeborenen und Jungtieren interpretierten Stohrer et al. (2001) den Anstieg von CK und AST als Folge einer erhöhten Belastung durch Sauerstoffradikale. Die schon beschriebenen, darauf folgenden Forschungen von Hargreaves et al. (2002) und Williams et al. (2004), belegten ebenfalls den Zusammenhang von erhöhten Enzymaktivitäten und erhöhter Entstehung von Sauerstoffradikalen. So sind auch in der vorliegenden Studie die tendenziellen Veränderungen auf die festgestellte teilweise Bildung von Sauerstoffradikalen zurückzuführen, die durch die gefundenen Anstiege der Radikalmarker bestätigt wurden. Insgesamt war der oxidative Stress jedoch nicht so stark, um signifikante Änderungen der Aktivitäten zu bewirken.

Nach dem Winterhypoxietraining der Maultiere änderten sich die Aktivitäten der Enzyme nicht. Eine nachzuweisende physische Belastung blieb durch die eingeschränkte Trainingsleistung aus.

6.5 Veränderungen der Erythrozytenzahlen nach dem Hypoxietraining

Die Erythrozytenzahlen (Ery) drücken sich auch durch den prozentualen Anteil des Gesamtblutes, dem Hämatokrit (Hkt), aus (Kraft und Dürr, 1997). Das Hämoglobin wird, als Bestandteil der Erythrozyten, mit einbezogen und die 3 Parameter begrifflich als Erythrozytenzahlen zusammenzufassen. Inhaltlich und funktionell ist dasselbe ausgedrückt.

Der Verlauf der untersuchten Parameter ist in den einzelnen Gruppen ähnlich. Das Hypoxietraining beeinflusst die Erythrozytenzahlen bei den Maultieren und Haflingern nicht einheitlich (Abb. 7). Maultiere reagieren teilweise mit tendenziellen Erhöhungen im Sommer, teilweise ohne Veränderungen im Winter. In der Haflingergruppe hingegen konnten bei allen drei Parametern signifikante Erhöhungen festgestellt werden (Abb. 7; Tab. 8). Diese richtig einzuschätzen, kann gerade beim Pferd auf Schwierigkeiten stoßen. Die Einflüsse von Alter, Rasse, Verwendungszweck und Trainingszustand sind sehr groß. Außerdem ist zu beachten, dass sich beim Pferd bis zu einem Drittel der gesamten Erythrozyten als Reserve in der Milz gespeichert werden. Das führt bei einer plötzlichen Ausschwemmung durch Adrenalinschübe zu erheblichen Veränderungen der Werte im peripheren Blut (Schäfer, 1999). Der Volumenanteil der Blutzellen ist von der Ernährung und von der körperlichen Beanspruchung abhängig. Im Training befindliche Tiere haben höhere Hämatokritwerte als untrainierte. Die Untersuchungswerte selbst liegen im, in der Fachliteratur angegebenen, Normbereich (Johnston, 1997). Wickler und Greene (2003) beschrieben Anstiege des Hämatokrits von 34 auf 44 %, die lediglich auf akutes Stressgeschehen zurückzuführen waren. In der vorliegenden Studie wurde bei der Blutentnahme darauf geachtet, jegliche Aufregung vor der Blutentnahme zu vermeiden um diese mögliche Fehlerquelle zu minimieren. Durch Anpassungsmechanismen an die Hypoxie und das tägliche Training reagieren die Tiere mit einer vermehrten Bildung und Freisetzung von Erythrozyten, wodurch der Gehalt im Blut während des Sommerhypoxietrainings zunimmt und der signifikante Anstieg des Hämatokrits der Haflinger (um fast 21 %) sowie der Anstieg um 5 % in der Maultiergruppe zu erklären sind. Die Belastung während des Sommers ist regelmäßig stärker als während des Winters, was durch die Nutzungsfrequenz der Tragtiere begründet ist. Im Sommer finden vermehrt Geländemärsche mit Tragtierversorgung statt. Zusätzlich werden die Haflinger noch intensiver, durch regelmäßige Nutzung als Reittiere, trainiert. Weitere Untersuchungen an Pferden liefern regelmäßig ähnliche Ergebnisse, so beschreibt Kozlov (1997) einen signifikanten Anstieg der Erythrozytenzahlen bei Trabern nach einem einmonatigen Höhengaufenthalt. Auch Wickler et al. (2000) finden bei Pferden nach einem 9-tägigen Höhengaufenthalt in 3.800 m einen signifikanten Anstieg der Erythrozytenzahlen. Deutliche Erhöhungen bei Menschen nach körperlicher Belastung mit und ohne Höhengaufenthalt beschreiben auch Böning et al. (1997). Eine spätere Arbeit von Schena et al. (2002) stützt diese Untersuchung. Hier steigen Hämatokritwerte nach einem Höhengaufenthalt von 9 Tagen Dauer in 3100 m teilweise signifikant an.

Welche Veränderungen nun auf den speziellen Hypoxiereiz oder Training zurückzuführen sind, ist nicht zu klären. Es ist bekannt, dass erhöhte Konzentrationen an Erythropoetin, dass die Erythrozytenzahl reguliert, bei Menschen ab einer Höhe von 1780 m schon signifikant nach 6 Stunden gemessen (Ge et al., 2002) wurden. Ein lediglich 3-tätiger Höhengaufenthalt von Pferden bei 1900 m reichte nicht aus, um Erhöhungen des Erythropoetins zu bewirken (Foreman, 1999). Es ist also eine

gewisse Zeit, Dauer und Belastung notwendig, damit Anpassungsmechanismen statt finden können. Hier deuten sich Unterschiede zwischen den Spezies an.

Die nahezu unveränderten Erythrozytenzahlen der Maultiergruppe im Winter, wie auch die nur tendenziell erhöhten Mittelwerte im Sommer, sind einerseits auf die schon beschriebene geringere Trainingsleistung gegenüber der Haflingergruppe zurückzuführen. Andererseits ist es möglich, dass die Maultiere nicht so intensiv auf einen Höhengaufenthalt reagieren. Die grundsätzlich schon gegenüber dem Pferd erhöhten Hämoglobinkonzentrationen (Hurson et al., 2002) und die höhere aerobe Kapazität der Muskulatur (Greene et al., 1995) stellen möglicherweise einen gewissen Leistungsvorsprung dar, der die Höhenadaptation nicht so dringend notwendig macht. Man kann davon ausgehen, dass eine Dosis-Wirkungskurve (Vogt et al., 1999) besteht und dass damit die negativen Konsequenzen eines Aufenthaltes in mittlerer Höhe, wie in der vorliegenden Studie, geringfügiger sind.

Zur Beurteilung der mittelfristigen Auswirkung auf das rote Blutbild wurden die Parameter 60 Tage nach Beendigung des Hypoxietrainings nochmals bestimmt und in beiden Gruppen wieder Werte wie vor dem Höhenttraining gemessen. Die maximale Lebensdauer eines Erythrozyten, von bis zu 160 Tagen, erklärt diese Ergebnisse. Mit einem großen nachhaltigen Effekt war 60 Tage nach Beendigung des Höhenttrainings nicht mehr zu rechnen.

6.6 Auswirkungen des Hypoxietrainings auf die Leistungsfähigkeit

Die vorliegende Studie weist tendenziell erniedrigte Laktatkonzentrationen im Blut der Haflinger nach einem einwöchigen Höhengaufenthalt auf (Abb. 8). Durch die zwischen 34 und 55 Prozent erniedrigten Mittelwerte deutet sich ein positiver Effekt des Hypoxietrainings auf die physische Leistungsfähigkeit an. Vervuert et al. (2005) bestimmten mittels eines standardisierten Belastungstests (SET) stufenweise die Leistungsfähigkeit und den Trainingseffekt einer wiederkehrenden Belastung über einen Zeitraum von 4 Monaten bei zweijährigen Pferden. Hier konnten Erniedrigungen der Laktatwerte gemessen werden. So nahmen die Laktatwerte nach der Belastung zu Ende des Messzeitraumes auf 8,6 mmol/l gegenüber 10,1 mmol/l zu Beginn der Messungen ab. Verbesserte Leistungsfähigkeit nach einem gezielten Konditionsprogramm erzielten auch Trilk et al. (2002), die nach 8 Wochen eine deutliche Verbesserung um 17% erreichten. Hierbei wurde ebenfalls die Laktatbildung als limitierender Faktor gewählt.

