

Aus dem Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene
der Tierärztlichen Fakultät München
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. M. H. Erhard

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. M. H. Erhard

Blut- und Speichelparameter beim Kaltblutpferd in Ruhe und bei Zugarbeit

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

von Kirstin Kroner
aus
München

München 2006

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

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

Referent: Univ.-Prof. Dr. M. H. Erhard

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

Tag der Promotion: 28. Juli 2006

Meinen Eltern

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ACTH	adrenocorticotropes Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AF	Atemfrequenz
ATP	Adenosintriphosphat
bpm	beats per minute; Herzschläge pro Minute
CBG	Corticosteroid binding globulin
CK	Kreatinkinase
CRH	Corticosteroid releasing hormone
CrP	Kreatinphosphat
EC	Effizienzkoeffizient; Geschwindigkeit/HF
FAD	Flavinadenindinucleotid (oxidiert)
FADH ₂	Flavinadenindinucleotid (reduziert)
FF	fast fatigable; schnell kontrahierende, ermüdbare Muskelfasern
FFS	freie Fettsäuren
FR	fatigue resistant; schnell kontrahierende, kaum ermüdbare Muskelfasern
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
Gl.	Glandula; Drüse
HF	Herzfrequenz
HF _{max}	maximale Herzfrequenz
HT	high transport
LDH	Laktatdehydrogenase
LLK	Laktat-Laufgeschwindigkeits-Kurve
LT	low transport
MAOD	maximum accumulated oxygen deficit
MCT	H ⁺ -monocarboxylate-co-transporter
MLSS	maximum lactate steady state
NAD	Nicotinamidadenindinucleotid (oxidiert)
NADH	Nicotinamidadenindinucleotid (reduziert)
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PaCO ₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PaO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
r	Regressionskoeffizient
SD	standard deviance; Standardabweichung
SEM	standard error of means; Standardfehler
V _E	Atemminutenvolumen
V _T	Atemzugvolumen
V _{Ri}	inspiratorisches Reservevolumen
v ₂₀₀	Geschwindigkeit bei 200 bpm
VO ₂ max	maximale Sauerstoffaufnahme

Gliederung

1	Einleitung	1
2	Literatur	2
2.1	Sekretion, Funktion und Zusammensetzung des Speichels beim Pferd ...	2
2.2	Arbeitsphysiologie des Pferdes	4
2.2.1	Energiegewinnung im Muskel.....	4
2.2.2	Faserzusammensetzung der Skelettmuskulatur.....	6
	Trainingseffekte:.....	8
2.2.3	Atmung und Lungenfunktion.....	9
2.2.4	Sauerstoffaufnahme und Herzleistung	10
	Trainingseffekte	12
2.2.5	Thermoregulation	13
2.3	Beurteilung der Leistungsfähigkeit und des Trainingserfolges	13
2.3.1	Overtraining	15
2.4	Zugarbeit	16
2.5	Herzfrequenz	17
2.6	Laktat	19
2.6.1	Laktat als Leistungsparameter.....	22
2.6.2	Trainingseffekte	22
2.6.3	Laktat im Speichel	24
2.6.4	Probenbehandlung	25
2.7	Glucose	25
2.7.1	Glucose im Speichel.....	26
2.7.2	Probenbehandlung	27
2.8	Laktatdehydrogenase (LDH)	27
2.8.1	Trainingseffekte	28
2.8.2	LDH im Speichel.....	29
2.8.3	Probenbehandlung	29
2.9	Kreatinin	29
2.9.1	Kreatinin im Speichel.....	31
2.10	Harnstoff	32
2.10.1	Harnstoff im Speichel	33
2.10.2	Probenbehandlung	34
2.11	Kreatinkinase (CK)	34
2.11.1	CK im Speichel.....	37
2.11.2	Probenbehandlung	37

2.12	Cortisol	37
2.12.1	Cortisol im Speichel.....	39
2.12.2	Cortisolspiegel unter Stress und körperlicher Belastung	41
3	Tiere, Material und Methoden	43
3.1	Tiere	43
3.2	Versuchsaufbau	43
3.3	Versuchsablauf	45
3.4	Probengewinnung	47
3.4.1	Blutentnahme	47
3.4.2	Speichelentnahme.....	47
3.5	Herzfrequenzmessung	47
3.6	Bestimmung von Laborparametern in Plasma, Serum und Speichel	48
3.6.1	Laktat in Plasma und Speichel	48
	Testprinzip:.....	49
	Präzision und Wiederfindung:.....	49
3.6.2	Glucose in Plasma und Speichel	50
	Testprinzip:.....	50
	Präzision und Wiederfindung:.....	50
3.6.3	Laktatdehydrogenase (LDH) in Plasma und Speichel	51
	Testprinzip :.....	51
	Präzision und Wiederfindung:.....	51
3.6.4	Kreatinin in Serum und Speichel	52
	Testprinzip:.....	52
	Präzision und Wiederfindung:.....	52
3.6.5	Harnstoff in Serum und Speichel:.....	54
	Testprinzip:.....	54
	Präzision und Wiederfindung:.....	54
3.6.6	Kreatinkinase (CK) in Serum und Speichel	55
	Testprinzip:.....	55
	Präzision und Wiederfindung:.....	56
3.7	Cortisol in Serum und Speichel	56
3.7.1	Versuchsvorbereitung.....	56
	Probenaufbereitung:.....	56
	Herstellung von Qualitätskontrollen (QC)	56
	Herstellung der Eichkurve:	57
3.7.2	Radioimmunoassay	57
	Material für den RIA:.....	57
	Durchführung des RIA	57
	Präzision und Wiederfindung:.....	58
3.8	Statistische Auswertung	59

4	Ergebnisse	60
4.1	Zusammenhang der Parameter mit Messzeitpunkt und Arbeit und Korrelation derselben Parameter in Blut und Speichel.....	60
4.1.1	Herzfrequenz	60
4.1.2	Laktat.....	61
	Plasma:	61
	Speichel:.....	62
	Korrelation zwischen Plasma- und Speichellaktat	63
4.1.3	Glucose	64
	Plasma:	64
	Speichel:.....	65
	Korrelation zwischen Plasma- und Speichelglucose	65
4.1.4	LDH	66
	Plasma:	66
	Speichel:.....	67
	Korrelation zwischen Plasma- und Speichel-LDH	68
4.1.5	Kreatinin	68
	Serum	68
	Speichel:.....	69
	Korrelation zwischen Serum- und Speichelkreatinin.....	69
4.1.6	Harnstoff.....	69
	Serum:.....	69
	Speichel:.....	70
	Korrelation zwischen Serum- und Speichelharnstoff	70
4.1.7	Kreatinkinase (CK)	71
	Serum:.....	71
	Speichel:.....	72
	Korrelation zwischen Serum- und Speichel-CK.....	72
4.1.8	Cortisol	73
	Serum:.....	73
	Speichel:.....	74
	Korrelation zwischen Serum- und Speichelcortisol.....	75
4.1.9	Zusammenfassende Darstellung des Verlaufs der Messwerte	76
4.2	Korrelationen verschiedener Blutparameter.....	77
4.3	Korrelationen verschiedener Speichelparameter	79
4.4	Korrelationen verschiedener Parameter in Blut und Speichel	82
5	Diskussion	86
5.1	Tiere und Methodik.....	86
5.2	Herzfrequenz.....	87
5.3	Laktat.....	88
5.3.1	Laktat im Plasma	88
5.3.2	Laktat im Speichel	90

5.4	Glucose	91
5.4.1	Glucose im Plasma.....	91
5.4.2	Glucose im Speichel.....	92
5.5	Laktatdehydrogenase (LDH)	93
5.5.1	LDH im Plasma.....	93
5.5.2	LDH im Speichel.....	94
5.6	Kreatinin	95
5.6.1	Kreatinin im Serum	95
5.6.2	Kreatinin im Speichel.....	96
5.7	Harnstoff	97
5.7.1	Harnstoff im Serum.....	97
5.7.2	Harnstoff im Speichel	97
5.8	Kreatinkinase (CK)	98
5.8.1	CK im Serum	98
5.8.2	CK im Speichel.....	100
5.9	Cortisol	100
5.9.1	Cortisol im Serum	100
5.9.2	Cortisol im Speichel.....	102
5.10	Korrelation verschiedener Blutparameter	103
5.10.1	Plasmaglukose und Herzfrequenz.....	103
5.10.2	Plasmaglukose und Plasmalaktat.....	103
5.10.3	Plasmaglukose und Serumcortisol	104
5.10.4	Serumharnstoff und Herzfrequenz.....	104
5.10.5	Serumharnstoff und Serumkreatinin	104
5.10.6	Serumharnstoff und Serum-CK	105
5.10.7	Serum-CK und Alter	105
5.10.8	Serum-CK und Plasma-LDH.....	105
5.11	Korrelation verschiedener Speichelparameter	105
5.11.1	Herzfrequenz und Speichelcortisol	105
5.11.2	Herzfrequenz und Speichelharnstoff	106
5.11.3	Speichellaktat und Speichelcortisol	106
5.11.4	Speichellaktat, Speichelharnstoff und Speichelkreatinin	107
5.11.5	Speichelharnstoff und Speichelcortisol.....	107
5.11.6	Speichel-LDH	107
5.12	Abschliessende Betrachtungen	108
6	Zusammenfassung	111
7	Summary	113
8	Literaturverzeichnis	115

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: (nach: von Engelhardt, 2005) Herzfrequenzen bei Hund, Mensch und Pferd in Ruhe und bei maximaler Belastung 11

Abbildung 2: (nach: von Engelhardt, 2005) Herzfrequenz bei zunehmender Laufgeschwindigkeit von Pferden..... 18

Abbildung 3: Zeitpunkte der Probenahmen 46

Abbildung 4: Herzfrequenzen nach Altersgruppe (siehe Tabelle 2) 61

Abbildung 5: Laktatkonzentrationen in Plasma und Speichel in mmol/l 62

Abbildung 6: Konzentration von Glucose im Plasma und Speichel in mg/dl..... 65

Abbildung 7: LDH-Aktivität in Plasma und Speichel in IU/l 67

Abbildung 8: Kreatinin in Serum und Speichel in mg/dl..... 68

Abbildung 9: Harnstoff in Serum und Speichel in mg/dl 70

Abbildung 10: CK-Aktivität im Serum nach Altersgruppen in IU/l (siehe Tabelle 2).. 71

Abbildung 11: CK-Aktivität im Speichel nach Altersgruppen in IU/l (siehe Tabelle 2)72

Abbildung 12: Cortisol im Serum in nmol/l..... 73

Abbildung 13: Cortisol im Speichel in nmol/l 74

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflistung der Kutschpferde nach Geschlecht und Alter.....	44
Tabelle 2 : Alterseinteilung der Pferde	45
Tabelle 3: Probenahmeplan	45
Tabelle 4: Variabilitätskoeffizienten Laktat	49
Tabelle 5: Wiederfindung Laktat.....	49
Tabelle 6: Variabilitätskoeffizienten Glucose.....	50
Tabelle 7: Wiederfindung Glucose	51
Tabelle 8: Variabilitätskoeffizienten LDH.....	52
Tabelle 9: Wiederfindung LDH	52
Tabelle 10: Variabilitätskoeffizienten Kreatinin im Serum.....	53
Tabelle 11: Variabilitätskoeffizienten Kreatinin im Speichel	53
Tabelle 12: Wiederfindung Kreatinin im Serum	53
Tabelle 13: Wiederfindung Kreatinin im Speichel.....	53
Tabelle 14: Variabilitätskoeffizienten Harnstoff	54
Tabelle 15: Wiederfindung Harnstoff.....	55
Tabelle 16: Variabilitätskoeffizienten CK.....	56
Tabelle 17: Wiederfindung CK	56
Tabelle 18: Variabilitätskoeffizienten Cortisol.....	59
Tabelle 19: Wiederfindung Cortisol	59
Tabelle 20: Herzfrequenzen	60
Tabelle 21: Korrelationen zwischen Plasma-und Speichellaktat	64
Tabelle 22: Zusammenfassung des Verlaufs der Messwerte.....	76
Tabelle 23: Korrelationen der Blutparameter über alle Messwerte sowie differenziert nach Ruhe- und Belastungswerten.....	77
Tabelle 24: Korrelationen der Speichelparameter über alle Messwerte sowie differenziert nach Ruhe- und Belastungswerten.....	79
Tabelle 25: Korrelationen der Blut- und Speichelparameter über alle Messwerte....	82
Tabelle 26: Korrelationen der Blut- und Speichelparameter in Ruhe	83
Tabelle 27: Korrelationen der Blut- und Speichelparameter unter Belastung.....	84
Tabelle 28: Herzfrequenz in Herzschläge/Minute.....	137
Tabelle 29: Laktat im Plasma in mmol/l.....	138
Tabelle 30: Laktat im Speichel in mmol/l.....	138
Tabelle 31: Glucose im Plasma in mg/dl	139
Tabelle 32: Glucose im Speichel in mg/dl	139
Tabelle 33: Laktatdehydrogenase im Plasma in IU/l	140
Tabelle 34: Laktatdehydrogenase im Speichel in IU/l.....	140
Tabelle 35: Kreatinin im Serum in mg/dl.....	141
Tabelle 36: Kreatinin im Speichel in mg/dl	141
Tabelle 37: Harnstoff im Serum in mg/dl	142
Tabelle 38: Harnstoff im Speichel in mg/dl.....	142
Tabelle 39: Kreatinkinase im Serum in IU/l	143
Tabelle 40: Kreatinkinase im Speichel in IU/l	143
Tabelle 41: Cortisol im Serum in nmol/l.....	144
Tabelle 42: Cortisol im Speichel in nmol/l.....	144

1 Einleitung

Das Pferd gewinnt durch den Sport in den letzten Jahrzehnten wieder zunehmend an Bedeutung, selbst als Arbeitstier behauptet es sich trotz der Motorisierung doch in einigen Nischen, wie z.B. in der Forstwirtschaft. Pferde für ihre unterschiedlichen Aufgaben optimal zu trainieren ist eine anspruchsvolle Aufgabe, die durch eine regelmässige, möglichst objektive Kontrolle des Trainingserfolges verbessert werden sollte. Dafür könnte sich unter Anderem die Überwachung einiger der in dieser Arbeit untersuchten Parameter Laktat, Cortisol, Glucose, Harnstoff und Kreatinin, sowie Kreatinkinase und Laktatdehydrogenase im Blut eignen. Jedoch bedingt dies häufige Blutentnahmen.

In dieser Arbeit wird deshalb die Brauchbarkeit von Speichelproben als nicht invasive und auch von Laien durchführbare Alternative zur Blutentnahme überprüft, indem die Parameter auf Korrelationen zwischen den jeweiligen Blut- und Speichelwerten untersucht werden.

Ausserdem wird die Konzentration der oben angegebenen Werte nach Zugarbeit im Schritt bestimmt, sowie die Korrelationen dieser Werte untereinander und deren Zusammenhänge mit Belastung und Tagesrhythmik.

Ziel dieser Arbeit ist also zum einen, die Speicheluntersuchung als schonende Methode für alle Parameter zu etablieren, die eine ausreichende Korrelation zwischen ihren Blut- und Speichelwerten aufweisen, zum anderen soll die Zugarbeit im Schritt als bisher wenig untersuchte Arbeitsform im Bezug auf die Belastung beurteilt werden.

2 Literatur

2.1 Sekretion, Funktion und Zusammensetzung des Speichels beim Pferd

Das Pferd besitzt mit der Gl. parotis (Ohrspeicheldrüse), der Gl. mandibularis (Unterkieferdrüse) und der Gl. sublingualis polystomatica (Unterzungendrüse) drei grosse Speicheldrüsen. Die bei den anderen Haussäugetieren vorhandene Gl. sublingualis monostomatica fehlt beim Pferd.

Des Weiteren existieren noch die kleineren Gll. labiales und buccales sowie die nur bei Pferd und Ziege vorhandene Gl. paracaruncularis (Mundhöhlenbodendrüse) (Nickel, 1987).

Bis auf die Gl. parotis, die ausschliesslich serös sezerniert, sind beim Pferd alle Speicheldrüsen gemischt, das heisst, sie enthalten sowohl seröse als auch muköse Zellen (Liebich, 1990). Der gemischte Speichel enthält also mehr Protein als der wässrige, elektrolytreiche Parotisspeichel.

Die Speichelzusammensetzung wird neural gesteuert, eine Stimulation des parasympatischen Systems führt zu dünnflüssigem, wässrigem Speichel, über den Sympathikus wird die Sekretion eines proteinreichen, zähen Speichels gefördert (Liebich, 1990).

Das Pferd produziert am Tag etwa 40 l Speichel (Liebich, 1990), davon stammt der grösste Teil aus der Parotis (Kolb, 1989).

Speichel dient in erster Linie der Verdünnung und dem Gleitfähig machen der Nahrung, so dass der Bissen leichter abgeschluckt werden kann. Ausserdem lösen sich im Speichel Geschmacksstoffe, was eine Sinnenprüfung der Nahrung ermöglicht, und die Mundhöhle wird durch den Speichel gespült (Nickel, 1987; Silbernagl, 1991). Im Gegensatz zu Mensch und Schwein enthält der Speichel beim Pferd kaum Verdauungsenzyme (Pfeffer, 1987).

Zur Abwehr von Krankheitserregern sind im Speichel Lysozym und Immunglobuline nachweisbar (Silbernagl, 1991).

In den Azini der Speicheldrüsen wird zunächst ein Primärspeichel gebildet, der eine ähnliche Elektrolytzusammensetzung wie das Plasma besitzt. Dabei wird mit Hilfe eines transzellulären Transportmechanismus für Chloridionen im Lumen des Azinus

ein negatives Potential erzeugt, das Natrium ins Lumen befördert. Aus osmotischen Gründen folgt Wasser. In den Ausführungsgängen der Drüse wird der Speichel noch einmal durch Resorption von Natrium- und Chloridionen sowie aktive Sekretion von Kalium und Bikarbonat verändert (Silbernagl, 1991). Letztlich entsteht eine hypotone Flüssigkeit (Pfeffer, 1987), deren Elektrolytzusammensetzung stark von der Sekretionsrate abhängig ist. Vining et al. (1983) finden bei hoher Sekretionsrate ein dem Primärspeichel sehr ähnliches Sekret, während bei geringerer Sekretion der Speichel durch die längere Verweildauer in den Ausführungsgängen stärker modifiziert wird. In diesem Fall sind der Na- und Cl- Gehalt geringer, während K und Bikarbonat ansteigen.

Im Pferdespeichel liegt der pH im alkalischen Bereich zwischen 7,3 und 7,8 (Alexander, 1966). Licht (2000) findet bei pH-Messung nach Auftauen von bei -20 °C gelagertem Speichel pH-Werte zwischen 8,85 und 9,10.

Speichel hat einen Wassergehalt von 99-99,5 %, die Trockenmasse besteht zu 70 % aus organischen Bestandteilen, vorwiegend Proteinen wie Muzinen, Enzymen und Immunglobulinen (Kolb, 1989). Vining und McGinley (1987) weisen beim Menschen in geringen Mengen Harnstoff, Steroidhormone und Glucose im Speichel nach, während Eckersall (1984) von der Annahme ausgeht, dass Speichel beim Pferd primär keine Glucose enthält. Eine gewisse Verfälschung ist möglich durch Futterbestandteile (Eckersall, 1984) oder durch aus kleinen Schleimhautabschürfungen in den Speichel gelangtes Plasma (Vining und McGinley, 1987).

Der anorganische Anteil des Speichels besteht aus Natrium-, Chlorid-, Kalium-, Calcium-, Phosphat- und Bikarbonationen (Kolb, 1989).

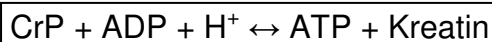
Alexander (1966) findet im aus einer Parotististel entnommenen Speichel 55 mmol/l Natrium und 50 mmol/l Chlorid, Eckersall (1984) für die gleichen Parameter im Mundspeichel mit 25 bzw. 22 mmol/l noch deutlich geringere Konzentrationen. Stick et al. (1981) erhalten sehr viel höhere Na- und Cl-Konzentrationen (90 bzw. 85 mmol/l) in aus einer Ösophagusfistel entnommenem Speichel.

In einer zweiten Untersuchung stellt Eckersall (1985) deutliche individuelle Unterschiede in der Elektrolytkonzentration des Pferdespeichels fest.