Auch Wickler und Greene (2003) stellten mit niedrigeren Laktatkonzentrationen den positiven Effekt eines Höhengaufenthaltes bei Pferden fest. Schwierig zu beurteilen ist, was normaler Trainingseffekt und was spezifischer Höhenreiz bewirkt. Insbesondere bleibt unbeantwortet, ob dem austrainierten Organismus der zusätzliche Hypoxiereiz einen trainingstechnischen Vorteil bietet. Hinweise liefert eine Studie mit trainierten Radfahrern. Hier verbesserten die Sportler ihr Leistungsvermögen stärker nach einem Höhenttraining als nach dem gleichen Training in Normoxie (Terrados, 1992). In Anlehnung hieran fanden Vogt et al. (1999) bei einer Trainingsstudie mit Skirennfahrern in der Hypoxiegruppe eine deutliche Verbesserung der Laktatsituation. Das Hypoxietraining ist bei alpinen Skirennfahrern wirksam. Ähnliche Ergebnisse im menschlichen Muskelgewebe liefern Bender et al. (1989) und Brooks et al. (1991) die sich in eine Höhe von 4300 m begaben und dort die Auswirkungen auf Energieversorgung und Metabolismus untersuchten.

Foreman et al., (1999) fanden nach einem lediglich 3 Tage dauernden Höhengaufenthalt von 1900 m eine erniedrigte Herzfrequenzrate bei Pferden nach Belastung, was somit den positiven Effekt auf die Leistungsfähigkeit unterstreicht. Ähnliche Ergebnisse sind auch aus der Humanforschung veröffentlicht. So entdeckten Svedenhag et al. (1991) nach einem 2 Wochen dauernden Höhengaufenthalt signifikant erniedrigte Herzfrequenzraten bei Bewältigung einer standardisierten Belastung. In der vorliegenden Studie war dieser Effekt nicht nachzuweisen (Abb. 8; Abb. 9). Interessant zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang eine Untersuchung von Hahn et al. (2000). Hier wurde mit trainierten Sportlern der Effekt vom sog. "sleep high, train low"-Verfahren (Levine und Stray-Gundersen, 2001; Schmidt, 2002), dem Aufenthalt in 1800 m Höhe und Training unter hypoxischen Bedingungen innerhalb 23 Tagen differenziert. Hier wurden durchweg höhere Werte bei der Laktatbelastung, als auch der Herzfrequenzrate in der permanenten Höhengruppe gemessen. Dies zeigt eindeutig eine schlechtere physische Leistungsfähigkeit in der Höhe und damit gleichsam die deutlichere Belastung. Um so beeindruckender ist dann die Feststellung, dass so trainierte Sportler und auch Pferde, wieder in Meereshöhe durch die stattgefundenen Adaptationsvorgänge und damit verbundenen Veränderungen im Organismus, wiederum leistungsfähiger sind (Mellerowicz et al., 1970; Mizuno et al., 1990; Svedenhag et al., 1991; Wickler et al., 2000).

6.7 Gruppeninterne Gesamtbetrachtung

Das Hypoxietraining hatte durch die unterschiedlichen Bedingungen auch unterschiedliche Auswirkungen auf die Haflinger und Maultiere im Winter- und Sommerhypoxietraining. Höhenspezifische Krankheitssymptome, die sich u. a. in Koliken oder Herz-, Kreislaufstörungen manifestiert hätten, traten nicht auf.

6.7.1 Sommerhypoxietraining Haflinger

Das Sommerhypoxietraining bewirkte in der Haflingergruppe einen signifikanten Anstieg der antioxidativen Kapazität, was jedoch nicht auf Erhöhungen der antioxidativ wirksamen Vitamine C und E zurückgeführt werden konnte. Dies ist umso erstaunlicher, da ebenfalls ein signifikant erhöhtes Auftreten von Sauerstoffradikalen (Anstiege von HNE-modifizierten Proteinen und MDA) beobachtet wurde. Bestätigt wird dies durch tendenzielle Erhöhungen der Aktivitäten von AST, ALT und LDH. Durch den oxidativen Stress kommt es wahrscheinlich zur Hochregulierung der Aktivität der antioxidativen Enzyme GSHPx und CAT, die somit vermehrt ROS abbauen und zur Verbesserung der Leistungsfähigkeit beitragen können. Ein zusätzlicher positiver Effekt des Hypoxietrainings liegt in der signifikanten Erhöhung der Erythrozytenmasse und der dadurch grundsätzlich erhöhten körperlichen Leistungsfähigkeit. Dies wurde tendenziell durch die Leistungstests bestätigt.

6.7.2 Sommerhypoxietraining Maultiere

Ähnlich der Haflingergruppe stieg auch die gesamte antioxidative Kapazität der Maultiergruppe nach dem Sommerhypoxietraining signifikant an. Hierfür mit verantwortlich ist eine Zunahme der mittleren Konzentration an Vitamin C. Die dadurch ausgedrückte gute Situation des antioxidativen Status zeigte sich auch durch den geringen oxidativen Stress, die nur tendenziell erhöhten Aktivitäten von AST, ALT und LDH im Serum und die tendenziell gering erhöhten Aktivitäten der antioxidativen Enzyme GSHPx und CAT. Zusammenfassend hatte das Höhenttraining einen steigernden Einfluss auf den antioxidativen Status der Maultiere. Auch die Erythrozytenmassen zeigten wie erwartet Erhöhungen der Mittelwerte und lassen somit eine tendenziell verbesserte körperliche Leistungsfähigkeit erwarten.

6.7.3 Winterhypoxietraining Maultiere

Durch die geringere Trainingsbelastung des Winterhypoxietrainings sind deutliche Unterschiede gegenüber dem Sommerhöhenttraining erkennbar. Ein signifikanter Anstieg der Vitamin C-Konzentration nach dem Hypoxietraining hätte eine ebenfalls erhöhte TEAC vermuten lassen. Diese veränderte sich jedoch nicht. Die Aktivität der SOD wurde, beeinflusst durch den Vitamin C Anstieg, herunterreguliert. Tendenzielle Abnahmen der HNE-modifizierten Proteine und gleich bleibende MDA-Konzentrationen zeigen eine gegenüber dem Zeitpunkt vor dem Hypoxietraining geringere Belastung mit Sauerstoffradikalen, was auch eine mögliche Ursache für die tendenzielle Aktivitätsabnahme von GSHPx und CAT darstellt. Erhöhungen der Erythrozytenmasse waren nicht zu erwarten.

6.8 Kritische Beurteilung

Um die physische Leistungsfähigkeit zu überprüfen wurde unter den gegebenen Umständen ein Feldversuch durchgeführt. Ein Problem stellt dabei das Einhalten von standardisierten Versuchsbedingungen bezüglich der Untersuchung der physischen Leistungsfähigkeit ohne Laufband dar. Es wurde versucht, gleiche Belastungen zu erzielen. Trainingseffekte deuten sich an, können aber nicht unzweifelhaft belegt werden.

Ursprünglich sollten die Maultiere ebenfalls in die Untersuchungen bezüglich der Leistungstests (Laktat- und Herzfrequenzerholungszeiten) untersucht werden. Es stellte sich jedoch nach einigen langwierigen Vorversuchen heraus, dass es unmöglich war, die Tiere zu longieren. Dies lag zum Einen daran, dass sie niemals zuvor longiert wurden, zum Anderen an der bekannten schlechten Führbarkeit der Maultiere, was auch anderen Autoren Probleme bereitete (Wickler und Greene, 2003).

Die Höhe und Dauer des jeweiligen Versuchs war ausreichend, um teilweise signifikante Ergebnisse zu liefern, jedoch hätten sich festgestellte Tendenzen ausprägen und Ergebnisse deutlicher werden können, wenn die Höhe größer und/oder die Dauer länger gewesen wäre. So ergab eine Studie an Pferden bezüglich der Erythrozytenzahlen nach 9 Tagen in 4800m Höhe deutlichere Ergebnisse (Wickler et al., 2002).

6.9 Ausblick

Die Untersuchungen liefern interessante und neue Ansatzpunkte für weiterreichende Forschungen. Die Kombination von Training und Hypoxiereiz hat vermutete positive Effekte bestätigt, die es dem Pferd und Maultier ermöglichen, auftretenden oxidativen Stress effizienter zu bewältigen und dadurch Schädigungen zu minimieren. Die positiven Auswirkungen des Hypoxietrainings scheinen die auftretenden Schäden zu überwiegen.

Darüber hinaus sind ROS an Gewebeschädigungen, an verschiedenen Krankheitsbildern und am Alterungsprozess mit beteiligt (Arrigoni und De Tullio, 2002). Lang andauerndes Training von mittlerer Intensität wirkte sich positiv auf die Lebensdauer von Ratten aus (Holloszy, 1993). Beim Menschen reduziert es die Häufigkeit von Krebs und Herz-Kreislaufkrankungen und erhöht dadurch die Lebenserwartung (Sarna et al., 1993; Blair et al., 1995; Goto et al., 1999). Speziell durch Höhengaufenthalt wurde eine signifikant reduzierte Rate an Myocardinfarkten und Sterblichkeiten an Herzkranzgefäßerkrankungen gefunden (Moret, 1980; Heath und Williams, 1981). Die genauen Mechanismen, die für diese verbesserte Herzgesundheit verantwortlich sind, wurden jedoch bis heute nicht entdeckt. Diskutiert wird der effizientere Energiestoffwechsel in der Höhe, vor allem bei intermittierender Hypoxie (Zhuang und Zhou, 1999). Speziell der bisher nicht untersuchte Regulationsmechanismus des Vitamin C auf die SOD-Aktivität birgt interessantes Potential für weitere Untersuchungen.

7 Zusammenfassung

Freie Radikale und aktivierte Sauerstoffmoleküle werden kontinuierlich als Nebenprodukte des physiologischen und pathologischen Stoffwechsels gebildet. Starke körperliche Belastung verstärkt deren Bildung. Auch das Höhenttraining stellt einerseits eine starke körperliche Belastung dar, die zu oxidativem Stress führen kann, andererseits erhöht es die physische Leistungsfähigkeit.

Es sollte die Hypothese geprüft werden, dass durch das routinemäßige Hypoxietraining der Bundeswehr die physische Leistungsfähigkeit der Tragtiere erhöht sowie der körpereigene Schutz gegen Sauerstoffradikale verstärkt wird. Maultiere und Haflinger, die als Tragtiere in Bundeswehrrnutzung eingesetzt werden, absolvierten ein mehrtägiges Höhenttraining (Höhe: 1700 - 2300 m). Die Tiere wurden dabei unterschiedlich stark belastet: im Winter (kürzere Tagesmärsche, nur Maultiere, über 10 Tage); im Sommer (ausgiebige Tagesmärsche, Maultiere und Haflinger, über 7 Tage).

Jeweils vor und nach dem Hypoxietraining wurden als Nachweis für auftretenden oxidativen Stress Radikalmarker (HNE-mod. Proteine im Plasma und MDA im Erythrozytenhämolysat) gemessen. Der antioxidative Status wurde mittels Aktivitäten antioxidativer Enzyme im Erythrozytenhämolysat (GSHPx, SOD, CAT) und der gesamten antioxidativen Kapazität im Serum (TEAC), einschließlich der Vitamine C (Plasma) und E (Serum), bestimmt. Zur Einschätzung von Organschädigungen dienten die Aktivitätsmessungen von CK, AST, ALT und LDH im Serum. Ein Einfluss der Hypoxie auf die Sauerstofftransportkapazität wurde durch Bestimmung der Veränderungen von Hämatokrit, Erythrozytenzahlen und Hämoglobinkonzentration untersucht. Messungen von Laktatkonzentration (im Vollblut) und Herzfrequenzabnahme nach definierten Belastungen dienten zur Beurteilung der physischen Leistungsfähigkeit.

Eindeutige Nachweise für Sauerstoffradikalbelastungen lieferten die signifikanten Anstiege von MDA innerhalb der Haflingergruppe nach dem Sommerhöhenaufenthalt (HvHö: $1,33 \pm 0,38 \mu\text{mol}/\text{mmol Hb.}$; HnHö: $1,93 \pm 0,26 \mu\text{mol}/\text{mmol Hb.}$, $n=5$, *) und von HNE-modifizierten Proteinen (HvHö: $0,038 \pm 0,032 \text{ OD } 450 \text{ nm}$; HnHö: $0,101 \pm 0,028 \text{ OD } 450 \text{ nm}$, $n=5$, *).

In der Maultiergruppe waren die MDA Konzentrationen nach Sommer- und Wintertraining unverändert. Die Mittelwerte der HNE-modifizierte Proteine waren im Sommer erhöht. Die Enzymaktivität der SOD verringerte sich nach dem Höhenaufenthalt der Maultiere im Winter signifikant (MvHö: $2,60 \pm 0,84 \mu\text{mol}/\text{s}/\text{mmol Hb.}$, MnHö: $1,48 \pm 0,56 \mu\text{mol}/\text{s}/\text{mmol Hb.}$, $n=15$, **). CAT und GSHPX zeigten keine eindeutigen Veränderungen.

Die TEAC war nach dem Sommerhypoxietraining in beiden Gruppen signifikant erhöht (MvHö: $0,60 \pm 0,02 \text{ mmol}/\text{l}$; MnHö: $0,71 \pm 0,02 \text{ mmol}/\text{l}$, $n=10$, **; HvHö: $0,64 \pm 0,06 \text{ mmol}/\text{l}$; HnHö: $0,79 \pm 0,05 \text{ mmol}/\text{l}$, $n=5$, *). Die Vitamin C-Konzentration zeigte einen signifikanten Anstieg innerhalb der Maultiergruppe im Winter (MvHö: $14 \pm 6 \mu\text{mol}/\text{l}$; MnHö: $23 \pm 6 \mu\text{mol}/\text{l}$, $n=15$, **). Die Vitamin E Gehalte veränderten sich nicht. Auch die CK-Aktivitäten änderten sich zu keinem

Zeitpunkt. AST-, ALT- und LDH-Aktivitäten zeigten nach dem Sommerhöhenstraining höhere Mittelwerte. Im Winter traten keine Veränderungen auf.

Die erwartete Erhöhung der Sauerstofftransportkapazität (Hkt, Ery, Hb), wurde nur in der Haflingergruppe signifikant nachgewiesen (Hkt: HvHö: $0,30 \pm 0,02$ l/l; HnHö: $0,36 \pm 0,02$ l/l, n=5, **; Ery: HvHö: $6,14 \pm 0,48$ T/l; HnHö: $7,43 \pm 0,32$ T/l, n=5, **; Hb: HvHö: $7,06 \pm 0,57$ mmol/l; HnHö: $8,29 \pm 0,39$ mmol/l, n=5,*). Nach dem Winterhypoxietraining wurden keine Veränderungen in der Maultiergruppe festgestellt.

Eine Verbesserung der physischen Leistungsfähigkeit konnte nicht signifikant nachgewiesen werden. Der niedrigere Mittelwerte der Laktatkonzentrationen nach dem Sommerhypoxietraining der Haflinger könnte dennoch auf eine verbesserte Trainingssituation hinweisen.