2.2 *Arbeitsphysiologie des Pferdes*

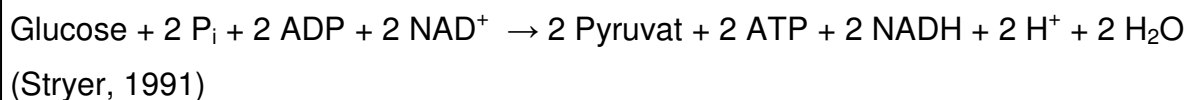
2.2.1 **Energiegewinnung im Muskel**

Die Muskeln benötigen für jede Kontraktion Energie aus ATP, welches aber der Muskel nur in sehr begrenzter Menge speichern kann. Der ATP-Vorrat im Muskel reicht nur für wenige Sekunden, dann werden in den nächsten ungefähr zehn bis dreissig Sekunden (von Engelhardt, 2005) die im Muskel vorhandenen Reserven von Kreatinphosphat verbraucht. Bei der durch die Kreatinkinase (CK) katalysierten Reaktion wird eine Phosphorylgruppe von Kreatinphosphat auf ADP übertragen, so dass ATP und Kreatin entsteht (Stryer, 1991):



Da die aerobe Energiegewinnung erst nach etwa einer Minute Arbeit anläuft (von Engelhardt, 2005), wird Glucose im Zytoplasma der Muskelzelle (Stryer, 1991) zunächst anaerob (in einigen Zwischenschritten) zu Pyruvat abgebaut. Dabei resultiert ein Nettogewinn von zwei Mol ATP pro Mol Glucose.

Die Bilanz der Gesamtreaktion ist also:

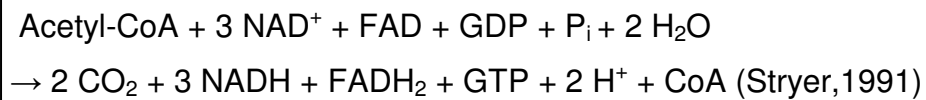


Unter aeroben Bedingungen kann das entstehende Pyruvat nun oxidativ zu Acetyl-CoA decarboxyliert werden, dem Substrat für den Citratzyklus. Beim anaeroben Stoffwechselweg dagegen wird Pyruvat in einer von der Laktatdehydrogenase (LDH) katalysierten Reaktion zu Laktat reduziert; die Reaktionsgleichung ist:



Laktat muss nach Beendigung der Arbeit wieder in Pyruvat überführt und oxidativ abgebaut werden (Wels, 1987), daher ist der Sinn der Laktatbildung die Regeneration des verbrauchten NAD^+ , ohne das die Glykolyse nicht weiter ablaufen kann (Stryer, 1991).

Um ATP aus dem aeroben Stoffwechsel zu gewinnen, muss durch verstärkte Durchblutung der Muskulatur und Erhöhung der Atemfrequenz und der Herzleistung (Silbernagl, 1991) mehr Sauerstoff zur Verfügung gestellt werden. Nun kann das aus Pyruvat entstandene Acetyl-CoA in den Citratzyklus eingeschleust werden, welcher in der Matrix der Mitochondrien abläuft (Stryer, 1991). Die Netto- Reaktionsgleichung ist:



In der darauf folgenden Atmungskette werden Elektronen von NADH und FADH₂ über zahlreiche Elektronen-Carrier (z.B. Cytochrome) in der inneren Mitochondrienmembran auf Sauerstoff übertragen. Das aktiviert eine Protonenpumpe, die H⁺ aus der Mitochondrienmatrix hinausbefördert. Auf diese Weise entsteht an der inneren Mitochondrienmembran ein elektrisches Potential sowie auch ein pH – Gradient, wodurch die Protonen veranlasst werden, durch einen Enzymkomplex wieder in die Matrix zu strömen. Dadurch angetrieben entsteht an diesem Enzymkomplex, der ATP-Synthase, aus ADP und P_i wieder ATP (Stryer, 1991).

Bei Ausdauerleistung wird zunächst Glucose aus den intrazellulären Glykogendepots des Muskels freigesetzt und verstoffwechselt. Wenn diese Depots erschöpft sind, muss Glucose aus dem Blut aufgenommen werden (von Engelhardt, 2005). Der Blutzuckerspiegel wird durch eine gesteigerte Glykogenolyse in der Leber auf relativ konstantem Niveau gehalten. Bei länger dauernder Belastung kommt es zu einer gesteigerten Lipolyse in den Fettdepots, wodurch dann auch freie Fettsäuren aus dem Blut aufgenommen werden können. Hauptsächlich sind das Ölsäure, Palmitinsäure, Linolsäure und Linolensäure (Rose und Hogdson, 1984). Die Oxidation dieser freien Fettsäuren nimmt mit Dauer der Arbeit an Bedeutung zu und ist mit einer ATP- Produktion von etwa 140 Mol ATP pro Mol FFS äusserst effektiv (von Engelhardt, 2005).

Nach Verbrauch der Glykogendepots in der Leber wird dort durch die Gluconeogenese aus Laktat, körpereigenen Aminosäuren und Glycerin aus der Lipolyse wieder Glucose synthetisiert (Stryer, 1991; von Engelhardt, 2005). Bis nach vollständigem Abbau die Glykogenreserven aufgefüllt sind, dauert es etwa zwei Tage (von Engelhardt, 2005). Lacombe et al. (2001) stellen schon bei einer Entleerung der

Glykogenspeicher um 41 % (durch Muskelbiopsie überprüft) einen Leistungsabfall fest, bei 55 % Glykogenverlust dauern die Regenerationszeiten mehr als 24 Stunden.

2.2.2 Faserzusammensetzung der Skelettmuskulatur

Im quergestreiften Muskel existieren verschiedene Fasertypen. So unterscheidet man nach dem vorherrschenden Fasertyp schon seit langem „rote“ und „weisse“ Muskeln. Die roten Muskelfasern, inzwischen auch als Typ I- oder S-Fasern (slow twitch) bekannt, enthalten mehr Myoglobin und Mitochondrien und sind von mehr Kapillaren umgeben, dafür haben sie weniger Myofibrillen und einen geringeren Glykogengehalt als die weissen (Wels, 1987; von Engelhardt, 2005). Daher kontrahieren die Typ I-Fasern relativ langsam, sind aber aufgrund ihrer hohen oxidativen Kapazität kaum ermüdbar. Die weissen Typ II-Fasern werden noch einmal in Typ IIA (oder FR, fast- fatigue resistant) und IIB (oder FF, fast- fatigable) unterteilt. Rivero und Serrano (1999) finden ausserdem noch zwei Hybridformen, bei denen zwei verschiedene Isoformen der schweren Meromyosinketten kombiniert sind, im Gegensatz zu den Typ I, IIA und IIB-Fasern, die jeweils zwei identische schwere Ketten enthalten (Stryer, 1991).

Beide Typ II-Fasertypen kontrahieren schnell und enthalten viel Glykogen. Während Typ IIB-Fasern eine geringe oxidative Kapazität und Kapillardichte haben und deswegen schnell ermüden, haben die Typ IIA-Fasern etwas mehr Kapillaren und eine höhere oxidative Kapazität und ermüden langsamer (van den Hoven, 1985). Die meisten Muskeln enthalten ein Mosaik aus den verschiedenen Fasern.

Wie die Reihenfolge der Glykogenentleerung der Fasern zeigt, werden diese während der Arbeit in der Reihenfolge I → IIA → IIB rekrutiert (Gottlieb, 1989). So werden nach Valberg (1986) bei niedrigen Trabgeschwindigkeiten von ca. 5-6 m/s nur wenige Fasern des M. gluteus medius eingesetzt, und zwar hauptsächlich vom Typ I. IIB-Fasern werden nur bei maximaler Geschwindigkeit in Anspruch genommen (Essen-Gustavsson et al., 1997). Also ist nach submaximaler Arbeit in den Typ IIB-Fasern noch Glykogen vorhanden. Essen-Gustavsson et al. (1984) vergleichen nach einem Distanzritt die Glykogenreserven von erfolgreichen mit weniger erfolgreichen Teilnehmern und finden bei den schnelleren Pferden alle Fasertypen Glykogenentleert vor, während bei den langsameren hauptsächlich die Glykogenreserven der Typ I, teilweise auch der Typ IIA, nicht aber der Typ IIB-Fasern verbraucht sind. Bei

den langsameren Pferden geht dagegen der intramuskuläre Gehalt an freien Fettsäuren deutlicher zurück als bei den schnelleren.

Der ATP- Gehalt im Muskel ist nach einer maximalen Anstrengung laut Harris et al. (1997) im M. gluteus durchschnittlich um ca. 32 % verringert, was möglicherweise entscheidend verantwortlich für die Ermüdung ist. Jedoch ist der ATP- Gehalt in den einzelnen Fasern sehr unterschiedlich, manche enthalten fast kein ATP mehr. Harris et al. (1997) sehen darin keinen Unterschied zwischen den Fasertypen, während Essen-Gustavsson et al. (1997) nach einem Trabrennen in den Typ I-Fasern im Schnitt einen höheren ATP- Gehalt feststellen. Dies kann entweder bedeuten, dass ein geringerer ATP- Verbrauch oder aber aufgrund der hohen oxidativen Kapazität eine schnellere Resynthese stattfindet.

Die Verteilung der Fasertypen im Muskel ist zum Teil genetisch bedingt, so liegt beim Quarter Horse als einer sprintstarken Rasse der Typ I-Faser- Anteil im M. gluteus medius nur bei etwa 7 % (von Engelhardt, 2005), dagegen finden Essen-Gustavsson et al. (1984) bei erfolgreichen Distanzpferden ca. 18 % Typ II-Fasern, Snow et al. (1981) ebenfalls bei Distanzpferden 7-38 % Typ I-Fasern. Ausserdem ist die Zusammensetzung je nach Muskel verschieden. Laut Essen-Gustavsson et al. (1989) enthält der M. sternocephalicus beim Pferd keine Typ IIB-Fasern und ändert seine Faserzusammensetzung im Gegensatz zum M. gluteus medius nach Training nicht, vermutlich weil er nicht an der Fortbewegung beteiligt ist. Gottlieb et al. (1988) stellen zwischen den beiden „Laufmuskeln“ M. gluteus medius und M. semitendinosus keinen Unterschied in der Faserzusammensetzung und den Muskelenzymaktivitäten fest.

Die Verteilung der verschiedenen Fasern im Muskel ist keineswegs homogen, es findet sich in den cranialen und tiefen Muskelregionen ein höherer Anteil von Typ I-Fasern (van den Hoven et al., 1985).

Auch innerhalb der Rassen gibt es deutliche individuelle Abweichungen in den prozentualen Faseranteilen (Roneus et al., 1999). Diese sind zumindest teilweise auf den Einfluss von Alter und Geschlecht zurückzuführen. Rivero et al. finden in ihrer Studie von 1993 bei älteren Pferden einen höheren Anteil von Typ I-Fasern als bei jungen sowie bei Hengsten eine grössere Fläche von Typ IIA-Fasern als bei Stuten.

Trainingseffekte:

Die Faserzusammensetzung, oxidative Kapazität und Kapillardichte in den zur Fortbewegung benötigten Muskeln ist durch Training in einem gewissen Mass beeinflussbar (Guy und Snow, 1977; Gottlieb et al., 1989). Gottlieb-Vedi et al. (1995) stellen fest, dass 12 Wochen Training bei der individuellen Geschwindigkeit, die zu einem Blutlaktatspiegel von 4 mmol/l führt (v_4) genügt, um Muskeladaptationen herbeizuführen. Hodgson et al. (1985) finden nach 7 Wochen submaximalem Training keine Veränderung der Faserzusammensetzung, aber eine verbesserte oxidative Kapazität der Typ II-Fasern, die sich in einem 36 % niedrigerem Glykogenverbrauch äussert. Auch Essen-Gustavsson et al. (1989) können nach 5 Wochen täglichem Training zwar keine Änderung der Faserzusammensetzung im M. gluteus feststellen, aber die Fläche der Typ IIA-Fasern geht um 19 % zurück, während die oxidative Kapazität und die Kapillardichte deutlich ansteigen. Auch Sinha et al. (1993) sehen lediglich eine Zunahme der Kapillardichte um 54 %.

Bei Roneus et al. (1994) ist dagegen nach Training eine Veränderung der Faserverteilung vorhanden; der Anteil der Typ I-Fasern steigt und der der Typ IIB-Fasern nimmt ab. Die gleiche Beobachtung machen Rivero und Serrano (1999) bei Kutschpferden. Serrano et al. (2000) beobachten nach 8 Monaten Ausdauertraining eine Verschiebung der Faseranteile von IIB über IIA nach I. Auch in einer anderen Untersuchung mit 8 Monaten Zugtraining finden sie nach der Trainingsperiode mehr Fasern mit hoher oxidativer Kapazität und eine höhere Kapillardichte im Muskel (Serrano und Rivero, 2000).

Bei Distanzpferden haben die erfolgreichsten Pferde den höchsten Anteil an Typ I-Fasern (Snow et al., 1981; Rivero et al., 1993). Im Vergleich von untrainierten und ausdauertrainierten Andalusiern und Arabern stellen Lopez-Rivero et al. (1991) bei allen beteiligten Pferden einen ähnlichen Anteil von Typ I- und II-Fasern fest, aber bei den trainierten Pferden überwiegen die IIA-Fasern, und es sind bei ihnen mehr oxidative als nicht-oxidative Typ II-Fasern vorhanden.

Guy und Snow (1977) verfolgen ein anderes Trainingskonzept, in dem sowohl aerobe als auch anaerobe Arbeit enthalten ist. Infolgedessen sinken die Anteile der Typ I und der Typ IIB-Fasern zugunsten der Typ IIA-Fasern.

Die Muskelenzyme reagieren entsprechend des Trainingsplans; bei Steigerung der oxidativen Kapazität durch aerobes Training steigt die Aktivität der oxidativen Citratsynthase (CS), während die Aktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) sinkt

(Hogdson et al., 1985; Essen-Gustavsson et al., 1989; Roneus et al., 1994; Serrano et al., 2000).

Tyler et al. (1998) bemerken einen Anstieg des Mitochondrienvolumens in den Muskelfasern mit dem Training, der eng mit einer Steigerung der Sauerstoffaufnahme korreliert.

Die Effekte des Trainings sind nach Detraining grösstenteils reversibel; darüber, wie lange die durch das Training bewirkten Veränderungen anhalten, existieren Angaben, die sich meist zwischen 6 Wochen und 3 Monaten bewegen. Die von Essen-Gustavsson et al. (1989) beobachteten Veränderungen der Fläche der Typ IIA-Fasern und die Erhöhung von Kapillardichte und oxidativer Kapazität im M. gluteus sind nach 5 Wochen Detraining noch erhalten. Bei Sinha et al. (1993) ist die Kapillardichte nach 6 Wochen Detraining zum Ausgangswert zurückgekehrt. Tyler et al. (1998) sehen nach 6 Wochen Detraining noch keine Rückbildung der trainingsbedingten Adaptationen. Die Verschiebung der Faseranteile von Typ IIB über Typ IIA nach Typ I in der Untersuchung von Serrano et al. (2000) ist nach 3 Monaten Detraining nicht mehr festzustellen.

2.2.3 Atmung und Lungenfunktion

Die Leistungsfähigkeit ist unter anderem stark von der Kapazität der Lunge abhängig. In Ruhe ist beim Pferd eine Atemfrequenz von 8-16 Atemzügen/min physiologisch. Diese erhöht sich bei Arbeit, sowie durch Stress, Fieber, Gravidität und Laktation (Spörri und Wittke, 1987). Bei schnellem Galopp kann das Pferd seine Atemfrequenz etwa auf das 10-fache steigern (von Engelhardt, 2005). Valberg et al. (1989) stellen bei maximaler Trabgeschwindigkeit eine mittlere Atemfrequenz von 126/min fest. Im Galopp besteht eine enge Kopplung der Atemfrequenz mit der Schrittfrequenz im Verhältnis 1:1 (Butler et al., 1993), die eine Limitierung der Atemfrequenz auf etwa 130/min zur Folge hat (Geor und McCutcheon, 2005). Im Trab findet sich häufig auch eine Atmung im Rhythmus der Schrittfrequenz, besonders in der Steigung (Lafortuna et al., 1996). Allerdings muss das Verhältnis nicht immer bei 1:1 liegen, bei hoher Beanspruchung kann das Verhältnis zwischen Inspiration und Fussung bei 1:1,5 bis 1:3 liegen (von Engelhardt, 2005).

Das Atemzugvolumen (V_T) ist ca. 6 l, bei maximaler Inspiration kommt ein inspiratorisches Reservevolumen (V_{RI}) von 15 l dazu (Spörri und Wittke, 1987). Durch die enge Kopplung der Atemfrequenz mit der Schrittfrequenz vor allem im

Galopp kann ab einer gewissen Geschwindigkeit die Sauerstoffzufuhr nur noch durch Erhöhung des Atemzugvolumens gesteigert werden. Der Tiefe der Inspiration ist allerdings durch die hohe Atemfrequenz wiederum eine Grenze gesetzt (von Engelhardt, 2005), daher korreliert die Schrittlänge im Galopp mit dem Atemminutenvolumen (Butler et al., 1993). Dieses Atemminutenvolumen (V_E) ist das Produkt aus Atemzugvolumen und Atemfrequenz, welches in Ruhe ca. 60 l/min beträgt (von Engelhardt, 2005). Im Trab steigt es auf ca. 270 l/min, und bereits bei Zugarbeit von 67 kg im Schritt liegt es bei ca. 288 l/min (Spörri und Wittke, 1987). Atemzugvolumen und Atemfrequenz ändern sich durch Training nicht (Roberts et al., 1999), während sich die Ventilation der Alveolen steigern lässt (Christley et al., 1997).

2.2.4 Sauerstoffaufnahme und Herzleistung

Ausser von der Bereitstellung des Sauerstoffs durch die Lunge ist die Sauerstoffaufnahme (VO_2) von der Herzleistung und der Ausnützung des Sauerstoffs im Gewebe abhängig.

Das Fick'sche Prinzip

$$VO_2 = HF \times SV \times (a-v) O_2$$

definiert die Sauerstoffaufnahme als das Produkt von Herzfrequenz, Schlagvolumen (der Blutmenge, die bei einem Herzschlag aus dem Ventrikel ausgetrieben wird) und der Differenz von arteriellem und venösem Sauerstoffgehalt (Geor und McCutcheon, 2005). In Ruhe nimmt das Pferd ca. 1,8 l Sauerstoff/min auf, was sich bei schnellem Galopp etwa auf das 33-fache steigert (von Engelhardt, 2005). Dies ist im Wesentlichen auf eine bis zu 8-fache Erhöhung der Herzfrequenz zurückzuführen, das Schlagvolumen lässt sich maximal um ca. 40 % steigern (von Engelhardt, 2005; siehe Abbildung 1).

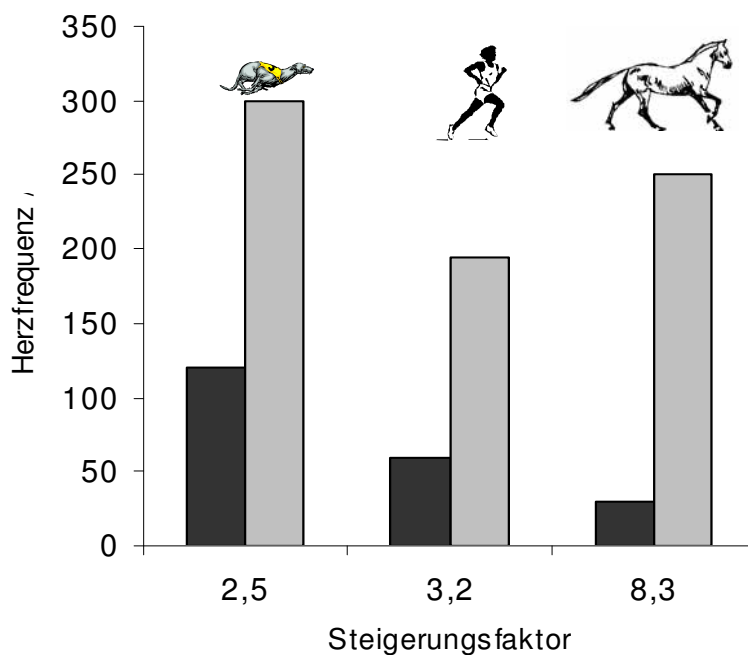


Abbildung 1: (nach: von Engelhardt, 2005) Herzfrequenzen bei Hund, Mensch und Pferd in Ruhe und bei maximaler Belastung

Die Herzfrequenz steigt fast linear mit der Laufgeschwindigkeit, bis kurz vor Erreichen der maximalen Herzfrequenz (HF_{max}) die Kurve flacher wird (siehe Abbildung 2 unter Kapitel 2.5 Herzfrequenz). HF_{max} liegt etwa bei 200 bpm, bei 2-jährigen Pferden wurden Frequenzen bis 240/min gemessen (Geor und McCutcheon, 2005).