Oxidative Schädigungen haben, vor allem beim Sommerhypoxietraining der Haflinger, stattgefunden. Dies ist auch auf die, gegenüber den Maultieren stärkere Belastung durch zusätzliche Nutzung als Reittiere, zurückzuführen. Es ist davon auszugehen, dass eine grössere Höhe und/oder eine längere Dauer des Höhengaufenthaltes deutlichere Veränderungen bewirkt hätte.

Grundsätzlich ist ein Hypoxietraining bei Tragtieren dazu geeignet, den körpereigenen Schutz gegen Sauerstoffradikale zu erhöhen. Dies belegen die teilweise signifikant angestiegenen Vitamin C Konzentrationen und TEAC-Werte, sowie tendenziell erhöhten Aktivitäten von GSHPx und CAT.

7 Summary

The effects of hypoxia training on oxidative stress and physical performance in mules and Haflinger horses.

Free radicals and activated oxygen molecules are continuously produced as byproducts of the physiological and pathological metabolism. Extensive physical load increases the production of those products. On one hand training in high altitude represents an intense physical pressure, which might result in oxidative stress; on the other hand it improves the physical performance.

In the present study, it should be evaluated if the routinely training of pack-animals in high altitude increases the physical performance and the self protection against ROS. Mules (M) and Haflinger horses (H), which are used as pack-animals from the German Army, attended a training in high altitude of several days' duration (Elevation: 1700 - 2300 m). The physical load varied for the animals: during winter (short day trips, only mules, duration over 10 days); during summer (extensive day trips, mules and Haflinger horses, duration over 7 days).

To demonstrate the possible occurrence of oxidative stress, radical markers (HNE-modified proteins in the plasma and MDA in the erythrocyte haemolysate) were measured before and after the training at high altitude. The antioxidative status was determined by measuring the activities of antioxidative enzymes in the erythrocyte haemolysate (GSHPx, SOD, CAT) and the total antioxidative capacity in the serum (TEAC, SAOC) as well as ascorbic acid (AA, plasma) and serum alpha-tocopherol. To evaluate organ damages, the activities of CK, AST, ALT and LDH were measured in the serum. The influence of hypoxia on the capacity of oxygen transportation was determined by measuring alterations of packed cell volume (PCV), the number of erythrocytes (Ery) and the concentration of hemoglobin (Hb). Measurement of the lactate concentration (whole blood) and the decrease of the heart rate after a defined standardized exercise test (SET) were used to judge the physical performance.

The significant increase of MDA (H pre alt: $1,33 \pm 0,38$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$; H post alt: $1,93 \pm 0,26$ $\mu\text{mol}/\text{mmol Hb}$, $n=5$, *) and of HNE-modified proteins (H pre alt: $0,038 \pm 0,032$ OD 450 nm; H post alt: $0,101 \pm 0,028$ OD 450 nm, $n=5$, *) within the group of Haflinger horses after the altitude training during summer provided clear evidence for the burden caused by ROS.

Within the group of mules, the concentrations of MDA remained unaltered after the training in summer and winter. The average values of the HNE-modified proteins were increased during summer. The enzymatic activity of SOD reduced significantly after the altitude training of the mules during winter (M pre alt: $2,60 \pm 0,84$ $\mu\text{mol}/\text{s}/\text{mmol Hb}$., M post alt: $1,48 \pm 0,56$ $\mu\text{mol}/\text{s}/\text{mmol Hb}$., $n=15$, **). CAT and GSHPx did not show distinct changes.

The TEAC values increased significantly for both animal groups after altitude training in summer (M pre alt: $0,60 \pm 0,02$ mmol/l; M post alt: $0,71 \pm 0,02$ mmol/l, n=10, **; H pre alt: $0,64 \pm 0,06$ mmol/l; H post alt: $0,79 \pm 0,05$ mmol/l, n=5, *). Within the group of mules, a significant increase of the vitamin C concentration in winter (M pre alt: 14 ± 6 μ mol/l; M post alt: 23 ± 6 μ mol/l, n=15, **) could be demonstrated. The vitamin E values remained unaltered.

The CK activities did not change at all. The mean values of the AST-, ALT- and LDH activities were increased after the altitude training in summer, whereas no changes could be demonstrated in winter.

The expected increase of the oxygen transportation capacity (PCV, Ery, Hb) could only be demonstrated significantly within the group of Haflinger horses (PCV: H pre alt: $0,30 \pm 0,02$ l/l; H post alt: $0,36 \pm 0,02$ l/l, n=5, **; Ery: H pre alt: $6,14 \pm 0,48$ T/l; H post alt: $7,43 \pm 0,32$ T/l, n=5, **; Hb: H pre alt: $7,06 \pm 0,57$ mmol/l; H post alt: $8,29 \pm 0,39$ mmol/l, n=5, *). No changes were observed within the group of mules after the altitude training during winter.

A significant improvement of the physical ability could not be demonstrated. However, the low mean values of the lactate concentrations after summer altitude training of the Haflinger horses could indicate an increased training situation.

Oxidative damage occurred mainly for the Haflinger horses during the summer altitude training. This is also traced back by the fact that, in contrast to the mules, the Haflinger horses were also used for riding. It can be assumed that a higher altitude and/or a longer duration of the altitude training would have resulted in more significant changes.

In general, the hypoxia training can be used to increase the natural self protection against oxygen radicals. This is documented by the partly significant increase of the vitamin C concentration and TEAC-values as well as the slightly increased activities of GSHPx and CAT.

9 Literaturverzeichnis

Aebi, H., 1984

Catalase in vitro.

Methods in enzymology, 105: 121-126

Ahlers, N., 1992

In vivo und in vitro Analyse der Wirkung von Erythropoetin und des F-SFFV gp55 auf Proliferation und Differenzierung hämatopoetischer Zellen.

Dissertation Fachbereich Biologie der Universität Hamburg

Alessio, H. M. und A. H. Goldfarb, 1988

Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training.

J. Appl. Physiol. 16 (4): 1333-1336

Asmus, K. D. und M. Bonifacic, 2000

Free radical chemistry

In: Sen, C. K., Packer, L. und O. Hanninen (Edtrs.), Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise, Elsevier, Amsterdam, 3-54

Askew, E. W., 1995

Environmental and physical stress and nutrient requirements.

Am. J. Clin. Nutr. 61, 631-637

Askew, E. W., 1997

Nutrition and Performance in hot, cold and high altitude environments.

In: Wolinsky, I. (Ed.), Nutrition in Exercise and Sport, third e. CRC Press, Boca Raton, FL, 597-619

Askew, E. W., 2002

Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients.

Toxicology 15;180 (2): 107-19

Avellini, L., Chiaradia, E. und A. Gaiti, 1999

Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*).

Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.; 123 (2): 147-54.

Bailey, D. M. und B. Davies, 1997

Physiological implications of altitude training for endurance performance at sea level: a review.

Br J Sports Med; 31 (3):183-90

Balogh, N., Gaal, T., Ribiczeyne, P. S. und A. Petri, 2001

Biochemical and antioxidant changes in Plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise.

Vet Clin Pathol.; 30 (4): 214-218

Banchero, N., 1975

Capillary density of skeletal muscle in Docks exposed to simulated altitude.

Proc Soc Exp Biol Med 148, 435-439

Belcastro, A., Arthur, G., Albisser, T. und D. Raj, 1996

Heart, liver and skeletal muscle myeloperoxidase activity during exercise.

J Appl Physiol., 80: 1331-1335

Bender, P. R., Groves B. M., McCulloch, R. E., McCulloch, R. G., Trad, L., Young, A. J., Cymerman, A. und J. T. Reeves, 1989

Decreased exercise muscle lactate release after high altitude acclimatization.

J Appl Physiol 67: 1456-1462

Bigard, A., Brunet, A. und C. Guezennec, 1991

Skeletal muscle changes after endurance training at high altitude.

J Appl Physiol 71, 2114-2121

Bindoli, J., Rigobello, M. P. und D. J. Deeb, 1992

Biochemical and toxicological properties of the oxidation products of catecholamines.

Free Rad. Biol. Med. 13, 391-405

Blair, S. N., Kohl, H. W. und C. E. Barlow, 1995

Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men.

J Am Med Assoc 273, 1093-1098

Brooks, G. A., Butterfield, G. E., Wolfe, R. R., Groves, B. M., Mazzeo, R. S., Sutton, J. R., Wolfel, E. E. und J. T. Reeves, 1991

Decreased reliance on lactate during exercise after acclimatization to 4300 m.

J Appl Physiol 71: 333-341, 1991

Brooks, G. A., Fahey, T. D., White, T. P. und K. Baldwin, 1999

Exercise, atmospheric pressure, air pollution, and travel.

Exercise Physiology. Mayfield, Mountain View, CA, 504-536

Böning, D., 1997

Altitude and Hypoxia Training - A Short Review.

Int. J. Sports Med., Vol. 18. 565-570

Boffi, F. M., Cittar, J., Balskus, G., Muriel, M. und E. Desmaras, 2002

Training-induced apoptosis in skeletal muscle.

Equine Vet J Suppl.; (34): 275-8

Brincker, B., 2004

Einsatz von L-Glutamin und seine Wirkung auf den antioxidativen Status bei Galopprennpferden.

Dissertation Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Butler, J. und B. Halliwell, 1982

Reaction of iron-EDTA chelates with the superoxide radical.

Arch Biochem Biophys 218, 174-178

Chandan, K. S., 1995

Oxidants and antioxidants in exercise.

J Appl Physiol., 79 (3): 675-86

Chow, C. K., 1991

Vitamin E and oxidative stress.

Free Radic Biol Med., 11: 215-32

Corbucci, G. G., Montanari, G., Cooper, M. B., Jones, D. A. und R. H. T. Edwards, 1984

The effect of exertion on mitochondrial oxidative capacity and some antioxidant mechanisms in muscle from Marathon runners.

Int. J. Sports. Med. 5, 135 Supplement

Cymerman, A., 1996

The physiology of high-altitude exposure.

In: Mariott, B. M., Carlson, S. J. (Eds.), Nutritional Needs in Cold and High-Altitude Environments. National Academy Press, Washington, DC, 295-317

Davies, K. J. A., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A. und L. Packer, 1982

Free Radikals and tissue damage produced by exercise.

Biochem Biophys Res Commun., 107: 1198-205

De Marees, H., 1981

Sportphysiologie

In: Medizin von heute, Troponwerke, Köln

Deaton, C. M., Marlin, D. J., Roberts, C. A., Smith N., Harris, P. A., Kelly, F. J. und R. C. Schroter, 2002

Antioxidant supplementation and pulmonary funktion at rest and exercise.

Equine Vet J Suppl.; (34): 58-65.

Davie, A. J., Priddle, T. L. und D. L. Evans, 2002

Metabolic Responses to a submaximal field exercise tests and relationships wick racing Performance in pacing Standardbreds.

Equine Vet J Suppl. (34): 112-5

De Moffarts, B., Kirschvink N., Art, T., Pincemail, J. und P. Lekeux, 2005

Effect of oral supplementation on blond antioxidant status in trained throughbred horses.

Vet J.; 169 (1): 65-74

De Paoli Vitali, E., Guglielmini, C., Casoni, I., Vedovato, M., Gilli, P. und A. Farinelli, 1988

Serum erythropoietin in cross-country skiers.

Int J Sports Med; 9: 99-101

Ebbeling, C. und P. M. Clarkson, 1989

Exercise induced muscle damage and Adaptation.

Sports-Med., 7: 207-34

Eckert, R., 2002

Tierphysiologie

Georg Thieme Verlag Stuttgart, 13, 590-1

Erlenfeld, G., 2005

Untersuchung des oxidativen Status.

In: DIALOG Chromsystems 1/05

Esterbauer, H., Schaur, R. J. und H. Zollner, 1991

Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes.

Free Rad Biol Med; 5: 156-70.67

Evans, W. und J. Cannon, 1991

Metabolic effect of exercise induced muscle damage.

Exerc Sports Sci Rev., 23: 135-66

Evans, P. und B. Halliwell, 2001

Micronutrients: oxidant/antioxidant Status.

Br. J. Nutr. 85, 67-74

Fuchs, H. J. und C. L. Jr. Borders, 1983

Affinity inactivation of bovine Cu, Zn superoxide dismutase by hydroperoxide anion, HO₂⁻.

Biochem Biophys Res Commun. Nov 15; 116 (3): 1107-1113

Forman, H. J. und I. Fridovich, 1973

Superoxide dismutase: A comparison of rate constants.

Arch Biochem Biophys 158, 396-400

Foreman, J. H., Waldsmith, J. K., Lalum, R. B. und L. B. Jeffcot, 1999

Environmental stress and 3-day eventing: effects of altitude.

Equine Veterinary Journal

Ferretti, G., Kayser, B., Schema, F., Turner, D. L. und H. Hoppeler, 1992

Regulation of perfuse O₂ transport during exercise in humans: Effects of changes in hämoglobin concentration.

J. Physiol. (London) 455: 679-688

Fisher, J. W., 1988

Pharmacologic modulation of erythropoietin production.

Annu Rev Pharmacol Toxicol; 28: 101-22

Fridovich, I., 1986

Superoxide dismutases.

Advances in Enzymology, 58: 61-97

Fridovich, I., 1995

Superoxide radical and superoxide dismutases.

Annu. Rev. Biochem. 64, 97-112

Fuchs, J. und L. Packer, 1991

Photooxidative stress in the skin.

In: Sies, H. (Ed.), Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants.
Academic Press, London, 561-583.

Ge, RL., Witkowski, S., Zhang, Y., Alfrey, C., Sivieri, M., Karlsen, T., Resaland, GK., Harber, M., Stray-Gundersen, J. und B. D. Levine, 2002

Determinants of erythropoietin release in response to short-term hypobaric hypoxia.

J Appl Physiol; 92 (6): 2361-7

Gleeson, M., Robertson, J. D. und R. J. Maughan, 1987

Influence of exercise on ascorbic acid status in man.

Clin-Sci, 73: 501 - 5

Goldberg, M. A. und T. J. Schneider, 1994

Similarities between the oxygen-sensing mechanisms regulating the expression of vascular endothelial growth factor and erythropoietin.

J Biol Chem; 269: 4355-9.

Gorecka, R., Sitarska, E. und W. Klucinski, 2002

Antioxidant parameters of horses according to age, sex, breed and environment.

Pol J Vet Sci. 2002; 5 (4): 209-16.

Goto, S., Nakamura, A. und Z. Radak, 1999

Carbonylated Protein in aging and exercise: Immunoblot approaches.

Mech Ageing Dev 107, 245-25

Greene, H., Sutton, J. und E. Wolfel, 1992

Altitude acclimatization and energy metabolism adaptations in skeletal muscle during exercise.

J Appl Physiol 73, 2701-2708

Greene, H., Wickler, S. und R. Tucker, 1995

Fiber type composition of the middle gluteal muscle of mules.

J Equine Vet Sci 15, 388-390

Greene, H., Wickler, S. und T. Anderson, 1999

High-altitude effects on respiratory gases, acid-base balance and pulmonary artery pressures in equids.

Equine Vet J Suppl 30, 71-76

Gürke, L., Marx, A., Sutter, P. M., Frenzel, A., Martinoli, S., Landmann, J. und M. Herberer, 1995

Ischämische Präkonditionierung verbessert die postischämische Funktion, nicht aber den Energiemetabolismus der Skelettmuskulatur.