Bei schwerer Arbeit steigt der Druck im linken Ventrikel stark an. Auch der mittlere arterielle Druck (MAP) steigt, allerdings in geringerer Masse, da durch die verstärkte Durchblutung der Muskulatur der periphere Widerstand nachlässt (Geor und McCutcheon, 2005). Um VO_2 in ausreichendem Masse für den Sauerstoffbedarf der arbeitenden Muskulatur zu steigern, steigen ausser Ventilation der Lunge, Atemfrequenz, Atemzugvolumen und Herzminutenvolumen auch die Sauerstofftransportkapazität des Blutes und Sauerstoffausnützung im Gewebe. Die Verbesserung der Transportkapazität wird durch eine Entspeicherung der Milz erreicht, die den Hämatokrit von ca. 35- 42 % (Spörri, 1987) in Ruhe auf bis zu 65 % ansteigen lässt (Geor und McCutcheon, 2005). Eine effektivere Ausnützung des Sauerstoffs von bis zu 97 % (Spörri, 1987) kommt durch verbesserte

Muskeldurchblutung sowie eine erleichterte Abgabe des Sauerstoffs an die Muskulatur zustande, dies ist der so genannte „Bohr- Effekt“ (Silbernagl, 1991).

Dieser besagt, dass bei hoher Temperatur, niedrigem pH-Wert und hohem CO₂-Gehalt im Gewebe Hämoglobin und O₂ leichter dissoziieren. Bei intensiver Arbeit steigt die Bluttemperatur um fast 4°C, und der pH-Wert sinkt infolge höheren CO₂- und Laktatgehalts (Butler et al., 1993).

Unter Belastung von mehr als 65 % VO₂max kommt es normalerweise zu einer Hypoxämie und Hyperkapnie (Geor und McCutcheon, 2005). Das heisst, der arterielle Sauerstoffpartialdruck (PaO₂) sinkt und der Kohlendioxidpartialdruck (PaCO₂) steigt. Dies wird allerdings durch einen erhöhten Hämoglobingehalt des Blutes ausgeglichen, so dass trotzdem der Sauerstoffgehalt im arteriellen Blut höher liegt als in Ruhe (Butler et al., 1993).

Trainingseffekte

Durch Training lässt sich die maximale Sauerstoffaufnahme steigern. Christley et al. (1997) beobachteten eine Erhöhung von VO₂max um 19 %. Da die maximale Herzfrequenz sich durch Training nicht erhöht, muss der Grund für die verbesserte Sauerstoffaufnahme in einem erhöhten Schlagvolumen des Herzens oder einer grösseren arterio-venösen O₂-Differenz oder an beidem liegen (Geor und McCutcheon, 2005). Der grössere Unterschied im arteriellen und venösen Sauerstoffgehalt kommt dadurch zustande, dass durch Erhöhung des Hämatokrits, des Hämoglobingehalts und des Plasmavolumens im arteriellen Blut mehr Sauerstoff transportiert werden kann. Gleichzeitig kann durch Steigerung der oxidativen Kapazität der Muskulatur und die bessere Perfusion aufgrund von höherer Kapillardichte der Sauerstoff im Muskel besser ausgenutzt werden und dadurch sinkt der O₂-Gehalt im venösen Blut (Geor und McCutcheon, 2005). Ausserdem scheint ein durch das Training erhöhtes Mitochondrienvolumen eine Rolle für die Steigerung von VO₂max zu spielen, da zwischen den beiden Werten eine signifikante Korrelation besteht (Tyler et al., 1998). Christley et al. (1997) stellen fest, dass durch Training der minimale arterielle Sauerstoffpartialdruck (PaO₂) während der Arbeit tiefer sinkt als vor dem Training, jedoch dabei der arterielle Sauerstoffgehalt durch erhöhte Hämoglobinkonzentration bei trainierten Pferden höher liegt.

Wenn Pferde aus dem Training genommen werden (Detraining), gehen anscheinend zumindest ein Teil der Trainingseffekte langsamer zurück als beim Menschen (Geor

und McCutcheon, 2005). So lässt $VO_2\text{max}$ innerhalb von 12 Wochen Detraining nur langsam nach (Tyler et al., 1996). Auch Herzgrösse und –funktion bleiben innerhalb der ersten 4 Wochen Detraining unverändert und nehmen danach ab (Kriz et al., 2000).

2.2.5 Thermoregulation

Da bei schwerer Arbeit die Skelettmuskulatur sehr viel Wärme produziert, kann die Körpertemperatur des Pferdes bis auf ca. 41 °C ansteigen (von Engelhardt, 2005). Die Wärmeabgabe erfolgt in erster Linie durch Schwitzen (bis zu 15 l/Stunde), aber auch zu etwa 20-25 % über die Atmung (Geor und McCutcheon, 2005). Der Erfolg der Thermoregulation durch Schwitzen ist abhängig von der Aussentemperatur und der Luftfeuchtigkeit (von Engelhardt, 2005). Bei heissem Wetter und starkem Flüssigkeitsverlust durch Schwitzen nimmt das zirkulierende Blutvolumen ab, daher kann die Haut nicht mehr so stark durchblutet werden und die Schweißproduktion geht zurück. Atmung und Herzfrequenz steigen, was als „Cardiorespiratory drift“ bezeichnet wird. Bleibt die Atemfrequenz in der Erholungsphase auch nach Rückgang der Herzfrequenz hoch (Inversion), spricht das für Hitzestress und führt im Distanzsport zum Ausscheiden des Pferdes aus dem Wettbewerb (Geor und McCutcheon, 2005).

2.3 Beurteilung der Leistungsfähigkeit und des Trainingserfolges

Um die Fitness eines Pferdes und seinen Fortschritt im Training zu überprüfen, oder besonders auch um frühzeitig das athletische Potential eines Jungpferdes einschätzen zu können, wird schon lange nach objektiven Leistungsparametern gesucht.

Zum Vergleich der Ergebnisse von verschiedenen Pferden oder einem Pferd zu unterschiedlichen Zeiten ist eine Standardisierung der Belastung wichtig. Diese ist am besten unter Laborbedingungen auf einem Hochgeschwindigkeitslaufband zu erreichen (Morris und Seeherman, 2005). Oft muss es aber aus praktischen Gründen bei einem Feldversuch bleiben. In diesem Fall können zwar weniger Parameter gemessen werden, es besteht aber der Vorteil, dass die Untersuchung in der gewohnten Umgebung des Pferdes stattfinden kann (Couroucé, 1999). Feldversuche sind mit Laufbandtests nicht direkt vergleichbar, da auf dem Laufband nach Couroucé et al. (1999) Herzfrequenz und Laktat signifikant niedriger liegen.

Kallweit et al. (1996) untersuchen die Eignung von 20 Parametern zur Beurteilung des Trainingsfortschritts und kommen zu dem Ergebnis, dass u.a. Laktat und LDH aufgrund eines gerichteten Verlaufs über die Untersuchungszeit geeignet sind. Rueca et al. (1999) finden eine Korrelation zwischen der Geschwindigkeit und dem enddiastolischen Volumen im linken Ventrikel sowie der CK- Isoenzymverteilung. Als sinnvolle Messgrößen für die aerobe Kapazität bieten sich in erster Linie die Laufgeschwindigkeit, die maximale Sauerstoffaufnahme ($VO_2\text{max}$), die Herzfrequenz und die Laktatkonzentration im Blut an. Zur Messung von $VO_2\text{max}$ ist eine Sauerstoffmaske (offenes System) erforderlich (Morris und Seeherman, 2005), die Herzfrequenz kann z.B. mit einem Polar®-Sport Tester (Aguera et al., 1995) aufgezeichnet werden und für die Laktatwerte werden Blutproben aus der V. jugularis entnommen. Aus diesen gemessenen Größen leiten sich einige errechnete Parameter ab.

Valette et al. (1996) bezeichnen den Effizienzkoeffizienten ($EC = \text{Geschwindigkeit} / \text{Herzfrequenz}$) als geeigneten Indikator für potentielle Schnelligkeit. Kobayashi et al. (1999) sowie Couroucé (1999) verwenden v_{200} , die Geschwindigkeit bei Herzfrequenz 200 bpm, zur Kontrolle des Trainingserfolges und bezeichnen v_{200} als guten Parameter für die Herzkapazität, welcher durch Training ansteigt.

Aus der Laufgeschwindigkeit und der Laktatkonzentration errechnen sich weitere für die Leistungsdiagnostik wichtige Größen. Am häufigsten verwendet werden die Geschwindigkeiten, die Blutlaktatkonzentrationen von 2,5 und 4 mmol/l entsprechen $v_{2,5}$ und v_4 . Die Laktatkonzentration im Blut nach Belastung ist für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit von Pferden gut geeignet, jedoch ist nach Lindner (1998) für eine genaue Beurteilung ein mehrstufiger Belastungstest erforderlich, während für Evans et al. (1993) eine Messung ausreicht.

Im Rahmen des mehrstufigen Belastungstests werden bei verschiedenen Laufgeschwindigkeiten die Laktatwerte bestimmt und daraus für jedes Pferd eine individuelle Laktat-Laufgeschwindigkeits-Kurve (LLK) ermittelt, aus der rechnerisch die Werte $v_{2,5}$ und v_4 hervorgehen. Guhl et al. (1996) stellen fest, dass sich anhand dieser Kurve gute Voraussagen bezüglich der Laktatwerte eines Pferdes treffen lassen. Lindner (1997) empfiehlt für den Belastungstest eine Stufendauer von 5 Minuten mit einer Minute Pause sowie konstante Erhöhung der Geschwindigkeit von Stufe zu Stufe. Ausserdem sollten die Pferde vor Beginn aufgewärmt sein, um ein hohes Anlaufaktat in der ersten Stufe zu vermeiden (Lindner, 1997). Die

Reproduzierbarkeit der LLK unter Feldbedingungen ist nach Guhl et al. (1996) für die höheren Geschwindigkeiten v_3 , $v_{3,5}$ und v_4 sehr gut, v_2 und $v_{2,5}$ sind aufgrund des in diesem Bereich noch flachen Verlaufs der nichtlinearen Kurve ungenau. Da sich im Training diese Werte verändern, ist es optimal, die Kurve ca. alle zwei Wochen anzupassen (Trilk et al., 2002).

Parameter für die anaerobe Kapazität eines Pferdes sind der Spitzenlaktatwert im Vollblut nach maximaler Belastung, die maximale Laktatproduktionsrate (delta La_{max}) und das 'maximum accumulated oxygen deficit' (MAOD).

Der Spitzenlaktatwert ist von Interesse, da bei schnellen Pferden bei maximaler Arbeit das Laktat schneller ansteigt und insgesamt höhere Werte erreicht. Ausserdem können diese Pferde ihre Geschwindigkeit auch bei niedrigem pH-Wert halten (Harkins et al., 1993).

Saibene et al. (1985) erstellen für die Laktatproduktionsrate die Formel

$$\Delta La = a (v - v_1),$$

wobei v_1 die Geschwindigkeit ist, bei der noch kein Laktat produziert wird und a eine Konstante für den Laktatbedarf pro Strecke, der sich abhängig von Rasse und Training unterscheidet. Die Laktatproduktionsrate steigt mit der Geschwindigkeit.

Bei dem MAOD handelt es sich um eine errechnete Grösse, die mittels einer in einem Stufentest individuell für jedes Pferd angefertigten Kurve ermittelt wird. Wenn die gelaufene Geschwindigkeit die VO_{2max} entsprechend überschreitet, wird MAOD aus der Differenz der gemessenen Sauerstoffaufnahme VO_2 und dem anhand der Kurve abgeschätzten Sauerstoffbedarf für die Dauer der Arbeit errechnet (Hinchcliff et al., 2002).

2.3.1 Overtraining

Bei Trabrennpferden ist wie beim Menschen eine Symptomatik bekannt, die als „Overtraining“ bezeichnet wird. Vermutlich existiert sie auch bei anderen Pferden, sie wurde dort bisher allerdings noch nicht beschrieben. Offensichtlich tritt nach zu intensivem oder zu langem Training ein Leistungsabfall auf. Hamlin et al. (2002) beobachten bei den betroffenen Pferden einen Rückgang der Spitzengeschwindigkeit um 6,9 %, eine geringere v_{200} , Gewichtsverlust und höhere Laktatwerte nach submaximaler Belastung. McGowan et al. (2002) stellen eine geringere Glykogenspeicherung und eine kürzere Laufzeit bis zur Ermüdung fest.

Golland et al. (1999) finden signifikant geringere Spitzencortisolwerte nach der Arbeit. Auf die Muskelfasern scheint Overtraining keinen Einfluss zu haben (Tyler et al., 1998). Auch $VO_2\text{max}$ verändert sich nicht, während der Gasaustausch und die CO_2 -Produktion bei übertrainierten Pferden geringer werden (Tyler et al., 1996).

2.4 Zugarbeit

Bei Kutschpferden ändert sich im Laufe des Trainings die Muskelfaserzusammensetzung in ähnlicher Weise wie bei Pferden im Ausdauertraining; der Anteil der oxidativen Fasern und der Typ I-Fasern steigt und die Typ IIB-Fasern nehmen ab, während die Zahl der Typ IIA-Fasern unverändert bleibt (Rivero und Serrano, 1999). Serrano und Rivero (2000) stellen ausserdem bei Andalusiern im Zugtraining eine verbesserte Kapillarisation und einen erhöhten Prozentsatz von Typ IIA-Fasern in den oberflächlichen Regionen des M. gluteus fest, während der Gesamtanteil der Typ IIA-Fasern im Muskel sich nicht ändert. Gottlieb et al. (1989) finden nach submaximalem Intervalltraining auf dem Laufband mit 34 kp Zuglast bei Trabern im M. gluteus eine Verschiebung der Faseranteile von IIB nach IIA, sowie im M. brachiocephalicus eine Zunahme der Typ I-Fasern.

Der Glykogenverbrauch in den verschiedenen Fasertypen findet auch beim Zugpferd in der Reihenfolge Typ I - Typ IIA - Typ IIB statt (Gottlieb, 1989). Beim Vergleich von Zugarbeit in Schritt und Trab fällt auf, dass im Trab bei einer Last von nur 34 kp innerhalb von 5-10 Minuten die Glykogenvorräte aller Fasertypen erschöpft sind, während bei gleicher Last im Schritt zuerst die Typ I-Fasern entleert sind und erst etwa nach einer Stunde ein Teil der Typ IIA-Fasern. Eine Erhöhung der Zuglast auf 80 kp beschleunigt offensichtlich den Glykogenverbrauch deutlich, da hier bereits nach 30 Minuten auch die Typ IIB-Fasern leer sind (Gottlieb, 1989). Auch Herzfrequenz und Plasmalaktat zeigen -zumindest bei höherer Geschwindigkeit- einen signifikanten Anstieg mit Erhöhung der Zuglast (Gottlieb et al., 1996). Bei niedriger Zuglast fallen bei Arbeit auf dem Laufband gegenüber einer Bahn signifikant niedrigere Werte für Plasmalaktat und Herzfrequenz auf, die sich aber mit Erhöhung der Last angleichen (Gottlieb-Vedi und Lindholm, 1997). Eine andere Untersuchung von Gottlieb et al. (1988) zeigt, dass die Herzfrequenz sowohl mit Erhöhung der Geschwindigkeit als auch der Zuglast linear ansteigt. Es werden im Schritt bei 34 kp Zuglast durchschnittlich 111 ± 5 bpm und bei 80 kp 157 ± 10 bpm

erreicht, im Trab mit 34kp Last steigt die Herzfrequenz auf 197 ± 7 bpm (Gottlieb et al., 1989). Der Unterschied in der Geschwindigkeit ist anscheinend entscheidend für den Stoffwechselweg der Energiegewinnung. Im Vergleich zwischen Zugarbeit im Schritt mit 34 bzw. 80 kp Last und im Trab mit 34 kp (Gottlieb et al., 1989) fällt nur im Trab ein Laktatanstieg auf, während ausschliesslich im Schritt die freien Fettsäuren (FFS) im Blut steigen. Das heisst bei Zugarbeit wird das erforderliche ATP zu einem erheblichen Teil durch Oxidation von Fettsäuren erzeugt. Auch Perez et al. (1996) sehen bei Chilenischen Zugpferden bei täglichen 6 Stunden Arbeit vor dem Pflug nur einen mässigen Laktatanstieg auf etwa 4 mmol/l und eine deutliche Erhöhung der Triglyceride im Blut. Die Herzfrequenzen liegen während der Arbeit etwa um 106-118 bpm und die Pferde erholen sich völlig innerhalb von 30 Minuten. Unter kurzfristiger Belastung (Ziehen eines Wagens von unterschiedlichem Gewicht über 1500 m) können Perez et al. (1992) erst bei einer Zuglast von 2994 kg einen leichten Laktatanstieg feststellen, während Herzfrequenz, Atemfrequenz und Körpertemperatur deutlich steigen. Tägliche mehrstündige Arbeit vor einer Kutsche von 850 kg wird von den Pferden gut toleriert, nur nach längeren Trainingspausen fallen am ersten Arbeitstag erhöhte Laktat- und Muskelenzymwerte auf, die über die nächsten Tage signifikant fallen (Perez et al., 1992).

Da verschiedene Autoren bei Muskelzusammensetzung und oxidativer Kapazität Rasseunterschiede feststellen (Lopez- Rivero et al., 1991; Saibene et al., 1985), vergleichen Potard et al. (1998) Kaltblüter und Vollblüter in der Zugarbeit. In diesem Test werden maximal 20 % des Körpergewichtes als Zuglast eingesetzt.

Sie kommen zu dem Ergebnis, dass Vollblüter im Verhältnis zu ihrem Körpergewicht (zumindest bis 20 % ihres Gewichtes) genau so viel ziehen können wie Kaltblüter und dabei doppelt so schnell sind. Allerdings verbrauchen sie auch doppelt so viel Sauerstoff, also ist die Effizienz im Ganzen etwa dieselbe. Aufgrund der unterschiedlichen Kontraktionsgeschwindigkeiten der Muskelfasern erreichen Kaltblutpferde die höchste Effizienz bei niedrigeren Geschwindigkeiten im Vergleich zu Vollblütern (Potard et al., 1998).

2.5 Herzfrequenz

Die physiologische Ruhe-Herzfrequenz beim Pferd wird mit 28, bzw. 30-40 bpm angegeben (Spörri, 1987; von Engelhardt, 2005). Im Schritt liegt die Herzfrequenz

bei 50 bis 90 bpm, im Trab je nach Geschwindigkeit zwischen 80 und 160 bpm, und im Galopp von 120 bis zu maximalen Frequenzen zwischen 200 und 240 bpm bei schwerer Arbeit (siehe Abbildung 2; von Engelhardt 2005; Licht, 2000; Valberg et al., 1989; Geor und McCutcheon, 2005).

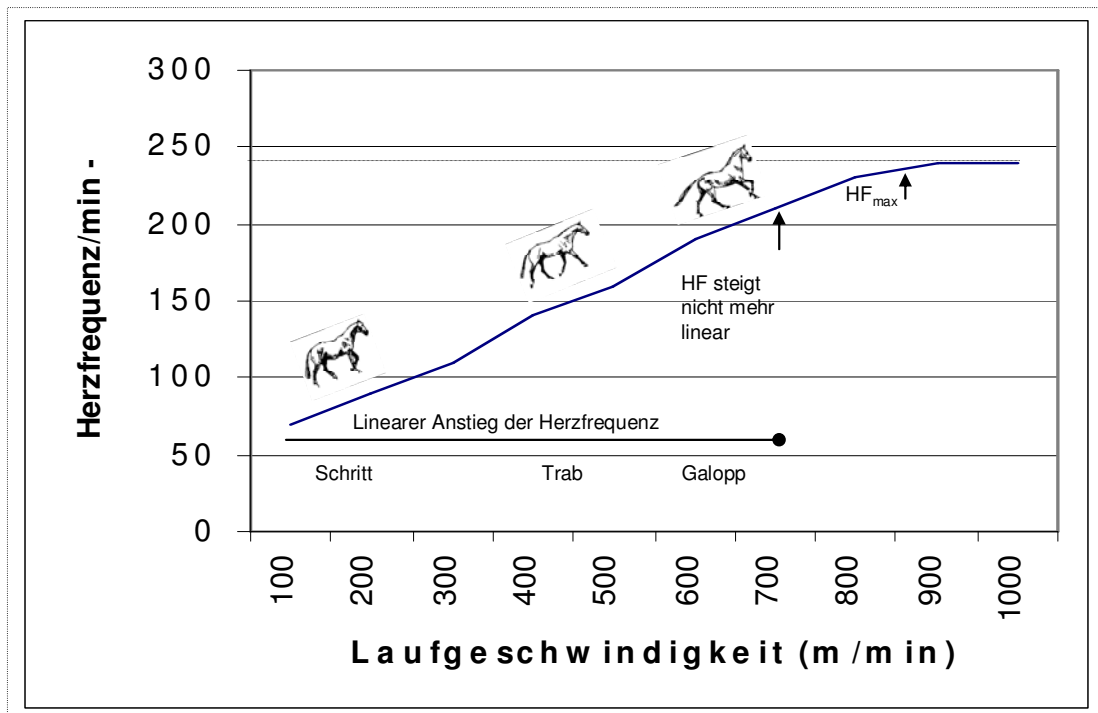


Abbildung 2: (nach: von Engelhardt, 2005) Herzfrequenz bei zunehmender Laufgeschwindigkeit von Pferden

Durch Steigungen oder Zuglast können sich, ausser bei den maximalen Herzfrequenzen, noch Abweichungen nach oben ergeben, da die Herzfrequenz linear mit Geschwindigkeit und Zuglast steigt (Gottlieb et al., 1988). Auch die Effizienz des Bewegungsmusters spielt eine gewisse Rolle, da z.B. bei Andalusiern die vertikale Komponente der Bewegung grösser ist und daraus bei gleicher Geschwindigkeit eine höhere Herzfrequenz und mehr Laktat resultiert (Munoz et al., 1999). Auf dem Laufband bewegen sich die Pferde effizienter und gleichmässiger als auf einer Rennbahn und haben dort daher eine niedrigere Herzfrequenz (Gottlieb-Vedi und Lindholm, 1997; Couroucé et al., 1999).