Swiss Surg., 2: 107-9

Hahn, A. G., Gore, C. J., Martin, D. T., Ashenden, M. J., Roberts, A. D. und P. A. Logan, 2001

An evaluation of the concept of living at moderate altitude and training at sea level.

Comp Biochem and Physiol Part A 128, 777-789

Halliwell, B., 1994

Free radicals and antioxidants: A personal view.

Nutr. Rev., 52 (8): 253-265

Halliwell, B., 1997

Antioxidants and human disease: a general introduction.

Nutr-Rev., 55: 44-49

Halliwell, B. und J. M. C. Gutteridge, 1985

Oxygen radicals and the nervous system.

Trends Neurosci., 8: 22-2

Halliwell, B. und J. M. Gutteridge, 1986

Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problems and concepts.

Arch Biochem Biophys 246, 501-514

Halliwell, B. und J. M. C. Gutteridge, 1990

The antioxidants of human extracellular fluids.

Arch Biochem Biophys., 280: 1-8

Hargraves, B. J., Kronfeld, D. S., Waldron, J. N., Lopes, M. A., Gay, L. S., Saker, K. E., Cooper, W. L., Sklan, D. J. und P. A. Harris, 2002

Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise.

Equine Vet J Suppl.; (34): 116-21

Heath, D. und D. R. Williams, 1981

Man at High Altitude.

Edinburgh, Churchill Livingstone

Helaine, M. A. und A. H. Goldfarb, 1988

Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training.

American Physiological Society

Hellsten, Y., 1994

The role of xanthin oxidase in exercise.

In: Sen, C. K. P. L., Hanninen, O. (Eds.), Exercise and Oxygen Toxicity. Elsevier, New York, 211-234

Higuchi, M., 1983

Low density lipoproteine cytotoxicity induced by free radicals.

J. Lipid Res., 24: 1070-1076

Hodgson, D. R. und R. J. Rose, 1994

The equine athletic horse.

W. B. Saunders Company, Philadelphia

Holloszy, J. O., 1993

Exercise increases average longevity of female despite increased food intake and no growth Retardation.

J Gerontol 48, 97-100

Hornbein, T. F., 2001

The high-altitude brain.

J. Exp. Biol. 204, 3129-3132

Hoppeler, H. und P. Carretelli, 1996

Morphologic and metabolic response to chronic hypoxia: the muscle system.

Handbook of Physiology, Section 4 Environmental Physiologie 2, Oxford University Press, 1155-1181

Hoppeler, H. und M. Vogt, 2001

Muscle tissue adaptations- to hypoxia.

J. Exp. Biol. 204, 3133-3139

Hoshikawa, Y., Ono, S., Suzuki, S., Tanita, T., Chida, M., Song, C., Noda, M., Tabata, T., Voelkel, N. F. und S. Fujimura, 2001

Generation of oxidative stress contributes to the development of pulmonary hypertension induced by hypoxia.

J. Appl. Physiol. 90, 1299-1306

Huey, R. B. und X. Eguskiza, 2001

Limits to human performance: elevated risk on high mountains.

J. Appl. Physiol. 90, 1299-1306

Hurson, M., Greene, H. und J. Szewczak, 2002

2,3-DPG changes in horses, mules and burros with exposure to altitude.

Physiologist 45, 376

Jackson, M., 1994

Exercise and oxygen radical production by muscle.

In: Sen, C. K., Packer, L. und Hanninen, O. (Eds.),
Exercise and Oxygen Toxicity. Elsevier, New York, 49-57

Jackson, C. G. R. und B. J. Sharkey, 1988

Altitude, training and human performance.

Sports Med 6, 279-284

Jefferson, J. A., Simoni, J., Escudero, E., Hurtado, M. E., Swenson, E. R., Wesson, D. E., Schreiner, G. F., Schoene, R. B., Johnson, R. J. und A. Hurtado, 2004

Increased oxidative stress following acute and chronic high altitude exposure.

High Alt Med Biol. Spring; 5 (1): 61-9

Jenkins, R. R., 1988

Free radikal chemistry: relationship to exercise.

Sports Med., 5: 156-70

Joanny, P., Steinberg, J., Robach, P., Richalet, J. P., Gortan, C., Gradette, B. und Y. Jammes, 2001

Operation Everest III (Codex `97): the effect of simulated serve hypobaric hypoxia on blood lipid peroxidation and antioxidant defence systems in human blood at rest and after maximal exercise.

Resuscitation 49, 307-314

Johnston, A. M. und W. Bellinghaus, 1997

Kompendium der inneren Krankheiten des Pferdes.

Kapitel 15, Laboruntersuchungen und Normalwerte

Kanter, M., 1998

Free Radikals, exercise and antioxidant supplementation.

Proceedings of tue Nutrition Society 57: 9-13

Kao, P. F., Lee, W. S., Liu, J. C., Chan, P. Tsai, J. C., Hsu, Y. H., Chang, W. Y., Cheng, T. H. und S. S. Liao, 2003

Downregulation of Superoxide Dismutase Activity and Gene Expression in Cultured Rat Brain Astrozytes after Incubation with Vitamin C.

Pharmacology; 69: 1-6

Kelly, F. J., 1993

Free radical disorders of preterm infants.

Br Med Bull., 49 (3): 668-78

Kirschvink, N. und P. Lekeux, 2002

Oxidative stress in equine medicine - Current knowledge

Pferdeheilkunde 18, 6, 569 - 573

Kolb, E., 1963

The metabolism of iron in farm animals under normal and pathologic condition.

Adv Vet Sci Comp Med 8, 49-114

Kolb, E., 1989

Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, 5. überarb. Auflage, Band I, Kapitel 5.7

Kozlov, SA., 1997

Adaptation to hypoxia as a faktor enhancing work capacity.

Vestn Ross Akad Med Nauk; (5): 46-50

Kraft, W. und U. M. Dürr, 1997

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.

4. überarb. Und erw. Aufl. -Stuttgart; New York: Schattauer, 1997

Kuno, S., Inaki, M., Tanaka, K., Itai, Y. und K. Asano, 1994

Muscle energetics in short-term training during hypoxia in elite combination skiers.

Eur J Appl Physiol; 69: 301-4

Liesen, H. und W. Hollmann, 1972

Der Einfluss eines zweiwöchigen Höhentrainings auf die Leistungsfähigkeit im Flachland, gemessen an spiroergometrischen und metabolischen Parametern.

Sportarzt und Sportmed. 8, 157-161

Legel, S., 1993

Nutztiere der Tropen und Subtropen.

S. Hirzel Verlag Stuttgart, Band 3, 4.3, 54

Levander, O. A., DeLoach, D. P., Morris, V. C. und P. B. Moser, 1983

Platlet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats.

Journal of Nutrition, 113

Levine, B. D. und J. Stray-Gundersen, 2001

The effects of altitude training are mediated primarily by acclimatization, rather than by hypoxic exercise.

Adv Exp Med Biol; 502: 75-88

Lindner, A., Wahdati, A. und H. Sommer, 1992

Glutathione peroxidase activity in whole blood and plasma of horses of different ages, sexes and different use.

Berl Münch Tierarztl Wochenschr. 1; 105 (7): 239-42

Maeda, N. und S. Takeshi, 1994

Velocity of oxygen transfer and erythrocyte rheology.

News Physiol. Sci. 9, 23-27

Marklund, S. und G. Marklund, 1974

Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase.

Eur-J-of biochemistry, 47: 469-474

Marlin, D. J., Fenn, K., Smith, N., Deaton, C. D., Roberts, C. A., Harris, P. A., Dunster, C. und F. J. Kelly, 2002

Changes in Circulatory Antioxidant Status in Horses during Prolonged Exercise.

J. Nutr. 132: 1622-1627

Maxwell, S. R. J., Jakeman, P., Thomason, H., Leguen, C. und G. H. G. Thorpe, 1993

Changes in Plasma antioxidant Status during eccentric exercise and the effect of Vitamin supplementation.