Bayer (1970) stellt bei Trabrennpferden fest, dass erfolgreiche Pferde bei submaximaler Belastung signifikant geringere Herzfrequenzen haben als weniger erfolgreiche, und so weniger Herzschläge pro Meter benötigen. Laut Harkins et al.

(1993) steigt bei schnellen Pferden die Herzfrequenz unter Belastung schneller an, bleibt aber dann auf niedrigerem Niveau konstant. Im Gegensatz zum Menschen stellt sich beim Pferd jedoch keine Trainingsbradykardie ein, so dass der Ruhepuls keinen Rückschluss auf die Leistungsfähigkeit zulässt (Bayer, 1970).

Die v_{200} , die Geschwindigkeit bei 200 bpm, ist dagegen ein anerkannter Leistungsparameter und liegt bei erwachsenen, gesunden Pferden in der Nähe der v_4 und ist wie diese durch Training zu steigern (Couroucé et al., 1999; Kobayashi et al., 1999). Kobayashi et al. (1999) beobachten eine gute Korrelation zwischen Laufgeschwindigkeit und Herzfrequenz, allerdings wird diese bei aufgeregten Tieren schlechter. Evans et al. (1993) vergleichen die Beziehung zwischen Rennleistung und Herzfrequenz, sowie Plasmalaktat, jeweils bei submaximaler Belastung. Sie erhalten eine bessere Korrelation zwischen Laktat und Rennleistung, da die Herzfrequenz stärker unter psychischem Einfluss steht. Die Herzfrequenz ist also ein Indikator sowohl für körperliche Anstrengung als auch für Stress. Das zeigen auch die von Covalesky et al. (1992) bei Springpferden gefundenen Korrelationen sowohl zwischen Herzfrequenz und Plasmalaktat wie auch Herzfrequenz und Plasmacortisol. Interessanterweise korrelieren hier Laktat und Cortisol nicht. Licht (2000) findet bei Trabern eine signifikante Korrelation zwischen Herzfrequenz und Cortisol im Speichel.

2.6 Laktat

Bei Laktat handelt es sich um das Ion der Milchsäure, die bei normalem Blut- pH fast vollständig aufgespalten in H^+ und $Laktat^-$ vorliegt (Lindner, 1997).

Das Plasmalaktat liegt bei Pferden in Ruhe normalerweise im Bereich von ca. 0,57 mmol/l (Brock, 1992) bis 1 mmol/l (Lindner, 1997). Je nach Intensität der Belastung steigt es in unterschiedlichem Mass an. Die Laktatbildung steht laut Desmecht et al. (1996) in linearer Beziehung zur gelaufenen Geschwindigkeit, während Gottlieb et al. (1988) eine exponentielle Beziehung beschreiben. Covalesky et al. (1992) stellen bei Springpferden eine direkte Proportionalität zwischen Herzfrequenz und Plasmalaktat fest. Die Intensität der Belastung ist also in den verschiedenen Pferdesportdisziplinen unterschiedlich hoch. So liegen nach Galopprennen und Trabrennen die Laktatspiegel mit über 20 mmol/l (Brock, 1992; Krzywanek, 1996) am höchsten, etwas geringer nach dem Geländeritt in der Vielseitigkeit, und deutlich

niedriger nach einem Springparcours mit ca. 9 mmol/l (Art et al., 1990). Am geringsten ist die Laktatanhäufung mit nur ca. 0,8-1,3 mmol/l (Lindner, 1997) nach einem Distanzritt, weil das Tempo in dieser Disziplin fast ausschliesslich im aeroben Bereich liegt.

Ausser der Geschwindigkeit und der Dauer der anaeroben Arbeit wird die Laktatproduktion durch den Rennverlauf beeinflusst (Brock, 1992), die Aussentemperatur (Gottlieb-Vedi et al., 1999), das Alter (McKeever und Malinowski, 1997; Couroucé, 2002), die Rasse (Munoz et al., 2002) und den Trainingszustand des Pferdes (Van den Hoven, 1983; Evans et al., 1993), sowie beim Traber und Kutschpferd durch die Zuglast (Gottlieb et al., 1988).

Gottlieb et al. (1988) stellen fest, dass Laktat ebenso wie mit der Geschwindigkeit auch exponentiell mit der Zuglast steigt. Bei einem Vergleich zwischen einem Stufentest im langsamen Trab mit steigender Zuglast und einem Stufentest im Trab ohne Last mit steigender Geschwindigkeit, werden im Zugtest bis zu 12,9 mmol/l Laktat, im Trabtest bis zu 7,9 mmol/l erreicht. Die Laktatwerte der Trabrennpferde in der Studie von Brock (1992) zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen Training und Rennen, wobei beim Rennen durch den Autostart von Anfang an eine sehr hohe Geschwindigkeit gelaufen werden muss. Auch scheint es eine Rolle zu spielen, ob ein Pferd das Rennen leicht gewinnt oder sehr kämpfen muss, im letzteren Fall liegt das Laktat höher (Brock, 1992). Bei extrem hohen Temperaturen um 35°C stellt Gottlieb-Vedi (1999) in Ruhe keinen Unterschied, aber bei Belastung einen signifikant höheren Laktatanstieg fest. Das Alter ist vor allem bei sehr jungen oder alten Tieren relevant. So stellen Couroucé et al. (2002) im Alter zwischen 2 und 4 Jahren eine signifikante Steigerung der v_4 durch Wachstum und Training fest. Bei alten Pferden über 20 Jahre lässt die aerobe Kapazität um etwa 24 % nach (McKeever und Malinowski, 1997), wie auch beim Menschen das MLSS (maximum lactate steady state) mit dem Alter sinkt (Mattern et al., 2003).

Während der Arbeit steigt der Laktatspiegel im Muskel sofort an. Er fällt nach einem Test bei 120 % VO_2 max nur langsam und ist nach 15 Minuten noch nicht zum Ruhewert zurückgekehrt (Schuback und Essen-Gustavsson, 1998). Im Blut dagegen kann nach einer Belastung unter Umständen der maximale Plasmalaktatwert erst einige Minuten nach Beendigung der Arbeit erreicht werden. In dem oben erwähnten Versuch von Schuback und Essen-Gustavsson (1998) steigt das Plasmalaktat nach dem Test noch 5 Minuten auf ein Maximum von 27,2 mmol/l. Lindner (1997) gibt die

Schwelle für einen weiteren Anstieg des Plasmalaktats nach Ende der Arbeit mit 8 mmol/l an.

Der Abbau des Laktats findet oxidativ im Skelett- und Herzmuskel sowie durch Glukoneogenese in der Leber und zu einem geringeren Teil auch in der Niere statt (Lindner, 1997). Bis das Plasmalaktat zum Ruhewert zurückgekehrt ist, dauert es laut Pinkowski et al. (1998) nach einer Belastung von 80 % VO_2 max mindestens 2 Stunden, daher empfehlen sie zwischen zwei Starts am selben Tag eine Pause von wenigstens dieser Dauer. Durch Bewegung im Schritt nach dem Rennen kann der Laktatabbau beschleunigt werden (Hubbell et al., 1997); nach 30 Minuten liegt bei den im Schritt bewegten Pferden das Plasmalaktat signifikant niedriger als bei den Pferden, die gestanden waren.

Der Laktatspiegel im Plasma unterscheidet sich signifikant von dem im Vollblut (Lindner, 1997), da die Erythrozyten in der Lage sind, Laktat aufzunehmen. Der Transport des Laktats in die roten Blutzellen geschieht nicht nur durch Diffusion und Anionentransport, sondern auch durch ein spezifisches Transportprotein, das in der Erythrozytenmembran liegt. Von der individuell verschiedenen Aktivität dieses Proteins, des H^+ -monocarboxylate-Co-Transporters (MCT), sowie -zumindest in vitro- auch vom pH-Wert, der Inkubationszeit und der Temperatur hängt die Verteilung des Laktats zwischen Plasma und Erythrozyten ab (Vaihkonen et al., 1999). Der Laktattransport kann beim Pferd wie auch beim Menschen nicht durch Training gesteigert werden, etwa 2/3 der Gesamtpopulation weisen einen hohen (HT), 1/3 einen niedrigen Transport (LT) auf (Vaihkonen et al., 2001). Ob ein Pferd einen hohen oder niedrigen Laktattransport besitzt, ist genetisch bedingt; LT folgt einem autosomal rezessiven Erbgang (Vaihkonen et al., 2002). Der MCT ist aus den Untereinheiten MCT1, 2 und 4 zusammengesetzt (Koho et al., 2002). Für den Laktattransport bei niedrigen Konzentrationen im Plasma ist offensichtlich die Untereinheit MCT2 verantwortlich, die bei LT- und HT- Pferden die gleiche Aktivität aufweist. Bei höheren Laktatkonzentrationen kommt die Untereinheit MCT1 dazu, welche bei LT- Pferden weniger aktiv ist, da ein für die Funktion wichtiger als C147 bezeichneter Katalysator nur in geringerer Menge vorhanden ist (Koho et al., 2002). Ob dieses Phänomen einen Einfluss auf die Leistung von Pferden hat, ist bisher ungeklärt.

2.6.1 Laktat als Leistungsparameter

Unter gewissen Bedingungen erlauben die Laktatwerte, Rückschlüsse auf die Leistungsfähigkeit eines Pferdes zu ziehen. Van den Hoven (1983) beobachtet, dass gut trainierte Traber bei gleicher Arbeit weniger Laktat produzieren und es auch schneller eliminieren als schlecht trainierte, jedoch lässt nach seiner Ansicht der Laktatspiegel nach Standardarbeit keinen Rückschluss auf die Rennleistung zu. Dagegen finden Roneus et al. (1994) eine negative Korrelation zwischen der Plasmalaktatkonzentration nach einem submaximalen Test und der Geschwindigkeit des Pferdes über 1600 m. Nach Davie et al. (2002) korrelieren teilweise v_4 und Gewinnsumme, auch Couroucé (1999) kann einen Zusammenhang von v_4 mit der Rennleistung feststellen. Bei guten Rennpferden liegt v_4 signifikant höher als bei schlechten (Couroucé et al., 1997). Da bei submaximaler Belastung, also nicht im Rennen, die besseren Pferde geringere Laktatwerte aufweisen, heisst das, dass gute Pferde bei Arbeit unterhalb der Höchstgeschwindigkeit entweder weniger Laktat produzieren oder es schneller eliminieren (Evans et al., 1993). Rainger et al. (1994) finden, allerdings bei maximaler Belastung, keinen signifikanten Unterschied in der Eliminierungsgeschwindigkeit von Laktat.

Darüber, dass die Plasmalaktatkonzentration nach einem Rennen, also nach maximaler Belastung, keinen ausreichenden Rückschluss auf die Rennleistung erlaubt, besteht in der Literatur weitgehende Einigkeit (Evans et al., 2002; Roneus et al., 1999). Auch Rasanen et al. (1995) finden keinen Zusammenhang zwischen Performance Index und Plasmalaktat, wohl aber eine positive Korrelation zwischen dem Performance Index und dem Laktat im Vollblut unmittelbar nach dem Rennen.

2.6.2 Trainingseffekte

Ausdauertraining führt zu einer geringeren Laktatbildung bei submaximalen Geschwindigkeiten (Aguera et al., 1995, Roneus et al., 1994). Nach 2 Wochen Training bei v_4 ist laut Gottlieb-Vedi et al. (1995) eine Erhöhung der v_4 zu verzeichnen, sowie nach 8-12 Wochen ein signifikanter Abfall des Laktatwertes bei 8 m/s. Für Couroucé et al. (2002) erscheint ein Training bei Geschwindigkeiten von v_2 bis v_4 effizient. Werkmann et al. (1996) vergleichen Training bei $v_{2,5}$ oder v_4 von jeweils 5, 15 oder 25 Minuten Dauer auf dem Laufband und können -bei allerdings bereits gut konditionierten Pferden- nur nach dem 25 Minuten- Trainingsplan bei v_4 eine Verbesserung feststellen.

Während durch Training bei niedrigeren Geschwindigkeiten die aerobe Kapazität verbessert wird und dadurch die Laktatproduktion bei Ausdauerleistung sinkt, spielt bei „Kurzstreckensprintern“ die anaerobe Kapazität eine grössere Rolle. Bei maximaler Belastung, die immer zum Teil im anaeroben Bereich stattfindet, steigt das Plasmalaktat physiologischerweise stark an.

Snow und McKenzie (1977) stellen fest, dass Pferde nach intensivem Training unter maximaler Belastung sogar höhere Laktatwerte erreichen. Auch Harkins et al. (1993) sehen einen Zusammenhang zwischen der Rennleistung eines Pferdes und der Fähigkeit, bei maximaler Belastung schnell viel Laktat zu produzieren. Roneus und Essen-Gustavsson (1997) zeigen bei Trabrennpferden eine Korrelation zwischen der Geschwindigkeit auf 1600 m und dem Plasmalaktat sowie der Glucose-6-Phosphat-Konzentration im Muskel. Dagegen finden Hinchcliff et al. (2002) keine Korrelation zwischen Verbesserung der anaeroben Kapazität und den Laktatwerten bei maximaler Arbeit. Lange war nicht sicher, ob es überhaupt möglich ist, die anaerobe Kapazität zu trainieren; Hinchcliff et al. (2002) kommen in ihrer Untersuchung zu dem Ergebnis, dass das MAOD durch intensives Training um 27 % gesteigert werden kann. Nach der intensiven Trainingsperiode fällt auch eine 17 % höhere Glykogenspeicherung im Muskel auf (Hinchcliff et al., 2002). Dagegen finden Gansen et al. (1999) eine erhöhte Glykogenspeicherung bei aerobem Training; sie vergleichen 45 Minuten Training bei $v_{1,5}$, bzw. $v_{2,5}$ mit 25 Minuten Training bei v_4 . Während des Trainings bleibt die Glykogenkonzentration unverändert, während sie 9 Tage nach Ende nur bei den ersten beiden Gruppen um 47- 48 % steigt.

Durch intensive Arbeit verringert sich jedoch der Glykogengehalt im Muskel zunächst (Essen-Gustavsson et al., 1989; Schuback et al., 1998; Valberg, 1986). Bei maximaler Beanspruchung werden laut Snow und McKenzie (1977) und Hyyppa et al. (1997) sowohl Glykogen als auch FFS verbraucht. Training führt zu einer verbesserten Ausnützung beider Substrate (Snow und McKenzie, 1977). Die Auffüllung des Glykogens braucht nach intensiver Arbeit mehr als 24 Stunden (Lacombe et al., 2001), nach mehreren Anstrengungen in kurzem Abstand sogar bis zu 72 Stunden (Hyyppa et al., 1997). Durch die Entleerung der Glykogenreserven um etwa 55 % sinkt das MAOD signifikant ab, weil wegen Substratmangels der anaerobe Stoffwechsel nicht mehr in vollem Mass stattfinden kann (Lacombe et al., 1999). Ausserdem sind die Pferde schneller erschöpft und weisen ein niedrigeres Plasmalaktat auf. Also wird durch Glykogenmangel die anaerobe Kapazität

verringert. Dem kann aber durch Infusion von Glucose-Lösung entgegengewirkt werden, was zu einer schnelleren Auffüllung der Glykogenreserven führt (Lacombe et al., 2001). Zu diesem Zweck Öl zu füttern, zeigt keinen Effekt, sondern verlangsamt bei nicht an Fettfütterung adaptierten Tieren sogar die Glykogenspeicherung im Muskel (Hyypä et al., 1999). Auch Harris et al. (1999) können bei Fett- adaptierten Pferden keinen Effekt der Ölfütterung finden, egal ob das Öl gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren enthält.

Nach Detraining zeigt sich, obwohl $VO_2\text{max}$ relativ lange konstant bleibt (Tyler et al., 1996), schnell ein Nachlassen der Ausdauer und eine erhöhte Laktatanhäufung nach submaximaler Belastung (Geor und McCutcheon, 2005).

2.6.3 Laktat im Speichel

Während beim Menschen bereits Literatur über Laktat im Speichel existiert, gibt es über dieses Thema beim Pferd kaum Untersuchungen. Gansen et al. (1996) vergleichen bei Haflingerhengsten nach einem kontinuierlichen Lauf und einem Stufentest auf dem Laufband die Laktatwerte in Blut, Schweiß und Speichel. Der Speichel wird dabei an zwei verschiedenen Stellen im Maul entnommen, auf Höhe der Molaren und unter der Zunge, wobei der unter der Zunge entnommene Speichel mehr Laktat enthält. Der auf Höhe der Backenzähne entnommene Speichel enthält bei einem entsprechenden Blutlaktat von $4,61 \pm 1,46$ mmol/l $1,95 \pm 2,16$ mmol/l Laktat. Es kann weder bei Schweiß noch bei Speichel eine signifikante Korrelation zum Blutlaktat festgestellt werden, ausserdem fällt eine sehr grosse Standardabweichung in den Werten auf.

Beim Hund hingegen findet Hata (1941) eine Proportionalität der Laktatwerte in Blut und Speichel.

Beim Menschen ist Laktat im Speichel immer vorhanden, auch in Ruhe (Meller, 1970). Nach kurzer intensiver Belastung stellt Meller (1970) einen Anstieg um 114,7 % fest. Nach 40 Minuten ist der Ruhewert wieder erreicht.

Obwohl sich bei körperlicher Arbeit der Laktatwert im Speichel erhöht, ist man sich über die Herkunft des Laktats im Speichel noch nicht einig; da aber Laktat nicht nur im Mundspeichel, sondern auch direkt im Drüsensekret gefunden wird, scheint es sich nicht um ein Zersetzungsprodukt von Kohlenhydraten in der Mundhöhle zu handeln (Möllmann, 1935). Mendez et al. (1976) können bei jungen Männern nach maximaler Anstrengung keine signifikante Korrelation zwischen Blut- und

Speichellaktat nachweisen und sehen die Möglichkeit, dass das Laktat im Speichel aus anaerobem Metabolismus der Speicheldrüsen stammt. Segeera et al. (1996) kommen dagegen zu dem Ergebnis, dass beim Menschen unter verschieden intensiver Belastung auf dem Fahrradergometer die Korrelation zwischen Plasma- und Speichellaktat bei guter Präzision mit $r = 0,81$ sehr deutlich ist. In dieser Untersuchung liegt das Speichellaktat immer etwa bei 15 % des Plasmawertes. Auch Ohkuwa et al. (1995) sehen sowohl bei Sprintern als auch bei Langstreckenläufern nach einem 400m-Lauf eine signifikante Korrelation zwischen Blut- und Speichellaktat. Die Werte lassen sich in einem Wiederholungslauf gut reproduzieren und sind anscheinend unabhängig von der Speichelflussrate. Die Laktatmenge liegt wie im Blut auch im Speichel bei den Sprintern höher als bei den Langstreckenläufern. Der Laktatanstieg im Speichel erfolgt beim Menschen offensichtlich mit einer Verzögerung von bis zu 10 Minuten (Ben-Aryeh et al., 1989).

2.6.4 Probenbehandlung

Da sich in Vollblut bei Zimmertemperatur der Laktatgehalt der Proben nach der Entnahme weiter erhöht, rät Lindner (1997) entweder zu Enteiweissung mit Perchlorsäure oder zur Verwendung von Fluorid-Plasmaröhrchen, die kühl gelagert werden sollten. Jedoch ist der Laktatgehalt auch bei Zimmertemperatur in deproteinisiertem Vollblut vom Pferd und in Pferdeplasma über 7 Tage stabil, in eingefrorenen Proben sogar über mindestens 60 Tage (Lindner, 1994). Im menschlichen Speichel bleibt bei 4°C der Laktatgehalt über 40 Tage konstant (Segeera et al., 1996).

2.7 Glucose

Die Glucose ist im Stoffwechsel der wichtigste Brennstoff zur Erzeugung von Energie (Stryer 1991).

Die Referenzwerte für den Blutzuckerspiegel werden beim Pferd mit 80-120 mg/dl (Kraft und Dürr, 2005), bzw. 50 und 150 mg/dl (Grimminger-Heigl, 1993) angegeben, sowie mit 50-100 mg/dl beim nüchternen Pferd. Bei Jungtieren liegt die Plasmaglucose im Durchschnitt höher als bei adulten Tieren (Grimminger-Heigl, 1993). Der Glucosewert im Plasma ist signifikant vom Fütterungszeitpunkt abhängig (Grimminger-Heigl, 1993), der Peak tritt etwa zwei Stunden nach der Fütterung auf (Anderson, 1975). Hagemester und Unshelm (1969) finden beim Rind eine

anscheinend nicht ausschliesslich fütterungsabhängige Tagesrhythmik des Blutzuckers mit einem Peak zwischen 10 und 14 Uhr. Grimminger-Heigl (1993) stellt eine signifikante Abhängigkeit der Plasmaglukose von der Rasse fest, wobei Kaltblüter und Ponies niedriger liegen als Warmblutpferde.

Bei mässiger Belastung sehen manche Autoren einen Glucoseabfall im Blut durch Metabolisierung, wie z.B. Brock (1992) beim Trabrennpferd nach langsamem Fahren bis zu einem Tempo von 480 m/min. Andere finden keine Veränderung, wie Art et al. (1990) nach einem Springparcours. Nach einem Distanzritt kann Essen-Gustavsson (1984) nur bei den erfolgreichsten Pferden einen verringerten Glucosespiegel feststellen, bei allen anderen ändert sich nichts. Bei Trabern, die nach dem Rennen einen Glucoseabfall zeigen, normalisiert sich der Wert innerhalb einer Stunde (Grimminger-Heigl, 1993).

Unter Stress steigt dagegen trotz erhöhten Glucoseverbrauchs der Blutzuckerspiegel, da Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) ausgeschüttet wird, was wiederum eine Katecholaminausschüttung bewirkt. Dadurch wird weniger Insulin und mehr Glukagon freigesetzt, was den Blutzucker ansteigen lässt (Brock, 1992). Stress kann bei Sportpferden in erster Linie durch Nervosität oder hohe körperliche Leistung entstehen, was beides zu einer ACTH- Freisetzung führt. Infolge dessen wird auch Cortisol ausgeschüttet, was die Korrelation zwischen Glucose und Cortisol im Blut erklärt (Brock, 1992).

2.7.1 Glucose im Speichel

Der Zuckergehalt des Speichels wird selbstverständlich stark durch Reste zuckerhaltiger Nahrung beeinflusst, insbesondere wenn zur Anregung des Speichelflusses mit Drops oder ähnlichen Hilfsmitteln gearbeitet wird (Eckersall, 1984 und 1985). Eckersall (1984 und 1985) geht in seinen Untersuchungen von der nicht bewiesenen Annahme aus, dass reiner Pferdespeichel keine Glucose enthält. Beim Menschen finden Rehak et al. (2000) keine messbare Menge Glucose im Speichel, obwohl sie auf anders lautende Ergebnisse anderer Untersuchungen hinweisen. Weber (1989) kann im menschlichen Speichel geringe Mengen Glucose nachweisen, die allerdings keine Korrelation zum Blutzucker aufweisen und indirekt proportional zur Speichelflussrate sind. Im Gegensatz hierzu beobachten Reuterving et al. (1987) beim Menschen und Langley et al. (1958) beim Hund oberhalb eines Schwellenwertes eine Proportionalität von Blut- und Speichelglucose. Hata (1941)

kann beim Hund generell für Laktat und Glucose eine Korrelation zwischen Blut und Speichel feststellen.

2.7.2 Probenbehandlung

Um den Zuckergehalt der Plasmaprobe konstant zu halten, werden Fluorid-Plasmaröhrchen empfohlen (Kraft und Dürr, 2005). Gough et al. (1996) stellen sogar in bei -20°C eingefrorenen menschlichen Speichelproben einen Glucoseverlust fest und empfehlen auch bei Speichel die Inhibition des Glucosemetabolismus durch NaFl.

2.8 Laktatdehydrogenase (LDH)

Die Laktatdehydrogenase (LDH) ist ein zelluläres Enzym, das die Reaktion

$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{Laktat} + \text{NAD}^+$ katalysiert (Stryer, 1991).

Die Aktivität der LDH im Plasma liegt beim Pferd nach Grimminger-Heigl (1993) im Mittel bei 351 ± 112 IU/l, als Referenzwert kann ein Maximum von 600 IU/l gelten. Es besteht eine signifikante Abhängigkeit von Rasse und Geschlecht. Die LDH-Werte von Kaltblutpferden und Ponies liegen relativ hoch (Grimminger-Heigl, 1993), wie auch Klingelhöfer (1998) bei Isländern feststellt. Auch Munoz et al. (2002) können bei Andalusiern im Training signifikant höhere LDH-Aktivitäten als bei Arabern und Anglo-Arabern messen. Stuten haben eine höhere LDH-Aktivität als Wallache, deren LDH-Aktivität wiederum über der der Hengste liegt (Grimminger-Heigl, 1993; Klingelhöfer, 1998). Im Gegensatz dazu beobachten Gayotto et al. (1989) in der LDH-Aktivität beim Menschen keine signifikanten Alters- oder Geschlechtsunterschiede. Art et al. (1990) können bei Springpferden auch deutliche individuelle Unterschiede in den LDH-Werten feststellen.

Beim Rind zeigt das Enzym eine Tagesrhythmik, wobei die Werte am Nachmittag höher liegen als am Morgen (Hagemeister und Unshelm, 1967). Dieselben Autoren finden darüber hinaus ebenfalls beim Rind bei Silagefütterung eine höhere Aktivität der LDH als bei Heufütterung. Nach Arai et al. (2003) liegt die LDH-Aktivität beim Rind insgesamt höher als beim Pferd.

Die LDH ist ein Tetramer aus zwei verschiedenen Untereinheiten, dem H-Typ, der im Herzmuskel dominiert, und dem in der Skelettmuskulatur und der Leber vorherrschenden M-Typ (Stryer, 1991). Aus der Kombination der Untereinheiten ergeben sich fünf Isoenzyme: Typ1 = H₄; Typ 2 = H₃ M₁; Typ3 = H₂ M₂; Typ 4 = H₃

M₁; Typ 5 = M₄ (Nagler, 2000). Beim Pferd findet man LDH₁ und LDH₂ vorwiegend im Herzen, LDH₅ hauptsächlich in der Skelettmuskulatur (Thornton und Lohni, 1979). Littlejohn und Blackmore (1978) können in den zur Fortbewegung benötigten Muskeln deutlich mehr LDH₅ nachweisen als in der restlichen Skelettmuskulatur.

Im Blut findet sich ein bestimmtes Isoenzymmuster; beim gesunden Pferd ist laut Hatzipanagiotou et al. (1991) die Verteilung im Plasma wie folgt: LDH₁ 22 %, LDH₂ 36 %, LDH₃ 34 %, LDH₄ 6 %, LDH₅ 2 %. Damit entspricht die Rangordnung der Isoenzymanteile im Pferdeplasma der des menschlichen Serums: LDH₂ > LDH₃ > LDH₁ ≥ LDH₄ > LDH₅ (Rehak et al. 2000). Die Aktivität der LDH kann unter Umständen beim Menschen im Plasma höher liegen als im Serum (Liu et al., 2000). Beim Pferd sind nach Lindner (1991) die Gesamtaktivitäten der LDH in Serum und Plasma gleich, auch die Isoenzymverteilung unterscheidet sich nicht (Lindner und Hatzipanagiotou, 1993). Erkrankungen des Bewegungsapparates lassen LDH₄ und LDH₅ im Plasma ansteigen (Hatzipanagiotou et al., 1991), bei Kreuzverschlag werden LDH-Aktivitäten bis zu 20.000 IU/l gemessen (Grimminger-Heigl, 1993). Auch bei normaler Belastung lässt sich eine Reaktion der LDH verzeichnen, so können Art et al. (1990) nach einem Springparcours und Schmidt (1979) bereits nach 15 Minuten Longieren einen sofortigen geringen Anstieg feststellen. Nach einem Distanzritt über 160 km zeigen die schnellen Pferde höhere LDH-Werte als die langsameren. Die höchsten Werte werden etwa 24 Stunden nach einer Belastung erreicht, nach 72 Stunden ist die LDH-Aktivität zum Ausgangswert zurückgekehrt (Anderson, 1975).

Beim Pferd besteht eine positive Korrelation zwischen den Blutwerten von LDH und CK (Klingelhöfer, 1998).

2.8.1 Trainingseffekte

Durch Ausdauertraining sinken beim Pferd die LDH-Werte im Blut, da es sich um ein Enzym des anaeroben Muskelstoffwechsels handelt, und die aeroben Enzyme, wie die Citratsynthase steigen (Guy und Snow, 1977; Hodgson et al., 1983; Essen-Gustavsson et al., 1989; Serrano et al., 2000). Bei anaerobem Sprinttraining dagegen steigt die LDH (Guy und Snow, 1977).

2.8.2 LDH im Speichel

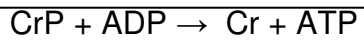
Über die LDH-Aktivität im Pferdespeichel liegt bisher keine Literatur vor. Beim Menschen können -bei unstimuliertem Speichelfluss- im Mittel 314 ± 154 (SD) IU gemessen werden (Rehak et al., 2000). Das entspricht dem 1,9 fachen Serumwert. Daher kann die Speichel-LDH nicht vollständig aus dem Blut stammen. Ausserdem weist die LDH im Speichel ein völlig anderes Isoenzymmuster auf, das eher dem des Mundepithels als dem des Blutes entspricht (Rehak et al., 2000). Im Speichel herrschen im Gegensatz zum Blut LDH₅, LDH₄ und LDH₃ vor, während LDH₂ und LDH₁ nur in sehr geringer Menge vorhanden sind (Rehak et al., 2000; Nagler et al., 2000). Daher muss die Speichel-LDH primär aus den Speicheldrüsen oder der Mundhöhle kommen. Laut Nagler et al. (2000) stammen von den von ihnen gefundenen insgesamt 360 bis 430 IU/l im menschlichen Speichel nur ca. $41,3 \pm 19,2$ (SEM) IU/l aus der Gl. parotis und $77,5 \pm 30,4$ (SEM) aus den Gll. sublingualis und submandibularis. Somit müssen ca. 75 % der LDH im Speichel eine andere Quelle haben. Bei stimuliertem Speichelfluss sinkt durch die Verdünnung die Gesamtaktivität der LDH stark ab. Ausserdem verschiebt sich das prozentuale Verhältnis der Isoenzyme noch stärker in Richtung von LDH₅, LDH₄ und LDH₃ (Nagler et al., 2000).

2.8.3 Probenbehandlung

Im Vollblut ändert sich die LDH-Aktivität schnell, im Plasma ist sie bei 22°C 4 Tage stabil, bei -18°C sogar 10 Wochen (Lindner, 1991). Alonso de la Pena et al. (2004) stellen beim Einfrieren von menschlichen Speichelproben einen LDH-Aktivitätsverlust fest, dagegen bleiben die Werte bei Raumtemperatur oder bei 4°C im Kühlschrank einige Tage konstant.

2.9 Kreatinin

Kreatinin ist ein zyklisches Säureamid (Hacklechner, 1993). Es stellt ein Endprodukt des Muskelstoffwechsels dar. Zunächst entsteht in einer von der Kreatinkinase (CK) katalysierten Reaktion durch die Übertragung einer Phosphorylgruppe von Kreatinphosphat auf ADP Kreatin und ATP (Stryer, 1991).



Kreatin wird schliesslich unter Wasserabspaltung zu Kreatinin abgebaut (Wachter und Hausen, 1989). Kreatinin wird zum allergrössten Teil über die Niere ausgeschieden. Neben dem noch exakter auswertbaren Inulin wird Kreatinin gerne zur Überprüfung der Nierenfunktion herangezogen (Silbernagl, 1991). Die in 24 Stunden gebildete Kreatininmenge ist relativ konstant (Hierholzer und Fromm, 1987). Kreatinin ist frei filtrierbar, wird nicht resorbiert und nur bei hohem Blutspiegel geringgradig sezerniert (Hacklechner, 1993). Also entspricht seine Clearance in etwa der glomerulären Filtrationsrate (Silbernagl, 1991). Da der Zusammenhang der glomerulären Filtrationsrate und der Kreatinin-Plasmakonzentration nicht linear ist, sind die Blutwerte erst bei einer starken Einschränkung der Nierenfunktion hinreichend genau (Hierholzer und Fromm, 1987). Liegt der Messwert innerhalb der Norm, so sagt das nur aus, dass mindestens 50 % des Nierengewebes arbeitet (Hacklechner, 1993). Um geringere Schäden diagnostizieren zu können, ist die Bestimmung der endogenen Kreatininclearance oder der exogenen Inulinclearance unerlässlich (Hierholzer und Fromm, 1987).

Beim Menschen gibt es für Kreatinin einen Geschlechtsunterschied, Herold (2005) gibt die Referenzwerte im Blut für Männer mit 0,5-1,1 mg/dl (44-97 $\mu\text{mol/l}$) und für Frauen mit 0,5-0,9 mg/dl (44-80 $\mu\text{mol/l}$) an.

Die Kreatininwerte liegen im Blut beim gesunden Pferd in Ruhe zwischen 0,8 und 1,8 mg/dl, bzw. 71-159 $\mu\text{mol/l}$ (Kraft und Dürr, 2005). Es besteht eine signifikante Abhängigkeit vom Fütterungszeitpunkt, ausserdem haben im Stall gehaltene Pferde signifikant höhere Kreatininwerte als Weidepferde (Hacklechner, 1993).

Trainingsbelastung führt zu einer Erhöhung des Kreatininwertes im Blut, der aber innerhalb von 30 Minuten wieder zum Ruhewert zurückkehrt (Aguera et al., 1995). Valberg et al. (1989) stellen bei Trabrennpferden nach 55 Minuten im Trab auf dem Laufband bei 5 m/s einen deutlichen Anstieg des Kreatinins auf über 160 $\mu\text{mol/l}$ (1,8 mg/dl) fest. Nach 5 Minuten Erholung ist der Ruhewert noch nicht wieder erreicht, es erfolgt aber kein weiterer Anstieg. In einem maximalen Stufentest werden noch höhere Kreatininwerte erreicht, aber auch hier steigen diese nach Ende der Arbeit nicht weiter (Valberg et al., 1989). Der Kreatininanstieg ist vermutlich entweder auf verstärkte Spaltung von Kreatinphosphat zurückzuführen (Valberg et al., 1989) oder auf Flüssigkeitsverlust durch Schwitzen und verringerte Durchblutung der Niere bei

fortgesetzter Muskelarbeit (Williamson et al., 1996; Rose et al., 1980). Auch Andrews et al. (1995) finden beim Vergleich von zwei Leistungsklassen von Vielseitigkeitspferden bei den Teilnehmern des schwereren Wettbewerbs höhere Kreatininwerte und schliessen auf eine reduzierte glomeruläre Filtrationsrate (GFR). Im Gegensatz hierzu können McKeever et al. (1991), deren Untersuchung auch eine Urinanalyse beinhaltet, zumindest unter submaximaler Belastung keine Veränderung der GFR feststellen.

Im Laufe des Trainings scheint es keinen gerichteten Verlauf der Kreatininwerte zu geben, zur Beurteilung des Trainingsfortschritts ist Kreatinin ungeeignet (Kallweit et al., 1996).

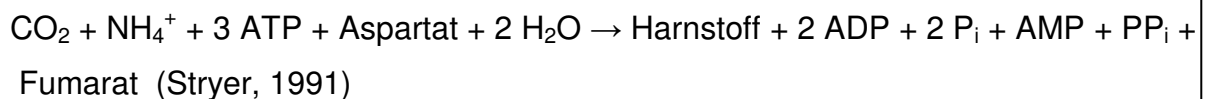
2.9.1 Kreatinin im Speichel

Zu Kreatinin im Pferdespeichel existiert bisher keine Literatur. Beim Menschen geben Lloyd et al. (1996) die Kreatininmenge im Speichel mit etwa 10-15 % der Serumkonzentration an. Chiou et al. (1977) finden bei gesunden Menschen und Nierenpatienten Verhältnisse der Serum- und Speichelwerte zwischen 4,5:1 und 30:1. In einer anderen Untersuchung (Chiou und Pu, 1979) wird für gesunde Menschen ein durchschnittliches Serum- Speichelverhältnis von ca. 9,99:1 ermittelt. Diese Werte sind aber sehr variabel sowohl zwischen den Individuen als auch zwischen den Messzeitpunkten beim gleichen Probanden. Chiou et al. (1977,1979) kommen daher zu dem Ergebnis, dass Speichelkreatinin nur einen begrenzten diagnostischen Wert hat.

In der Untersuchung von Rehak et al. (2000) liegt Kreatinin im Speichel unterhalb der Nachweisgrenze. Da aber die Autoren auf früher veröffentlichte Referenzwerte von 0,28-0,46 mg/dl (24,8-40,7 µmol/l) hinweisen und hier eine enzymatische Analyse verwendet wird, die bekanntermassen bis zu 0,3 mg/dl (26,5 µmol/l) geringere Kreatininwerte als die allgemein übliche Jaffé-Methode ergibt, kann trotzdem Kreatinin vorhanden sein (Rehak et al., 2000). Lloyd et al. (1996) erhalten mit der Jaffé-Methode Medianwerte für Speichelkreatinin von 8,5 µmol/l (0,096 mg/dl) bei gesunden Menschen und 84 µmol/l (0,95 mg/dl) bei Nierenkranken. Sie stellen bei Gesunden keine Korrelation zwischen Serum- und Speichelkreatinin fest, wohl aber bei Nierenkranken. Im Gegensatz zu Chiou et al. (1977) sehen Lloyd et al. (1996) die Untersuchung von Speichelkreatinin als gute Möglichkeit zur Ermittlung von Patienten mit Serumkreatininkonzentrationen über 120 µmol/l (1,35 mg/dl).

2.10 Harnstoff

Harnstoff ist ein Endprodukt des Proteinstoffwechsels bei Säugetieren, nicht toxisch, leicht wasserlöslich und als Säureamid nur schwach basisch (Wachter und Hausen, 1989). Er dient zur Entgiftung der beim Proteinabbau anfallenden Ammoniumionen (NH_4^+) und wird in der Leber im Harnstoffzyklus synthetisiert. Der Harnstoffzyklus wurde 1932 von Hans Krebs und Kurt Henseleit entdeckt und ist eng mit dem Citratzyklus verbunden (Stryer, 1991). Die stöchiometrische Gleichung lautet:



Harnstoff wird zum grössten Teil über die Niere ausgeschieden, in geringer Menge aber auch über den Speichel (Hierholzer und Fromm, 1987).

In der Niere wird der Harnstoff zunächst frei filtriert und dann im proximalen Tubulus und der Henleschen Schleife ca. 70 % der filtrierten Menge passiv mit Wasser resorbiert (Hierholzer und Fromm, 1987). Der distale gewundene Tubulus und der cortikale Teil der Sammelrohre sind nicht permeabel für Harnstoff, daher wird hier durch weitere Wasserresorption eine sehr hohe Harnstoffkonzentration erreicht. Da der distale Teil der Sammelrohre wasserundurchlässig, aber wieder permeabel für Harnstoff ist, kann ein Teil der Harnstoffmenge über das Interstitium, wo er für eine hohe Osmalität sorgt, wieder in den aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife zurückdiffundieren (Rezirkulation) (Hierholzer und Fromm, 1987; Silbernagl, 1991).

Bei einem renal bedingten Anstieg der Harnstoffkonzentration im Blut kann man davon ausgehen, dass bereits zwei Drittel des Nierenparenchyms geschädigt sind (Hacklechner, 1993). Die Referenzwerte für Serumharnstoff beim Pferd liegen bei 20-40 mg/dl, bzw. 3,3-6,7 mmol/l (Kraft und Dürr, 2005). In Serum und Plasma unterscheiden sich die Harnstoffwerte nicht (Lindner, 1991). Es muss beachtet werden, dass der Blutharnstoff in signifikantem Zusammenhang mit der Fütterung steht; bei proteinreichem Futter wie z.B. Gras zeigt sich ein deutlicher Anstieg. Hacklechner (1993) ermittelt bei Pferden im Serum Normalwerte von 19-46 mg/dl, bzw. bei Grasfütterung 24-60 mg/dl. Miller und Lawrence (1988) stellen bei Pferden mit höherem Proteinanteil im Futter nach Arbeit auf dem Laufband einen signifikant höheren Anstieg des Harnstoffs im Blut fest. Möglicherweise besteht auch ein

saisonalen Einfluss, da in der Untersuchung von Krzywanek et al. (1996) bei jungen Trabern der Harnstoff im Blut im Mai signifikant über den Werten im Oktober liegt, was aber auch mit dem höheren Proteingehalt des Grases im Frühjahr zusammenhängen kann. Kallweit et al. (1996) können bei Warmbluthengsten im Training für die Hengstleistungsprüfung keinen gerichteten Verlauf der Harnstoffwerte von Mai bis Oktober feststellen. Vermutlich haben die Pferde hier nur wenig oder keinen Weidegang, so dass die Fütterung gleich bleibt.