Free-Rad-Res-Comm., 19 (3): 191 - 202

McCord, J. M., 1985

Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury.

N Engl J Med., 312 (3): 159-63

McCord, J. M., 1993

Human disease, free radicals, and the oxidant/ antioxidant balance.

Clin-Biochem., 26 (5): 351-7

McCord, J. M. und I. Fridovich, 1969

The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions.

J Biol Chem 244, 6056-6063

McMeniman, N. P. und H. F. Hintz, 1992

Effect of vitamin E status on lipid peroxidation in exercised horses.

Equine-Vet-J., 24 (6): 482 - 484

Mellerowicz, H., Meller, W. Woweries, J., Zerdick, J., Kentusinh, O., Kral, B. und W. Heepe, 1970

Vergleichende Untersuchungen über Wirkungen von Höhenttraining auf die Dauerleistung in Meereshöhe.

Sportarzt und Sportmed. 21, 207-240

Michiels, C., Raes, M., Toussiant, O. und J. Remacle, 1994

Importance of selen- glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn- SOD for cell survival against oxidative stress.

Free Radic Biol Med., 17: 235-48

Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P.M., C. A. Rice-Evans, 1996

Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls.

FEBS Letters 384: 240-242

Mills, P. C., Smith, N. C., Casas, I., Harris, R. C. und D. J. Marlin, 1996

Effects of exercise intensity and environmental stress on Indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse.

Eur J Appl Physiol., 74: 60-66

Miyazaki, H., Oh-ishi, T. und T. Ookawara, 2001

Strenuous endurance training in human reduces oxidative stress following exhausting exercise.

Eur J Appl Physiol 84,1-6

Mizuno, M., Juel, C., Bro-Rasmussen, Th., Mygind, E., Schibye, B., Rasmussen, B. und B. Saltin, 1990

Limb sceletal muscle adaptation in athletes after training in altitude.

J Appl Physiol 68, 496-502

Mobanraj, P., Merola, J., Wright, V. und T. Clanton, 1998.

Antioxidants protect rat diaphragmatic muscle function under hypoxic conditions.

Am. J. Physiol. 84, 1969-1966

Moller, P., Loft, S., Lundby, C. und N. V. Olsen, 2001

Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative damage in humans.

FASEB J. 15, 1181-1186

Moret, P. R., 1980

Hypoxia and the heart.

New York, Academic Press, 333-387

Munoz, A., Santisteban, R., Rubio, M. D., Vivo, R., Aguera, E. I., Escibano, B. M. und Castejon, F. M., 1997

The use of functional indexes to evaluate fitness in Andalusian horses.

J Vet Med Sci. 59 (9): 747-752

Neubauer, J., 2001

Invited review: physiological and pathological Responses to intermittent hypoxia.

Am J. Physiol. 90, 1593-1599

Ohlenschläger, G., 2000

Freie Radikale, oxidativer Stress und Antioxidantien.

Ralf Reglin Verlag, Köln

Overbeek, G. A., 1985

Hormonal regulation of ascorbic acid in the adrenal of the rat.

Acta Endocrinologica, 109: 393-402

Paglia, D. E. und W. N. Valentine, 1967

Studies of the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte peroxidase

Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 70, 158-169

Palazetti, S., Rousseau, A. S., Richard, M. J., Favier, A. und I. Margaritis, 2004

Antioxidant supplementation preserves antioxidant Response in physical training and low antioxidant intake.

British Journal of Nutrition, 91, 91-100

Pryor, W. A. und N. A. Porter, 1990

Suggested Mechanismus for the production of 4-hydroxy-2-nonenal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids.

Free Rad Res Commun; 8: 541-3

Pryor, W. A. und G. L. Squadrito, 1995

The chemistry of peroxynitrite: A product from the Reaction of nitric Oxide with superoxide.

Am J Physiol 268, 699-722

Purkayastha, S. S., Sharma, R. P., Ilavaahagan, G., Siridharan, K., Ranganathan, S. und W. Selvamurthy, 1999

Effect of Vitamin C and E in modulating peripheral vascular response to local cold stimulus in man at high altitude.

Jap. J. Physiol. 49, 159-167

Rahman, I., Morrison, D., Donaldson, K. und W. MacNee, 1996

Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers.

Am. J. Respir. Crit. Care Med. 154, 1055-1060

Roach, R. C. und P. H. Hackett, 2001

Frontiers of hypoxia research: acute mountain sickness.

J. Exp. Biol. 204, 3161-3170

Roach, R. C., Maes, D., Sandoval, D., Robergs, R. A., Icenogle, M., Hinghofer-Szalky, H. H., Lium, D. und J. A. Loepky, 2000

Exercise exacerbates acute mountain sickness at simulated high altitude.

J. Appl. Physiol. 88, 581-585

Robertson, J. D., Maughan, R. J. und G. G. Duthie, 1991

Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load.

Clin Sci 80, 611-618

Rodriguez, FA., , Ventura, JL., Casas, M., Casas, H., Pages, T., Rama, R., Ricart, A., Palacois, L., G. Viscor, 2000

Erythropoietin acute Reaktion and haematological adaptations- to schort, intermittent hypobaric hypoxia.

Eur-J-Appl-Physiol., 82 (3): 170-7

Rodriguez, FA., , Ventura, JL., Casas, M., Casas, H., Pages, T., Rama, R., Ricart, A., Ibanez, J., G. Viscor, 1999

Intermittent hypobaric hypoxia stimulates erythropoiesis and improves Aerobic capacity.

Med-Sci-Sports-Exerc., 31 (2): 264-8

Roskamm, H., Landry, F., Samek, L., Schlager, M., Weidemann, H. und H. Reindell, 1969

Effects of a standardized Ergometer Training program at three different altitudes.

J Appl Physiol 27, 840-847

Sandoval, D. A. und K. S. Matt, 2002

Gender differences in the endocrine and metabolic responses to hypoxic exercise.

J. Appl. Physiol. 92, 504-512

Sarna, S., Sahi, T. und M. Koskenuvo, 1993

Increased life expectancy of world class male athletes.

Med Sci Sports Exerc 25, 237-244

Schäfer, M., 1999

Hämatologische und biochemische Parameter des gesunden Pferdes.

Handbuch Pferdepraxis, Hrsg: Huskamp, B. und Dietz, O.

Schena, F., Cuzzolin, L., Rossi, L., Pasetto, M. und B. Benoni, 2002

Plasma nitrite/nitrate and erythropoietin levels in cross-country skiers during altitude training.

J Sports Med Phys Fitness; 42: 129-34

Schmidt, W., 2002

Effects of intermittent exposure to high altitudes on blood volume and erythropoietic activity.

High Alt Med Biol Summer; 3 (2): 167-76

Schmidt, R. F. und G. Thews, 1995

Physiologie des Menschen

Springer, 27, 608-9

Schoene, R. B., 2001

Limits of human lung function at high altitude.

J. Exp. Biol. 204, 3121-3127

- Schwandt, H. J., Heyduck, B., Gunga, H. C. und L. Rocker, 1991
Influence of prolonged physical exercise on erythropoietin concentration in blood.
Eur J Appl Physiol; 63: 463-6.
- Semenza, G. L., 2000
HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia.
J Appl Physiol 88: 1474-1480
- Semenza, G. L., Roth, P. H., Fang, H. M. und G. L. Wang, 1994
Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible Faktor.
J Biol Chem; 269: 23757-63
- Sen, C. K., 1995
Oxidants and antioxidants in exercise.
J Appl Physiol., 79 (3): 675-686
- Sen, C. K., Ataley, M. und O. Hanninen, 1994
Exercise induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency.
J Appl Physiol., 77: 2177-87
- Sies, H., 1991
Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants.
Academic Press, London, xv-xxii
- Simon-Schnass, I. und H. Pabst, 1988
Influence of Vitamin E on Performance.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 58, 49-54.