Das Rind zeigt deutliche individuelle Unterschiede in der Höhe des Blutharnstoffs, ausserdem scheint auch die Tageszeit eine gewisse Rolle zu spielen. Hagemeyer und Unshelm (1969) beobachten bei Rindern geringgradig höhere Harnstoffwerte zwischen 8 und 10 sowie zwischen 16 und 18 Uhr.

Unter Belastung steigt beim Pferd der Harnstoff im Blut signifikant an (Rose et al. 1980). Die Höhe des Anstiegs ist sowohl von der Fütterung (s.o.; Miller und Lawrence, 1988) als auch von der Intensität der Belastung abhängig. Valberg et al. (1989) weisen nach einem maximalen Belastungstest einen signifikant höheren Harnstoffanstieg nach als bei einem submaximalen Test. Offensichtlich gibt es keinen Einfluss des Trainings auf den Harnstoff im Blut, da Kallweit et al. (1996) keinen gerichteten Verlauf über die Trainingsdauer feststellen können.

2.10.1 Harnstoff im Speichel

Der Harnstoffgehalt im Pferdespeichel wird von Eckersall (1984) mit im Mittel 1,6 mmol/l (6,54 mg/dl), bzw. 1,09 mmol/l (9,6 mg/dl) (Eckersall, 1985) angegeben. Diese Werte haben einen hohen Variationskoeffizienten von 0,43 (Eckersall, 1985), was teils auf individuelle Unterschiede zwischen den Tieren, teils auch auf Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten zurückzuführen ist.

Über das Verhältnis von Speichel- zu Blutharnstoff liegt für das Pferd keine Literatur vor. Beim Menschen zeigt die Harnstoffkonzentration im Speichel eine gute Korrelation ($r = 0,93$) zu der im Serum (Akai et al., 1983). Rehak et al. (2000) finden im menschlichen Speichel im Mittel $4,5 \pm 1,5$ mmol/l (27 ± 9 mg/dl) (SD) Harnstoff. Diese Menge entspricht ca. 90 % des Serumharnstoffs.

Varady et al. (1977) stellen beim Schaf fest, dass endogener Harnstoff ausser über die Niere in geringerem Mass auch über den Digestionstrakt ausgeschieden wird, und zwar davon zu 10 % über den Speichel, der Rest über Galle, Pankreassekret und durch die Wand des Verdauungstraktes. Beim Schaf besteht wie beim

Menschen eine Korrelation zwischen Blut- und Speichelharnstoff (Boivin und Bost, 1977). Auch Cirio et al. (2000) können beim Schaf eine Korrelation von Plasma- und Speichelharnstoff nachweisen. Es werden im Speichel etwa 60-74 % der Plasmawerte erreicht. Die Harnstoffkonzentration im Speichel ist beim Schaf weitgehend unabhängig von der Speichelflussrate (Cirio et al., 2000). Beim Hund hingegen besteht ein deutlicher Zusammenhang mit der Flussrate, wobei die Harnstoffkonzentration bei geringer Flussrate steigt (Watanabe et al., 1984). Die Harnstoffausscheidung der Gl. parotis liegt signifikant über der der Gl. sublingualis und Gl. mandibularis, wobei die Harnstoffkonzentration im Speichel jeder Drüse mit den Plasmawerten korreliert (Watanabe et al., 1984).

2.10.2 Probenbehandlung

Harnstoff ist in Serum-, Plasma- und Vollblutproben bei 22°C 4 Tage lang stabil, im Plasma bei -18°C über 10 Wochen (Lindner, 1991).

2.11 Kreatinkinase (CK)

Das Enzym Kreatinkinase (CK) katalysiert die Übertragung einer Phosphorylgruppe von Kreatinphosphat auf ADP (siehe 2.9 Kreatinin) (Stryer, 1991). Es handelt sich um eine Transferase mit einem Molekulargewicht von etwa 80.000 (Klingelhöfer 1998), die ein Dimer aus zwei Untereinheiten bildet. Daraus ergeben sich drei Isoenzyme, CK-MM, CK-MB und CK-BB (Klingelhöfer, 1998). Nach Thornton und Lohni (1979) kommt CK in grösseren Mengen nur in Skelettmuskulatur und Herz vor. Argiroudis et al. (1982) gelingt jedoch der Nachweis der verschiedenen Isoenzyme in unterschiedlichen Geweben. Beim Pferd ist CK-MM hauptsächlich in quergestreifter und glatter Muskulatur vertreten, sowie in geringem Mass in der Schilddrüse, Leber, Milz, Lunge und dem Darm. CK-BB kommt primär im Gehirn vor, aber auch in Pankreas, Niere, Darm, Lunge, Milz, Leber und Schilddrüse (Argiroudis et al., 1982). CK-BB tritt beim Pferd wie beim gesunden erwachsenen Menschen normalerweise kaum ins Blut über (Klingelhöfer, 1998), während sie beim Hund die grösste Isoenzymfraktion im Serum stellt (Knob und Seidl, 1980). Furr und Tyler (1990) beobachten erhöhte CK-BB-Werte von über 1 IU/l in der Cerebrospinalflüssigkeit des Pferdes im Zusammenhang mit einigen zentralnervösen Erkrankungen wie EPM, Traumata und Botulismus. CK-MB ist in Darm und Milz vertreten, ausserdem auch

im Herzen, wo es allerdings - im Gegensatz zu 28 % beim Menschen (Klingelhöfer, 1998) - für nur 1,5 % der CK-Aktivität verantwortlich ist und daher beim Pferd nicht als Indikator für Myokardschäden in Frage kommt (Argiroudis et al., 1982). Im Plasma von gesunden Pferden herrscht CK-MM (=CK₁) mit 75 % vor, CK-MB (=CK₂) hat einen Anteil von 15 %, während die restlichen 10 % sich nicht eindeutig zuordnen lassen (Hatzipanagiotou et al., 1991).

Für gesunde Pferde werden Referenzwerte von bis zu 130 IU/l (Kraft und Dürr 2005), bzw. bis 150 IU/l (Grimminger-Heigl, 1993) angegeben. Die CK-Aktivität in Serum und Plasma ist gleich (Lindner, 1991). Es scheint eine gewisse Abhängigkeit von der Rasse zu bestehen, die aber das Signifikanzniveau nicht erreicht. So liegen durchschnittlich die Enzymwerte von Kaltblütern und besonders Ponies über denen von Warmblutpferden (Grimminger-Heigl, 1993). Das bestätigt auch Klingelhöfer (1998) für Isländer. Auch Munoz et al. (2002) stellen bei Andalusiern unter Belastung signifikant höhere Werte für CK, AST und LDH fest als bei Vergleichspferden der Rassen Araber und Anglo-Araber. Daher ist für Referenzwerte die Rasse von Bedeutung.

Schmidt und Schmidt (1980) finden nachmittags signifikant höhere CK-Werte als vormittags. Grimminger-Heigl (1993) kann bei ihren Probanden keinen Zusammenhang mit Alter, Geschlecht, Nutzung oder Fütterung nachweisen. Dagegen sehen Harris et al. in ihren Untersuchungen von 1990 und 1998 bei Stuten signifikant höhere CK-Werte als bei männlichen Pferden. Frauenfelder et al. (1986) stellen bei 2-jährigen Stuten deutliche Schwankungen der Serum-CK fest, die aber keinen Zusammenhang mit dem Zyklus aufweisen. Eine Altersabhängigkeit besteht anscheinend nur bei männlichen Tieren (Harris et al., 1998). CK korreliert häufig mit LDH und AST (Klingelhöfer, 1998).

Physiologischerweise steigt die Kreatinkinase durch anaerobe Arbeit an. Dies wird in unterschiedlichen Sparten des Pferdesports gleichermassen beobachtet, wie z.B. nach Distanzritten (Essen-Gustavsson et al., 1984; Marlin et al., 2002), Vielseitigkeitswettbewerben (Rose et al., 1980), Zugarbeit (Perez et al., 1996), einem Springparcours (Art et al., 1990) und sogar bereits nach 15 Minuten Longieren in allen drei Gangarten (Schmidt, 1979).

CK steigt im Blut erst mit Verzögerung an, die nach Volfinger et al. (1994) 5 Stunden betragen soll; das Maximum wird laut Klingelhöfer (1998) nach 6-12 Stunden erreicht. Darüber, wie lange es dauert, bis die CK ihren Ruhewert wieder erreicht hat,

differieren die Angaben zwischen 5 – 24 Stunden (Harris et al., 1998), 24 Stunden (Rose et al., 1983) und 3-4 Tagen (Klingelhöfer, 1998).

Dagegen kann Schmidt (1979) 12 Stunden nach einem Turnier keinen signifikanten Unterschied zum Ruhewert feststellen. Anscheinend beginnt die CK schon während der Arbeit zu steigen, da direkt nach einer länger dauernden Belastung wie einem Distanzritt (Marlin et al., 2002) oder 2 Minuten nach Beendigung eines Springparcours (Art et al., 1990) bereits eine Veränderung nachweisbar ist, und steigt dann aber auch in Ruhephasen noch weiter an (Williamson et al., 1996). Unmittelbar nach sehr kurzzeitiger Muskelarbeit kann bisweilen noch keine signifikante CK- Erhöhung gemessen werden, wie bei einem Trainingslauf von Traberjährlingen über 1700 m, der bei den Pferden einen deutlichen Anstieg von Laktat und LDH verursacht (Krzywanek et al., 1996). Auch Kallweit et al. (1996) können aufgrund des versuchsbedingten frühen Probenahmezeitpunkts aus den CK- Werten keinen Rückschluss auf den Trainingsfortschritt der Pferde ziehen. Die Höhe des Anstiegs der CK ist von der Intensität der Anstrengung abhängig. So stellen Williams et al. (2004) eine Erhöhung mit der Distanz fest und Rose et al. (1983) finden bei den schnellsten Pferden eines 160-km-Rittes höhere CK-Werte als bei langsameren Startern. Ebenso liegt CK im Vergleich zwischen den Teilnehmern zweier Vielseitigkeitsklassen unterschiedlichen Schwierigkeitsgrades bei den Pferden in dem anspruchsvolleren Wettbewerb höher (Andrews et al., 1995). Auch nach einer Trainingspause von einem oder mehreren Tagen fällt der CK- Anstieg höher aus (Perez et al., 1996; Frauenfelder et al., 1986).

Untrainierte Pferde zeigen nach Belastung höhere CK-Werte (Anderson, 1975). Nach Training steigt CK nicht mehr auf so hohe Spitzenwerte (Harris et al., 1998, Munoz et al., 2002). CK ist somit ein guter Indikator für die Fitness eines Pferdes (Perez, 1996).

Rueca et al. (1999) beobachten bei schnellen Pferden nach Arbeit bei normaler CK-Gesamtaktivität eine Verschiebung der Isoenzymverteilung in Richtung der CK-MM, was eventuell ein Anhaltspunkt zur Beurteilung des Potentials eines Pferdes sein könnte.

Ein Anstieg der CK nach Belastung deutet nicht unbedingt auf eine Muskelschädigung hin, da die Werte um die Erhöhung des Plasmavolumens korrigiert deutlich geringer ausfallen (Ihara et al., 2001). Nach den Berechnungen von Volfinger et al. (1994) entspricht die bei einem Distanzritt von 60 km mit 200

m/min freigesetzte CK- Menge nur ca. 18,8 g zerstörten Muskelgewebes, also kann man erst bei sehr hohen CK-Werten von über 10.000 IU/l von einer Myolyse sprechen.

Pathologische Erhöhungen der CK treten z. B. bei Muskeltrauma, Tetanus, Vitamin-E- Selenmangel und Lumbago auf (Kraft und Dürr, 2005).

2.11.1 CK im Speichel

Zur CK im Pferdespeichel liegt keine Literatur vor. Beim Menschen steigt die Speichel-CK durch Gingivitis. Da das menschliche Speicheldrüsensekret keine CK enthält, stammt die Speichel-CK anscheinend aus abgeschilferten Mundepithelzellen und Plasma, das durch kleine Zahnfleischblutungen in den Speichel gelangt (Petrovich et al., 1996).

2.11.2 Probenbehandlung

Miller et al. (1986) stellen bei CK aus menschlichem Muskelgewebe einen Aktivitätsverlust bei Lagerung über -70°C fest. Lindner (1991) untersucht CK in Vollblut und Plasma vom Pferd und findet bei Lagerung bei 22°C nur einen Aktivitätsverlust im Vollblut, während die Plasmaproben über 4 Tage stabil bleiben. Bei -18°C bleibt die CK-Aktivität im Plasma sogar über 10 Wochen konstant (Lindner, 1991).

2.12 Cortisol

Cortisol ist - wie auch Cortison und Corticosteron- ein Glucocorticoid, das zu den Steroidhormonen zählt. Die Glucocorticoide liegen bei den verschiedenen Tierarten in unterschiedlichen Anteilen vor; beim Pferd sind Cortisol mit rund 90 % und Corticosteron mit etwa 10 % vertreten (Lebelt, 1996). Sie werden in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde synthetisiert und leiten sich vom Cholesterin ab; Pregnenolon und Progesteron stellen Zwischenstufen auf dem Syntheseweg dar (Silbernagl, 1991; Stryer, 1991).

Glucocorticoide besitzen eine proteinkatabole Wirkung und fördern die Gluconeogenese aus Aminosäuren (Meinecke, 2000). Ausserdem verringern sie die Empfänglichkeit der Zellen für Insulin. Dadurch erhöht sich der Blutzuckerspiegel und, falls die zusätzliche Glucose nicht sofort in der Skelettmuskulatur verbraucht

wird, auch die Glykogenbildung in der Leber. Die lipolytische Wirkung der Katecholamine wird durch Glucocorticoide verstärkt (Schönreiter, 1996). Zusätzlich wirken sie mittels Stabilisierung der Lysomenmembran in den Leukozyten entzündungshemmend und durch verringerte Antikörperbildung und verminderte Zahl der Granulozyten im Blut immunsuppressiv (Meinecke, 2000; Bamberg, 1987). Beim Pferd werden von verschiedenen Autoren im Blut basale Cortisolspiegel von etwa 50-200 nmol/l (Irvine und Alexander, 1994), bzw. 30-120 nmol/l (Lebelt et al., 1996) oder 89-204 nmol/l (Van Heerden et al., 1990) gemessen.

Blackshaw und Blackshaw (1989) beobachten bei Sauen einen höheren Cortisolspiegel als bei Ebern, auch bei jungen Rindern zeigt sich in manchen Altersgruppen eine Geschlechtsabhängigkeit des Cortisols (Steinhardt und Thielscher, 2000). Guechot et al. (1982) finden bei Frauen tendenziell höhere Cortisolwerte als bei Männern.

Die Sekretion der Glucocorticoide wird durch das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) und das Corticotropin- Releasing- Hormon (CRH) geregelt (Silbernagl, 1991). Letzteres wird aus durch zentralnervöse Stimuli aus dem Hypothalamus ausgeschüttet und aktiviert in der Hypophyse die Freisetzung von ACTH ins Blut (Licht, 2000). ACTH stimuliert wiederum die Sekretion von Cortisol aus der Nebennierenrinde. Die ACTH- und CRH- Ausschüttung wird durch einen negativen Rückkopplungsmechanismus über den Cortisolspiegel geregelt. Eine stressbedingte Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark erhöht die Sekretion von ACTH und damit auch von Cortisol (Silbernagl, 1991).

Neben der Freisetzung von Cortisol als Antwort auf Reize folgt die Sekretion von Cortisol beim Menschen (Evans et al., 1984), beim Schwein (Bottoms et al., 1971) und beim Pferd (Lebelt, 1996) einem Tagesrhythmus mit Peak am frühen Morgen und Minimum kurz vor Mitternacht. Toutain et al. (1988) beobachten das Maximum gegen 9 Uhr und das Minimum gegen 21 Uhr. Dieser circadiane Rhythmus lässt sich beim Pferd auch für Corticosteron nachweisen (Bottoms et al., 1971) und besteht mit oder ohne Kontakt zu Menschen und deren Tagesablauf (Irvine und Alexander, 1994). Im Rahmen dieses Tagesrhythmus wird Cortisol pulsatil in beim Menschen etwa zwei- bis dreistündigen Episoden ausgeschüttet (Silbernagl, 1991). Beim Pferd treten pro Tag etwa zehn Sekretionsepisoden von 105 ± 21 Minuten Dauer auf (Toutain et al., 1988). Die Frequenz und Amplitude dieser Peaks nehmen im Bereich des Tagesmaximums am Morgen zu (Licht, 2000).

Sowohl bei menschlichen Cushing- Patienten (Evans et al., 1984) wie auch bei Cushing- Pferden (Lebelt et al., 1996) kann kein Cortisol- Tagesrhythmus nachgewiesen werden. Beim Pferd kann der Tagesrhythmus auch schon durch Irritationen wie z.B. Entfernen aus der gewohnten Umgebung so beeinflusst werden, dass er nicht mehr zu erkennen ist (Irvine und Alexander, 1994).

Cortisol ist im Plasma zu 67–87 % an Transcortin, auch bekannt unter corticosteroid binding protein (CBG) gebunden und zu 7-19 % an Albumin. 6-14 % liegen ungebunden vor (Licht, 2000). Nur dieses freie Cortisol stellt die biologisch wirksame Fraktion dar, der Rest ist eine Art Speicher, da das freie Cortisol im Gegensatz zum proteingebundenen relativ schnell in der Leber metabolisiert und schliesslich über die Niere ausgeschieden wird (Lebelt, 1996). Die Halbwertszeit für freies Cortisol im Blut beträgt etwa 90 Minuten (Schönreiter, 1996). Unter bestimmten Umständen schwankt die Transcortin- Konzentration im Blut, so steigt beim Menschen das CBG in der Schwangerschaft oder bei Einnahme von oralen Kontrazeptiva, was auch zu einer Erhöhung des Gesamtplasmacortisols führt, nicht jedoch des freien Cortisols (Evans et al., 1984). Alexander und Irvine (1998) konnten beim Pferd nach 3-4 Tagen sozialem Stress eine Verringerung der Konzentration oder der Cortisol-Bindungsfähigkeit von CBG beobachten, was eine Erhöhung des freien Cortisols, zum Teil bei unverändertem Gesamtcortisol, zur Folge hatte.

2.12.1 Cortisol im Speichel

Im Pferdespeichel existiert- wie auch beim Menschen (Stahl und Dorner, 1982; Evans et al., 1984) - ein deutlicher Cortisol- Tagesrhythmus mit Maximum am frühen Morgen und Minimum am Abend (Lebelt et al., 1996; Licht, 2000). Die basalen Cortisolspiegel erreichen etwa 3-5 % der Plasmawerte (Lebelt, 1996) und schwanken im Lauf des Tages zwischen $1,73 \pm 0,65$ nmol/l und $2,76 \pm 1,05$ nmol/l (Lebelt et al., 1996), bzw. $0,85 \pm 0,34$ nmol/l und $1,93 \pm 1,00$ nmol/l (Licht, 2000).

Die Diffusion des Cortisols in den Speichel erfolgt schnell (innerhalb von weniger als 5 Minuten) und ist unabhängig von der Speichelflussrate (Walker, 1989; Guechot et al., 1982, Vining et al., 1983). Der Anstieg des Speichelcortisols beginnt unmittelbar auf einen Reiz hin, kann sich aber noch bis zu einer Stunde fortsetzen bis das Maximum erreicht ist. Lebelt et al. (1996) stellen bei Hengsten einen signifikanten Anstieg des Speichelcortisols bis 55 Minuten nach einer Samenentnahme fest sowie eine Rückkehr der Werte zum Ausgangspunkt nach insgesamt 80 Minuten. Beim

Menschen wird die Halbwertszeit für Cortisol im Speichel mit 106-113 Minuten angegeben (Evans et al., 1984).

Zwischen dem Speichelcortisol und dem Gesamtcortisol in Serum oder Plasma können viele Autoren signifikante Korrelationen nachweisen, so z.B. Walker (1989) beim Menschen, Beerda et al. (1996) beim Hund, Steinhardt und Thielscher (2000) beim Rind und Lebelt et al. (1996) beim Pferd. Im Gegensatz dazu können Elsässer et al. (2001) beim Pferd sowie Huber (1996) und Blackshaw und Blackshaw (1989) beim Schwein keine Korrelation zwischen Plasma- und Speichelcortisol feststellen.

Da nur das nicht proteingebundene Cortisol durch die Drüsenzellen in den Speichel diffundieren kann (Vining und McGinley, 1987; Schönreiter, 1996), reflektiert das Speichelcortisol die freie Cortisolfraktion im Blut (Port, 1991). Vining et al. (1983) und Guechot et al. (1982) weisen beim Menschen eine gute Korrelation zwischen Speichelcortisol und freiem Serum- oder Plasmacortisol nach. Jedoch beträgt die Cortisolmenge im Speichel nur etwa 70 % des freien Cortisols im Plasma, was möglicherweise auf eine Umwandlung des Cortisols in Cortison durch das im Speichel enthaltene Enzym 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase zurückzuführen ist (Brooks und Brooks, 1984).

Chu und Ekins (1988) können im Gegensatz zu anderen Autoren (z.B. Vining und McGinley, 1987) auch im nicht mit Plasma verunreinigten menschlichen Speichel 0,1-0,2 % der Plasmakonzentration von CBG nachweisen. Wegen seines Molekulargewichtes von ca. 60.000 kann CBG jedoch nicht durch Diffusion in den Speichel gelangen, da die tight junctions der Speicheldrüsenzellen nur bis zu einem Molekulargewicht von etwa 300 durchlässig sind, daher besteht nur die Möglichkeit einer aktiven Sekretion oder einer Synthetisierung von CBG in den Speicheldrüsen (Chu und Ekins, 1988). Aufgrund der geringen Menge CBG wird dadurch das Speichelcortisol maximal um 10-15 % erhöht (Chu und Ekins, 1988) und bleibt trotzdem diagnostisch brauchbar. Neben der einfachen, nichtinvasiven und stressfreien Gewinnung der Speichelproben ist ein weiterer Vorteil der Cortisolbestimmung im Speichel die gute Differenzierungsmöglichkeit zwischen echtem Hypercortisolismus und einem CBG-Anstieg, z.B. durch Schwangerschaft (Evans et al., 1984).

2.12.2 Cortisolspiegel unter Stress und körperlicher Belastung

Beim Menschen steigt unter Stress das Speichelcortisol auf 157-230 % des Normalwertes (Stahl und Dorner, 1982). Licht (2000) misst bei Trabrennpferden unmittelbar nach einem Transport einen Speichelcortisolanstieg um 85 % auf $4,48 \pm 1,46$ nmol/l. Samenentnahme bei Hengsten verursacht einen Anstieg des Speichelcortisols um 190 % (Lebelt et al., 1996).

Neben psychischem Stress führt auch körperliche Belastung zu einem Cortisolanstieg (Snow und Rose, 1981). Alexander et al. (1991) messen bei trainierten Vollblütern nach Warm-Up im Trab und darauffolgenden 4-6 Minuten maximaler Belastung Blutcortisolwerte von $301,9 \pm 35,2$ nmol/l, im Vergleich zu Ruhewerten von $187 \pm 34,8$ nmol/l. Unter Umständen kann aber eine geringere Belastung am Vormittag das Serumcortisol nicht einmal über das Basalniveau vom Morgen anheben, da der Anstieg durch den Tagesrhythmus aufgehoben wird (Brandenberger und Follenius, 1975). Thornton (1985) kann beim Pferd erst ab einer Arbeitsintensität von 60 % VO_{2max} höhere Cortisolwerte feststellen. Beim Menschen sorgt schon eine Arbeitsintensität von 25 % VO_{2max} für eine Plasmacortisolreaktion (Brandenberger und Follenius, 1975). Anscheinend stehen Intensität und Dauer der Arbeit sowohl beim Menschen (Jacks et al., 2002) als auch beim Pferd (Thornton, 1985; Perez et al., 1996) in einem positiven Verhältnis zur Höhe des Cortisolspiegels. Im Vergleich der verschiedenen Reitsportdisziplinen zeigen Distanzpferde die höchsten und Springpferde die niedrigsten Cortisolwerte (Desmecht et al., 1996). Rose et al. (1983) finden bei den schnellsten Pferden eines Distanzrittes signifikant höhere Plasmacortisolwerte als bei weniger erfolgreichen Teilnehmern. Nagata et al. (1999) weisen eine Korrelation zwischen Arbeitsdauer und Plasmacortisol nach, während die Arbeitsintensität besser mit den Plasmakatecholaminen korreliert. Die Intensität der Arbeit alleine spielt offensichtlich für den Cortisolspiegel keine Rolle (Jimenez et al., 1998).

Unter Arbeitsbelastung zeigt sich eine deutliche Korrelation zwischen Herzfrequenz und Plasmacortisol (Covalesky et al., 1992), bzw. Speichelcortisol (Licht, 2000). Bei psychischem Stress steigt Cortisol im Vergleich zur Herzfrequenz viel stärker an (Licht, 2000).

Port (1991) stellt beim Menschen nach einem Stufentest auf dem Fahrradergometer eine Korrelation zwischen Cortisol und Laktat in Serum und Speichel fest. Für Pferde

können diese Beobachtung weder Covalesky et al. (1992) noch Jimenez et al. (1998) bestätigen.

Da die durch körperliche Belastung hervorgerufene ACTH- Ausschüttung bis in die Erholungsphase hineinreicht (Alexander et al., 1991), wird das Cortisolmaximum beim Pferd im Plasma erst 5 bis 30 Minuten nach Ende der Arbeit erreicht (Nagata et al., 1999). Brandenberger und Follenius (1975) weisen beim Menschen die maximalen Cortisolwerte im Plasma 30-60 Minuten nach Arbeitsbeginn nach, während Cook et al. (1987) 30 Minuten nach Ende eines Marathonlaufs die höchsten Speichelcortisolwerte messen.

Durch Training verringert sich beim Menschen die Cortisolreaktion auf Belastung nicht (Kirschbaum, 1991). Snow und Mackenzie (1977) beobachten bei Galopprennpferden nach Training sogar eine Tendenz zu höheren Cortisolwerten nach Belastung und zu einer schnelleren Rückkehr zum Ruhewert. Persson et al. (1980) finden bei trainierten Pferden höhere Ruhecortisolwerte.

Bei übertrainierten Pferden zeigen sich dagegen - neben Symptomen wie Leistungsabfall, geringerer V200, Gewichtsverlust und höheren Laktatwerten nach submaximaler Belastung - deutlich geringere Spitzencortisolwerte nach der Arbeit (Golland et al., 1999, Hamlin et al., 2002).

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Tiere

Die Studie wurde als Feldversuch am Schlossberg Neuschwanstein durchgeführt. Die Probanden waren 20 Pferde der Rasse Süddeutsches Kaltblut, davon 15 Stuten und 5 Wallache, im Alter von 5 bis 21 Jahren (Mittelwert $9,2 \pm 0,3$ Jahre; siehe Tabellen 1 und 2). Die Pferde wurden täglich als Kutschpferde eingesetzt und befanden sich im Besitz von vier gewerblichen Fuhrunternehmen. Sie waren in Ständern auf Stroheinstreu untergebracht. Auf das Haltungssystem konnte vom Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene kein Einfluss genommen werden. Gefüttert wurde Heu, Mineralfutter sowie als Kraftfutter hauptsächlich Quetschhafer, zusätzlich je nach Betrieb Grascobs, handelsübliches Pelletfutter oder Kleie und Zuckerrübenschnitzel. Selbsttränken standen zur Verfügung.

3.2 Versuchsaufbau

Die Arbeit der Pferde bestand im zweispännigen Ziehen einer baugleichen Kutsche auf einer Strecke von etwa 1,4 km über eine Höhendifferenz von 140 Höhenmetern und erfolgte im Schritt. Während des Versuchszeitraums (Winter) lag die Aussentemperatur zwischen -9°C und $+8^{\circ}\text{C}$. Die Steigung von durchschnittlich 10 % wurde von den Pferden bergauf in 15-20 Minuten und bergab in 12-15 Minuten bewältigt, wobei die Kutsche (Leergewicht ca. 500 kg) bergauf jeweils mit 14, bergab mit drei Personen besetzt war. Somit betrug die Gesamtzuglast für beide Pferde bergauf rund 1500 kg, bergab rund 700 kg. Zwischen Berg- und Talfahrt lag eine Erholungspause von 15 Minuten, während der die Pferde standen und teilweise getränkt wurden. Jedes Gespann fuhr die Strecke pro Tag ca. drei Mal. Die Probengewinnung erfolgte (abgesehen von den Werten nach Rückkehr zum Stall) am Vormittag zwischen 8.00 und 11.30 jeweils während der ersten Berg- und Talfahrt. Es wurden Blut und Speichel in Ruhe und unmittelbar nach der Arbeit, sowie in der Erholungsphase entnommen. Während der Arbeits- und Erholungszeiten wurde parallel die Herzfrequenz gemessen. Gegen 16:00 Uhr wurden die Pferde in den Stall gebracht. Die Tiere wurden jeweils morgens gegen

7:00 Uhr vor Beginn der Arbeit und nach Rückkehr in den Stall gefüttert. Während der Arbeit bestand keine Gelegenheit zur Futteraufnahme.

Tabelle 1: Auflistung der Kutschpferde nach Geschlecht und Alter

Nr	Pferd	Geschlecht	Alter	Stall-Nr.
1	Alfi	Wallach	8	4
2	Babsi	Stute	7	3
3	Conny	Stute	6	4
4	Diana	Stute	8	4
5	Dixi	Stute	10	3
6	Elvira	Stute	6	2
7	Fanny I	Stute	6	2
8	Fanny II	Stute	7	4
9	Hedi	Stute	10	4
10	Lady	Stute	7	2
11	Lotti	Stute	21	1
12	Maxi	Wallach	19	3
13	Moritz	Wallach	10	4
14	Nora I	Stute	5	2
15	Nora II	Stute	6	4
16	Petra	Stute	5	4
17	Ramsa	Stute	12	1
18	Sissi	Stute	13	3
19	Schorsch	Wallach	9	4
20	Wiggerl	Wallach	8	1

Tabelle 2 : Alterseinteilung der Pferde

Altersgruppe	Alter in Jahren	Anzahl der Pferde
1	5 - 6	n = 6
2	7 - 9	n = 7
3	10 - 13	n = 5
4	19 - 21	n = 2

3.3 Versuchsaufbau

Tabelle 3: Probenahmeplan

Probe Nr.	Abkürzung	Bedeutung	Blut	Speichel	Herz- frequenz
1	0	Basalwert, morgens im Stall	X	X	----
2	T ₁	vor der Fahrt	X	X	X
3	B	während der Fahrt	---	---	X
4	AB	sofort nach Ankunft	X	X	X
5	AB ₇	7 min nach Ankunft	X	---	X
6	AB ₁₅	15 min nach Ankunft	X	X	X
7	T ₂	sofort nach Talfahrt	---	X	---
8	S ₃₀	nach 30 min im Stall	X	X	---
9	S ₄₅	nach 45 min im Stall	---	X	---
10	S ₆₀	nach 60 min im Stall	X	X	---

Die Blut- und Speichelproben wurden nach dem obigen Schema (Tabelle 3) entnommen; siehe dazu auch Abbildung 3. Während der Arbeits- und Erholungsphase wurde zusätzlich die Herzfrequenz aufgezeichnet.

Probenzeitpunkt 1 (=0) stellt einen **Basalwert** morgens im Stall dar.

Probenzeitpunkt 2 (=T₁) liegt nach der Anfahrt vom Stall zum Startpunkt im **Tal**, also noch vor der Bergfahrt.

Probenzeitpunkt 3 (= **B**) liegt in der **Bergfahrt**. Daher wurden zu diesem Zeitpunkt keine Blut- und Speichelproben entnommen, sondern dieser Wert stellt einen Mittelwert der während der Bergfahrt gemessenen Herzfrequenzen dar.

Probenzeitpunkt 4 (= **AB**) wurde direkt nach der **Ankunft** oben am **Berg** genommen. Diese Probe ist ein Belastungswert,

Probenzeitpunkt 5 und 6 (= **AB₇** und **AB₁₅**) 7 und 15 Minuten nach **Ankunft** auf dem **Berg**, zeigen den Verlauf der Erholung.

Probenzeitpunkt 7 (= **T₂**) direkt nach der **Talfahrt** ist ebenfalls ein Erholungswert, da die Talfahrt für die Pferde vergleichsweise wenig anstrengend war. Hier erfolgte nur eine Speichelprobe, ebenso bei Wert 9.

Die Proben 8, 9 und 10 (= **S₃₀**, **S₄₅**, **S₆₀**) wurden nach Ende der Arbeitszeit des Pferdes, d.h. nach 3-4 Fahrten im **Stall** entnommen und sollen sowohl den Effekt der mehrfachen Belastung wie einer länger dauernden Erholungsphase zeigen.

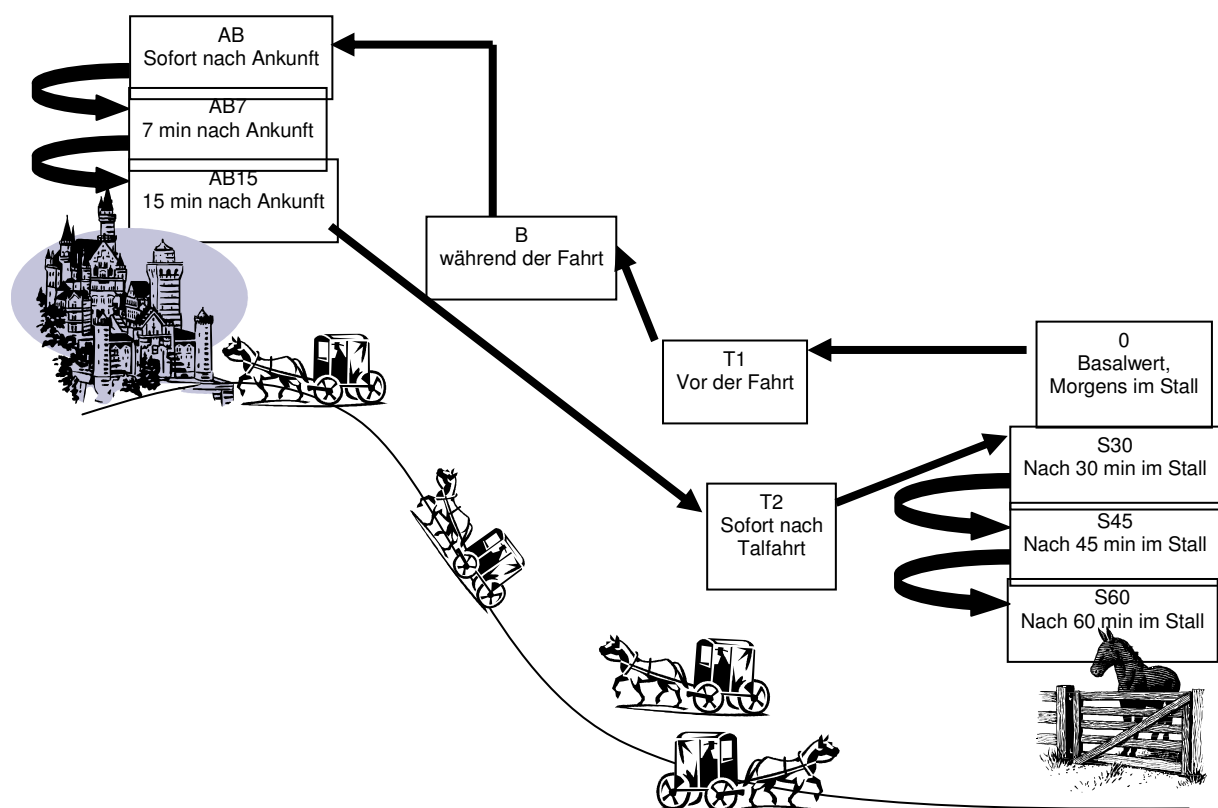


Abbildung 3: Zeitpunkte der Probenahmen

3.4 Probengewinnung

Die Blut- und Speichelproben wurden von zwei Personen gleichzeitig entnommen. Dabei handelte es sich immer um die zwei gleichen Personen.

3.4.1 Blutentnahme

Das Blut wurde durch Punktion der V. jugularis gewonnen und sofort jeweils in eine Serum- und eine Fluorid-Plasma-Monovette (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) abgefüllt.

Anschliessend wurden die Serum- und Plasmaproben 10 Minuten bei 3000 g zentrifugiert, der Überstand in 2 ml- Eppendorfgefässe (Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg) abpipettiert und die Proben auf Trockeneis bei -80°C eingefroren.

3.4.2 Speichelentnahme

Die Speichelproben wurden mit zwei Wattetupfern mit Polypropylen-Stiel (Fa. Hartmann, Heidenheim) je Probe entnommen, indem das Pferd etwa 10 Sekunden auf den beiden Tupfern kaute.

Dann wurden die Tupfer zusammen in eine 10 ml- Spritzenhülle (ohne Kolben) gesteckt und sofort bis zum späteren Abzentrifugieren auf Trockeneis eingefroren.

Im Labor wurden die Spritzenhüllen mit Tupfern, in einem passenden Plastikzentrifugenröhrchen steckend, auf Eis langsam aufgetaut und anschliessend bei 5422 g und 4°C 10 Minuten zentrifugiert (Varifuge 3.2 RS, Fa. Heraeus sepatech, Osterode). Der dadurch bereits grob gereinigte Speichel wurde dann in 2 ml Eppendorf-Reaktionsgefässe abpipettiert und bis zur Analyse bei -80°C eingefroren.

3.5 Herzfrequenzmessung

Die Herzfrequenz wurde von kurz vor Beginn der Arbeit bis zum Ende der Talfahrt aufgezeichnet (Messzeitpunkte 2-7, siehe Tabelle 3).

Zur Messung wurde der „Polar Horse Tester“ (Fa. Polar Electro, Kempele, Finnland) verwendet. Das System besteht aus zwei mit einem Sender verbundenen Elektroden, einem elastischen Gurt und einer Empfängeruhr.

Die Elektroden wurden links kurz hinter dem Ellbogen und seitlich etwa 40 cm unterhalb des Widerrists durch den elastischen Gurt gehalten. Um einen besseren Kontakt zu ermöglichen, waren sie mit einem dünnen Schwämmchen überzogen und

mit Wasser und Gleitgel befeuchtet. Der durch Kabel mit den Elektroden verbundene Sender wurde mit Klebeband am Gurt gesichert und die Empfängeruhr am Geschirr verschnallt.

Alle 15 Sekunden wurde die Herzfrequenz gemessen und von der Empfängeruhr aufgezeichnet. Anschliessend wurden die Daten über ein Interface (Polar Interface plus, Fa. Polar Electro, Kempele, Finnland) von der Uhr auf einen PC übertragen und in dem Programm Polar Training Advisor SW™ für Windows gespeichert.

Zur Auswertung der Herzfrequenzmesswerte und zum Vergleich mit den anderen Ergebnissen wurden Mittelwerte errechnet, die jeweils einem bestimmten Messzeitpunkt entsprechen.

Für die Messzeitpunkte T_1 , B, AB_7 , AB_{15} und T_2 wurde ein Mittelwert aus den 5 Minuten um den Probenahmezeitpunkt gemessenen Herzfrequenzen gebildet. Zum Messzeitpunkt AB, der den Übergang zwischen Arbeits- und Erholungsphase darstellt, wurde ein Mittelwert über 1 Minute unmittelbar nach Ankunft gebildet, da dieser das schnelle Abfallen der Herzfrequenz nach Ende der Arbeit besser beurteilen lässt.

3.6 Bestimmung von Laborparametern in Plasma, Serum und Speichel

Zur Bestimmung dieser Parameter wurde der Analysenautomat KONE specific 3.41 verwendet (Fa. Kone Instruments GmbH, Norderstedt). Die Funktionsweise des Gerätes basiert auf Photometrie. Zur Kalibration des Analysensystems diente KONE-Calibrator I (Fa. Kone Instruments GmbH, Norderstedt) Best.-Nr. 800 500, eine aus lyophilisiertem Rinderserum hergestellte Lösung.

3.6.1 Laktat in Plasma und Speichel

Für die Bestimmung von Laktat wurde 40 µl Probenmaterial mit 500 µl 0,165 molarer Perchlorsäure enteiwesst und 10 Minuten bei 12400 g zentrifugiert (Biofuge 17RS, Haereus, Osterode). Vom Überstand wurden zweimal 100 µl zur Analyse verwendet (Doppelansatz).

Im Analysenautomaten wurden die Proben mit der Reaktionslösung KONE Laktat-Kit (Fa. Kone, Norderstedt) Best-Nr. 132 010 gemischt, 10 Minuten bei 37°C inkubiert und bei einer Wellenlänge von 546 nm gegen den Reagenzienleerwert gemessen.

Es wurde eine nichtlineare Standardkurve mit Laktatgehalt 0 / 0,5 / 1 / 1,5 / 2 und 3 mmol/l verwendet.

Testprinzip:

Spaltung von Laktat mit Hilfe von Lactatoxidase in Pyruvat und H_2O_2 , welches – katalysiert durch Peroxidase – mit 4-Aminoantipyrin und Phenol zu einem roten Chinominin-Komplex reagiert. Die Farbintensität ist proportional zum Laktatgehalt der Probe.

Präzision und Wiederfindung:

Zur Bestimmung von Präzision (siehe Tabelle 4) und Wiederfindung (siehe Tabelle 5) wurden ein Plasma- und ein Speichelpool verwendet. Diese wurden jeweils 5-fach nativ gemessen, auf 75 %, 50 % und 25 % verdünnt sowie mit 0,5 mmol/l, 1 mmol/l und 2 mmol/l Laktat aufgestockt.