Sjodin, B., Westing, Y. H. und F. S. Apple, 1990

Biochemical mechanisms for oxygen free radical Formation during exercise.

Sports Med., 10: 236-254

Skarda, R. T., Muir, W. W., Milne, D. W. und A. A. Gabel, 1976

Effects of training an resting and posterexercise ECG in standardbred horses, using a standardized exercise test.

Am J Vet Res. 37 (12): 1485-8

Smith, L. L., 1991

Acute inflammation: The underlying mechanism in delayed onset muscle soreness?

Med Sci Sports Exercise, 23: 542-554

Snow, D. H., Gash, S. P. und J. Cornelius, 1987

Oral administraton of ascorbic arid to horses.

Equine Vet J., 19, 530-533

Stohrer, M., Lutz, S. und M. Stangassinger, 2001

Antioxidativer Status von Neugeborenen und Jungtieren.

In: Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier.

(Hrsg.: Schubert, R.)

8. Symposium 26. - 27. Sept., Jena, Thüringen: 361 - 364

Stohrer, M., Hammer, B., Hammer, R., Brincker, B. und M. Stangassinger, 2002

Oxidativer Stress infolge extremer physischer Belastung.

Tierärztl. Prax.; 30: 266-270

Suzuki, Y., 1990

Synergism of ascorbic acid and glutathione in the reduction of hexavalent chromium in vitro.

Ind Health 28, 9-19

Svedenhag, J., Saltin, B., Johannson, C. und L. Kaijser, 1991

Aerobic and anaerobic exercise capacities of elite middle-distance runners after two weeks of training at moderate altitude.

Scand J Med Sci Sports: 1: 205-214

Taylor, R. P., Ciccolo, J. T. und J. W. Starnes, 2003

Effect of exercise training on the ability of the rat heart to tolerate hydrogen peroxide.

Cardiovasc Res 58, 575-581

Terrados, N., 1992

Altitude Training and muscular metabolism.

Int J Sports Med 13, Suppl 1; 206-209.

Trilk, J. L., Lindner, A. J., Greene, H. M., Alberghina, D. und S. J. Wickler, 2002

A lactate-guided conditioning programme to improve endurance Performance.

Equine Vet J Suppl. Sep; (34): 122-5

Vervuert, I., Coenen, M. und J. Zamhofer, 2005

Effects of draught load exercise and training on calcium homeostasis in horses.

J Anim Physiol Anim Nutr; 89 (3-6): 134-9

Viguie, C. A., Frei, B., Shigenaga, M. K., Ames, B. N., Packer, L. und G. A. Brooks, 1993

Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise.

J Appl Physiol., 75 (2): 566-72

Vogt, M., Werlen, L. und H. Hoppeler, 1999

Spielformen des Höhentrainings.

Schweizerische Zeitschrift für Sportmedizin und Sporttraumatologie 47 (3), 125-128

Von Engelhardt, W., Hörnicke, H., Ehrlein, H. J. und E. Schmidt, 1973

Lactat, Pyruvat, Glucose und Wasserstoffionen im venösen Blut bei Reitpferden in unterschiedlichem Trainingszustand.

Zbl. Vet. Med. A, 20, 173-187

Von Engelhardt, W., 1979

Die Beziehung zwischen der Bewegungsgeschwindigkeit und der Herzschlagfrequenz beim Pferd.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 86,2

Von Engelhardt, W., 1992

Körperliche Leistungsfähigkeit - ein Vergleich zwischen Pferden und Menschen.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 99, 24-26

Wegger, I., Tagwerker, F. J., J. Moustgaard, 1984

Ascorbic acid in Domestic animals.

Proceed. Roy. Danish Agric. Soc., Copenhagen

White, A., Estrada, M., Walter, K., Wisnia, P., Filgueira, G., Valdes, F., Araneda, O., Martinez, C. und R. Martinez, 2001

Role of exercise and ascorbat on Plasma antioxidant capacity in throughbred race horses.

Comparative Biochem. And Physiol. A - Molecular and Intergrative Physiology 128:1, 99-104

Wickler, S. J. und T. P. Anderson, 2000

Haematological changes and athletic performance in horses in response to high altitude (3,800 m).

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 279 (4): R 1176-81

Wickler, S. J., Greene, H. M., Cogger, E. A., Foster, L. A. und W. Braun, 2003

Altitude acclimatization in horses and mules.

US Davis CEH Research Report: Performance

Williams, C. A., Kronfeldt, D. S., Hess, T. M., Saker, K. E., Waldorn, J. N., Crandell, K. M., Hoffman, R. M. und P. A. Harris, 2004

Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race.

J Anim Sci.; 82 (2): 588-94

Wing, S. L., Askew, E. W., Luetkemeier, M. L., Ryujin, D. T., Kamimori, G. und C. K. Grissom, 2002

Oxygen-Promoting dietary supplements, hypoxia and oxidative stress during simulated attitude exposure.

Wild Environ. Med. 13, 74

Zhuang, J. G. und Z. N. Zhou, 1999

Protective Effects of intermittent Hypoxic Adaptation on Myocardium and Its Mechanisms.

Biol Signals Recept; 8: 316-322

Danksagung

Der größte Dank gilt meinen Eltern, Brunhilde und Ewald Menn, Neheim Hüsten, dafür, mir meine Ausbildung und das Studium der Veterinärmedizin ermöglicht zu haben. Ohne die damit verbundenen eigenen Entbehrungen wäre letztendlich auch die Anfertigung dieser Dissertation nicht möglich gewesen: Von ganzem Herzen Danke für meinen Traumberuf!

Ich danke Herrn Professor Dr. Manfred Stangassinger und Herrn Dr. Manfred Stohrer für die Integration am Institut und die fundierte und intensive Betreuung. Besonders Herr Dr. Manfred Stohrer war permanent um den wissenschaftlichen Anspruch der Arbeit bemüht. Ihm gebührt ein besonderer Dank für sein außerordentliches persönliches und aufopferungsvolles Engagement. Die Nummer 3 im Team, der aber nicht minder Dank gebührt, ist Frau Sieglinde Hirmer, die durch Ihr umfassendes Laborwissen und Ihre wertvollen menschlichen Eigenschaften ebenfalls maßgeblich zum Gelingen der Untersuchungen und der Arbeit beitrug!

Für konstruktive Kritik und intensivste Unterstützung danke ich Frau Dr. Beate Kümmerer, Hamburg. Es ist schön, sich jederzeit auf jemanden verlassen zu können: Danke für die tiefe Freundschaft!

Ein offenes Ohr und verschiedene nützliche Anregungen gaben mir meine Schwester, Frau Marion Menn-Hauptvogel und mein Schwager, Dieter Hauptvogel, Bad Säckingen, Familie Dr. Graf Herbert und Freifrau Birgit Langen, Hinterstriemen, sowie Frau Dr. Daniela Heldt, Haldenwang und Frau Dr. Anke Höhmann, St. Peter Ording.

Beim Einsatz- und Ausbildungszentrum für Gebirgstragtierwesen der Bundeswehr in Bad Reichenhall gebührt mein Dank dem ehemaligen Leiter, Herrn Dr. Wolfram Noreisch und dem jetzigen Leiter, Herrn Dr. Franz Edler von Rennenkampff, die mein Vorhaben permanent wohlwollend unterstützten und mir jederzeit freie Hand bei der Planung und Durchführung der notwendigen Untersuchungen bei den Maultieren und Haflingern ließen. Für tatkräftige Unterstützung danke ich allen Soldaten und Soldatinnen dort, die mir bei der Probennahme halfen und ohne welche die Untersuchungen nicht hätten durchgeführt werden können. Hier besonders Herrn Matthias Havel, Herrn Ronny Raßlof und Herrn Ronny Schilinski.

Außerdem danke ich Herrn Dr. Dressler, Sanitätsamt der Bundeswehr, München, für seine profunden Beratungen und Stellungnahmen als Tierschutzbeauftragter der Bundeswehr.