Tabelle 4: Variabilitätskoeffizienten Laktat

	Plasma	Speichel
Pool	5,2 %	2,3 %
75 %	4,3 %	1,3 %
50 %	7,8 %	5,3 %
25 %	11 %	8,6 %
+ 0,5 mmol/l	4,7 %	6,5 %
+ 1 mmol/l	1,9 %	1,9 %
+ 2 mmol/l	2,9 %	2,2 %

Tabelle 5: Wiederfindung Laktat

	Plasma	Speichel
75 %	97,7 %	111 %
50 %	96,5 %	119 %
25 %	141,4 %	147 %
+ 0,5 mmol/l	95,1 %	89,7 %
+ 1 mmol/l	92,5 %	84,3 %
+ 2 mmol/l	95,2 %	77 %

3.6.2 Glucose in Plasma und Speichel

Die Proben wurden langsam auf Eis aufgetaut, gemischt und je Probe 2mal 50 µl Plasma (Doppelansatz) verwendet. Im Gerät wurden automatisch Probe und Reaktionslösung (Kone-Testkit für Glucose nach der Hexokinase-Methode, Best-Nr. 981 304N) gemischt und die Extinktion bei 365 nm photometrisch bestimmt. Zur Glucose- Bestimmung genügt ein Standard mit 100 mg/ dl.

Testprinzip:

Glucose wird durch Hexokinase und ATP zu Glucose-6-Phosphat phosphoryliert. Dieses reagiert unter Katalyse von G-6-P-DH mit NAD zu 6-Phosphogluconat und NADH, welches die Messgrösse darstellt.

Präzision und Wiederfindung:

Zur Bestimmung von Präzision (siehe Tabelle 6) und Wiederfindung (siehe Tabelle 7) wurden ein Plasma- und ein Speichelpool verwendet. Dieser wurde jeweils fünffach nativ gemessen, auf 75 %, 50 % und 25 % verdünnt sowie mit 10 mg/dl, 20 mg/dl, 30 mg/dl und 40 mg/dl Glucose aufgestockt.

Tabelle 6: Variabilitätskoeffizienten Glucose

	Plasma	Speichel
Pool	2,7 %	1,4 %
75 %	2,0 %	0,2 %
50 %	0,8 %	0,6 %
25 %	3,2 %	0,4 %
+ 10 mg/dl	1,7 %	1,2 %
+ 20 mg/dl	5,2 %	0,9 %
+ 30 mg/dl	6,4 %	2,7 %
+ 40 mg/dl	3,4 %	2,6 %

Tabelle 7: Wiederfindung Glucose

	Plasma	Speichel
75 %	99 %	99,5 %
50 %	96,3 %	89,8 %
25 %	92,7 %	90,8 %
+ 10 mg/dl	95,5 %	94,7 %
+ 20 mg/dl	92,3 %	95,9 %
+ 30 mg/dl	95 %	94,5 %
+ 40 mg/dl	97 %	94,7 %

3.6.3 Laktatdehydrogenase (LDH) in Plasma und Speichel

Die Proben wurden langsam auf Eis aufgetaut, mit dem Vortex® gemischt und jeweils 2mal 50 µl Plasma (Doppelansatz) verwendet. Im Gerät wurden Probe und Reagenz (KONE- Testkit für LDH, Best.-Nr. 980 704) gemischt und eine Minute bei 37°C inkubiert. Dann wurde bei 365 nm die Extinktion gemessen und dreimal im Abstand von einer Minute die Extinktionsabnahme bestimmt. Der Mittelwert aus den Extinktionsänderungen pro Minute wurde in die Berechnungsformel eingesetzt: Enzymaktivität = ($\Delta E / \text{min}$) \times F. Der Faktor F beträgt für die Einheit U/l 7647.

Ein Standard ist für Enzymbestimmungen nicht vorgesehen, es existiert für die jeweilige Wellenlänge der Messung ein Berechnungsfaktor. Zur Kontrolle diente KONE-Norm, eine Kontrolle auf Humanserumbasis (Fa. Kone Instruments GmbH, Norderstedt), Best.-Nr. KN 100A.

Testprinzip :

Die Laktatdehydrogenase (LDH) katalysiert die Reduktion von Pyruvat durch NADH zu Laktat:



Die Aktivität der LDH ergibt sich aus der Abnahme der Extinktion.

Präzision und Wiederfindung:

Zur Bestimmung von Präzision (siehe Tabelle 8) und Wiederfindung (siehe Tabelle 9) wurden ein Plasma- und ein Speichelpool verwendet. Diese wurden jeweils 5-fach nativ gemessen und auf 75 %, 50 % und 25 % verdünnt. Ein Spiking war nicht möglich, da es sich um einen Enzymtest handelt.

Tabelle 8: Variabilitätskoeffizienten LDH

	Plasma	Speichel
Pool	7,0 %	2,4 %
75 %	5,9 %	2,9 %
50 %	4,4 %	2,0 %
25 %	3,7 %	3,4 %

Tabelle 9: Wiederfindung LDH

	Plasma	Speichel
75 %	88,6 %	95,1 %
50 %	87,5 %	93,2 %
25 %	86,1 %	82,6 %

3.6.4 Kreatinin in Serum und Speichel

Die Proben wurden langsam auf Eis aufgetaut, mit dem Vortex® gemischt und je Probe zweimal 50 µl Serum (Doppelansatz) verwendet.

Der Analysenautomat mass bei 509 nm die Extinktion der farbigen Lösung, welche aus der Probe und der Reaktionslösung KONE Kreatinin – Testkit, Best-Nr. 981 374, entsteht und berechnete anhand des Standards (Kreatinin- Lösung mit 1 mg/dl) den Kreatiningehalt.

Testprinzip:

Das Testprinzip basiert auf der Jaffé-Methode, bei der Kreatinin in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure einen farbigen Komplex bildet.

Präzision und Wiederfindung:

Zur Bestimmung von Präzision (siehe Tabellen 10 und 11) und Wiederfindung (siehe Tabellen 12 und 13) wurden ein Serum- und ein Speichelpool verwendet. Diese wurden jeweils 5-fach nativ gemessen, auf 75 %, 50 % und 25 % verdünnt sowie mit 0,5 mg/dl, 1 mg/dl und 1,5 mg/dl Kreatinin für Serum und mit 0,25 mg/dl, 0,5 mg/dl und 1 mg/dl für Speichel aufgestockt.

Tabelle 10: Variabilitätskoeffizienten Kreatinin im Serum

	Serum
Pool	12,2 %
75 %	1,3 %
50 %	1,7 %
25 %	3,5 %
+ 0,5 mg/dl	3,3 %
+ 1 mg/dl	0,7 %
+ 1,5 mg/dl	0,6 %

Tabelle 11: Variabilitätskoeffizienten Kreatinin im Speichel

	Speichel
Pool	2,5 %
75 %	3,9 %
50 %	4,9 %
25 %	11,9 %
+ 0,25 mg/dl	1,2 %
+ 0,5 mg/dl	2,2 %
+ 1,0 mg/dl	0,9 %

Tabelle 12: Wiederfindung Kreatinin im Serum

75 %	110,7 %
50 %	111,3 %
25 %	117,0 %
+ 0,5 mg/dl	95,5 %
+ 1 mg /dl	92,2 %
+ 1,5 mg/dl	93,4 %

Tabelle 13: Wiederfindung Kreatinin im Speichel

75 %	108,3 %
50 %	100,0 %
25 %	112,5 %
+ 0,25 mg/dl	94,7 %
+ 0,5 mg /dl	97,6 %
+ 1,0 mg/dl	92,4 %

3.6.5 Harnstoff in Serum und Speichel:

Die Proben wurden langsam auf Eis aufgetaut, mit dem Vortex® gemischt und je Probe 2 × 50 µl Serum (Doppelansatz) verwendet. Im Gerät wurden bei 37°C Probe und Reaktionslösung (KONE Harnstoff - Testkit Best-Nr. 981 012) gemischt. Bei 334 nm Wellenlänge wurde die Extinktion nach 30 und 90 Sekunden gemessen. Die Differenz der Extinktionen der Probe dividiert durch die Differenz der Extinktionen des Standards ergibt, multipliziert mit der Konzentration des Standards, die Harnstoffkonzentration der Probe. Es wurde eine Eichgerade mit zwei Standards verwendet, 20 mg/dl und 30 mg/dl.

Testprinzip:

Hier handelt es sich um einen vollenzymatischen UV-Test.

Urease katalysiert die Reaktion $\text{Harnstoff} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow 2 \text{NH}_3 + \text{CO}_2$

In Anwesenheit von GLDH läuft folgende Reaktion ab:

$2\text{-Oxoglutarat} + \text{NH}_3 + \text{NADH} \leftrightarrow \text{L-Glutamat} + \text{NAD} + \text{H}_2\text{O}$

Es wird die Extinktionsabnahme durch Verringerung der NADH-Menge gemessen.

Präzision und Wiederfindung:

Zur Bestimmung von Präzision (siehe Tabelle 14) und Wiederfindung (siehe Tabelle 15) wurden ein Serum- und ein Speichelpool verwendet. Dieser wurde jeweils fünffach nativ gemessen, auf 75 %, 50 % und 25 % verdünnt sowie mit 10 mg/dl, 20 mg/dl, 30 mg/dl Harnstoff aufgestockt.

Tabelle 14: Variabilitätskoeffizienten Harnstoff

	Serum	Speichel
Pool	2,4 %	2,9 %
75 %	0,4 %	2,3 %
50 %	1,5 %	3,1 %
25 %	3,5 %	2,3 %
+ 10 mg/dl	1,3 %	3,5 %
+ 20 mg/dl	2,3 %	4,5 %
+ 30 mg/dl	2,0 %	2,2 %

Tabelle 15: Wiederfindung Harnstoff

	Serum	Speichel
75 %	102 %	86,9 %
50 %	113,9 %	126,8 %
25 %	123,6 %	71,4 %
+ 10 mg/dl	95,8 %	100 %
+ 20 mg/dl	94,3 %	97,2 %
+ 30 mg/dl	93 %	104,2 %

3.6.6 Kreatinkinase (CK) in Serum und Speichel

Die Proben wurden langsam auf Eis aufgetaut, mit dem Vortex® gemischt und je Probe 2 × 50 µl Serum (Doppelansatz) verwendet. Die Probe wurde mit Reaktionslösung gemischt (KONE CK-NAC-Kit Best.-Nr. 980 487), 3 Minuten bei 37°C inkubiert und dann 3 Minuten lang jede Minute bei 365 nm gemessen. Der Mittelwert aus den Extinktionsänderungen pro Minute wurde in die Berechnungsformel eingesetzt.

$$\text{Enzymaktivität} = (\Delta E/\text{min}) \times F$$

Der Faktor F beträgt für 365 nm und die Einheit U/l 7429.

Ein Standard ist für Enzymbestimmungen nicht vorgesehen, es existiert für die jeweilige Wellenlänge der Messung ein Berechnungsfaktor. Zur Kontrolle diente KONE-Norm, eine Lösung auf Humanserumbasis (Fa. Kone Instruments GmbH, Norderstedt), Best.-Nr. KN 100A.

Testprinzip:

Creatinphosphat + ADP ↔ Creatin + ATP (katalysiert durch CK)

Glucose + ATP ↔ Glucose-6-P + ADP (katalysiert durch Hexokinase)

Glucose-6-P + NADP⁺ ↔ Gluconat-6-P + NADPH + H⁺ (katalysiert durch Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase)

Präzision und Wiederfindung:

Zur Bestimmung von Präzision (siehe Tabelle 16) und Wiederfindung (siehe Tabelle 17) wurden ein Serum- und ein Speichelpool verwendet. Diese wurden jeweils 5-fach nativ gemessen und auf 75 %, 50 % und 25 % verdünnt. Ein Spiking war nicht möglich, da es sich um einen Enzymtest handelt.

Im Speichel sind die CK-Werte so gering, dass sie am untersten Rand der Nachweisgrenze des Analysenautomaten liegen und daher vor allem in der Verdünnung ungenau werden.

Tabelle 16: Variabilitätskoeffizienten CK

	Serum	Speichel
Pool	3,9 %	0,9 %
75 %	2,0 %	0,7 %
50 %	1,7 %	0,7 %
25 %	0,8 %	0 %

Tabelle 17: Wiederfindung CK

	Serum	Speichel
75 %	97,5 %	293,3 %
50 %	104,2 %	360 %
25 %	103 %	400 %

3.7 Cortisol in Serum und Speichel

3.7.1 Versuchsvorbereitung

Probenaufbereitung:

Die Proben wurden auf Eis aufgetaut, nach Fällung mit Ethanol 10 Minuten bei 4 °C mit 12400 g zentrifugiert und im Doppelansatz in Micronic tubes (Fa. Micronic, Lelystad, Niederlande) bei 37 °C durch Stickstoffbegasung getrocknet. Die Micronic tubes wurden verschlossen und bis zum RIA- Ansatz bei –20 °C gelagert.

Herstellung von Qualitätskontrollen (QC)

Zur Überprüfung von Präzision und Wiederfindung wurden QCs aus einem Serum-, bzw. Speichelpool verschiedener Pferde nach dem bei der Probenaufbereitung beschriebenen Verfahren vorbereitet. Es wurde eine 0-Reihe (nur Pool), eine mit 32

pg und eine mit 64 pg Cortisol (Hydrocortison der Fa. Sigma, Deisenhofen, BRD in 99 % Methanol der Fa. BDH, Poole, UK) aufgestockte Reihe hergestellt, getrocknet und eingefroren.

Herstellung der Eichkurve:

Es wurden 10 Standards mit einer Cortisolmenge von 0, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 und 1024 pg/50µl hergestellt, getrocknet und eingefroren.

3.7.2 Radioimmunoassay

Der Cortisolnachweis per RIA basiert auf der Konkurrenz von nativem Cortisol in der Probe und radioaktiv markiertem Cortisol im „Tracer“ um die Bindungsstellen an Antikörpern gegen Cortisol. Mit einem präzipitierenden Antikörper gegen den Cortisol-AK-Komplex wird eine Fällung erreicht, so dass der Überstand mit dem ungebundenen radioaktiven Cortisol abgesaugt werden kann. Die im Präzipitat gemessene Aktivität lässt eine Berechnung des Cortisolgehalts der Probe zu, also je mehr Cortisol in der Probe, desto weniger Counts.

Material für den RIA:

1.) Puffer: 0,05 M Phosphatpuffer mit pH 7,4

2.) Antiserum: Fa. Steranti, St. Albans, Hertshire, UK

3.) Tracer/ Radioaktiv markiertes Cortisol:

[¹²⁵ I]- markiertes Cortisol, gelöst in 9:1 Methanol/ Wasser, (Fa. Amersham, Buckinghamshire, UK), mit Puffer bis zu einer Aktivität von 10.000 –12.000 cpm/100 µl verdünnt.

4.) Präzipitierender Antikörper: SacCell Anti Rabbit (Fa. IDS, Boldon, UK)

Durchführung des RIA

Ausser den zu messenden Proben (Doppelansatz) wurden noch folgende Werte mitbestimmt:

2 × TC = total count (100 µl Tracer) zur Bestimmung der Gesamtaktivität

2 × NSB = non specific binding , unspezifische Bindung, Puffer statt Antiserum

3 × TB = total binding, vollständige Bindung des Tracers, kein Probenmaterial, sollte Std 0 entsprechen

Standardkurve : je 3 × Std 0, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024

Qualitätskontrollen: je 2 × QC 0, 32, 64

Sofern nicht anders vermerkt, wurde grundsätzlich auf Eis gearbeitet und die Proben wurden nach jedem Pipettierschritt gemischt. Zunächst wurden die Proben mit Puffer rückgelöst, mit Antiserum versetzt und in einem verschlossenen Plastikbeutel bei hoher Luftfeuchtigkeit und Raumtemperatur genau 4 Stunden inkubiert.

Danach wurde der Tracer zugesetzt. Nach Mischen wurden die Probenracks wieder in einer Plastiktüte bei hoher Luftfeuchtigkeit 17-20 Stunden im Kühlschrank bei 4 °C inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Proben mit präzipitierendem Antikörper gemischt und eine Stunde bei Raumtemperatur im Plastikbeutel inkubiert. Anschliessend wurden alle Racks auf einmal bei 3000 g und 4 °C für 10 Minuten zentrifugiert. Danach wurde der Überstand abgesaugt und die Radioaktivität des verbleibenden Pellets im Gamma-Counter (1470 WIZARD™, Wallac, Turku, Finnland) gemessen.

Der Cortisolgehalt der Probenröhrchen wurde von der zum Gamma-Counter gehörigen Software (MultiCalc 2.6, Wallac, Turku, Finnland) anhand der bekannten Werte der Eichkurve berechnet. Die Berechnung der tatsächlichen Cortisolkonzentration der Proben erfolgte durch Umrechnung des Counter-Ergebnisses (pg Cortisol/tube) in ng/ml, bei Serum durch Multiplikation mit 0,25, bei Speichel mit 0,05. Der Umrechnungsfaktor von der Einheit ng/ml in nmol/l beträgt 2,76.

Präzision und Wiederfindung:

Der Intraassay-Variabilitätskoeffizient wurde durch Messung eines Serum- und Speichelpools im zehnfachen Doppelansatz bestimmt. Der Pool stammte jeweils von 6 Pferden. Zusätzlich wurden Serum- und Speichelpool jeweils mit 32 pg, bzw. 64 pg Cortisol pro Röhrchen aufgestockt und davon je 10 doppelt angesetzte Proben gemessen.

Die Präzision war bei den höheren Messwerten deutlich besser als bei den niedrigeren Konzentrationen (siehe Tabelle 18).

Zur Überprüfung der Wiederfindung dienten ebenfalls die mit 32 pg und 64 pg Cortisol aufgestockten Proben im Vergleich zum Messwert des Pools (siehe Tabelle 19).

Tabelle 18: Variabilitätskoeffizienten Cortisol

	Serum	Speichel
Pool	11,4 %	39,5 %
+32 pg	12,8 %	11,5 %
+64 pg	7,6 %	10,8 %

Tabelle 19: Wiederfindung Cortisol

	Serum	Speichel
+ 32 pg	94,5 %	109,6 %
+ 64 pg	87,3 %	93,8 %

3.8 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe der Programme Sigma Stat 3.0 und SAS 6.12. Aus den Messwerten der einzelnen Pferde wurden arithmetischer Mittelwert, SD und SEM berechnet. In den Diagrammen sind jeweils Mittelwert und SEM angegeben. Um zu beurteilen, ob sich Werte im Verlauf der Probennahme verändern, wurde ein Repeated Measurement ANOVA verwendet, zur Feststellung von Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern die Pearson-Korrelation, bzw. die lineare Regression, auch zur Differenzierung der Signifikanz zu verschiedenen Messzeitpunkten. Als signifikant wurde jeweils eine Irrtumswahrscheinlichkeit p von 0,05 angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Zusammenhang der Parameter mit Messzeitpunkt und Arbeit und Korrelation derselben Parameter in Blut und Speichel

4.1.1 Herzfrequenz

Die gemessenen Herzfrequenzen stiegen vom Ruhewert am Startpunkt (T_1) mit durchschnittlich 38 bpm signifikant ($p < 0,001$) auf mittlere 122 Herzschläge pro Minute während der Fahrt (B) an. Zwischen den für die Fahrt errechneten Durchschnittswerten (siehe 3.5 Herzfrequenzmessung) der einzelnen Tiere besteht eine Schwankungsbreite von 100-143 bpm. Der höchste gemessene Einzelwert war 155 bpm. Während die Pferde am Zielpunkt standen, fiel die Herzfrequenz kontinuierlich signifikant ab. Dies begann bereits im Moment des Stehenbleibens (AB) und setzte sich über die Messzeitpunkte 7 bzw. 15 Minuten nach Ankunft (AB_7 und AB_{15}) fort. Der letzte Messwert 15 Minuten nach Ankunft (AB_{15}) unterschied sich jedoch noch signifikant ($p < 0,001$) vom Ruhewert.

Der Verlauf der Herzfrequenz über die Messzeitpunkte ist aus Tabelle 20 und Abbildung 4 ersichtlich.

In der Altersgruppe der 19- bis 21-jährigen Pferde fiel die Herzfrequenz nach dem Stehenbleiben langsamer ab, so dass die Unterschiede zwischen B und AB, AB und AB_7 sowie AB_7 und AB_{15} nicht signifikant waren. Der Verlauf der Herzfrequenzen in den anderen Altersgruppen entsprach dem in der gesamten Stichprobe ($n=20$; siehe Tabelle 20).

Tabelle 20: Herzfrequenzen

vor Beginn der Bergfahrt, während der Fahrt und 0, 7 und 15 Minuten nach der Fahrt mit Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes zum Messwert davor. Zu den Bezeichnungen der Messzeitpunkte siehe Tabelle 3.

Messzeitpunkt	n	Mittelwert	SEM	min	max	p
T_1	20	38	1,4	31	56	
B	20	122	2,2	100	143	<0,001
AB	20	93	2,5	70	119	<0,001
AB_7	20	55	1,9	46	70	<0,001
AB_{15}	20	46	1,8	38	65	<0,001

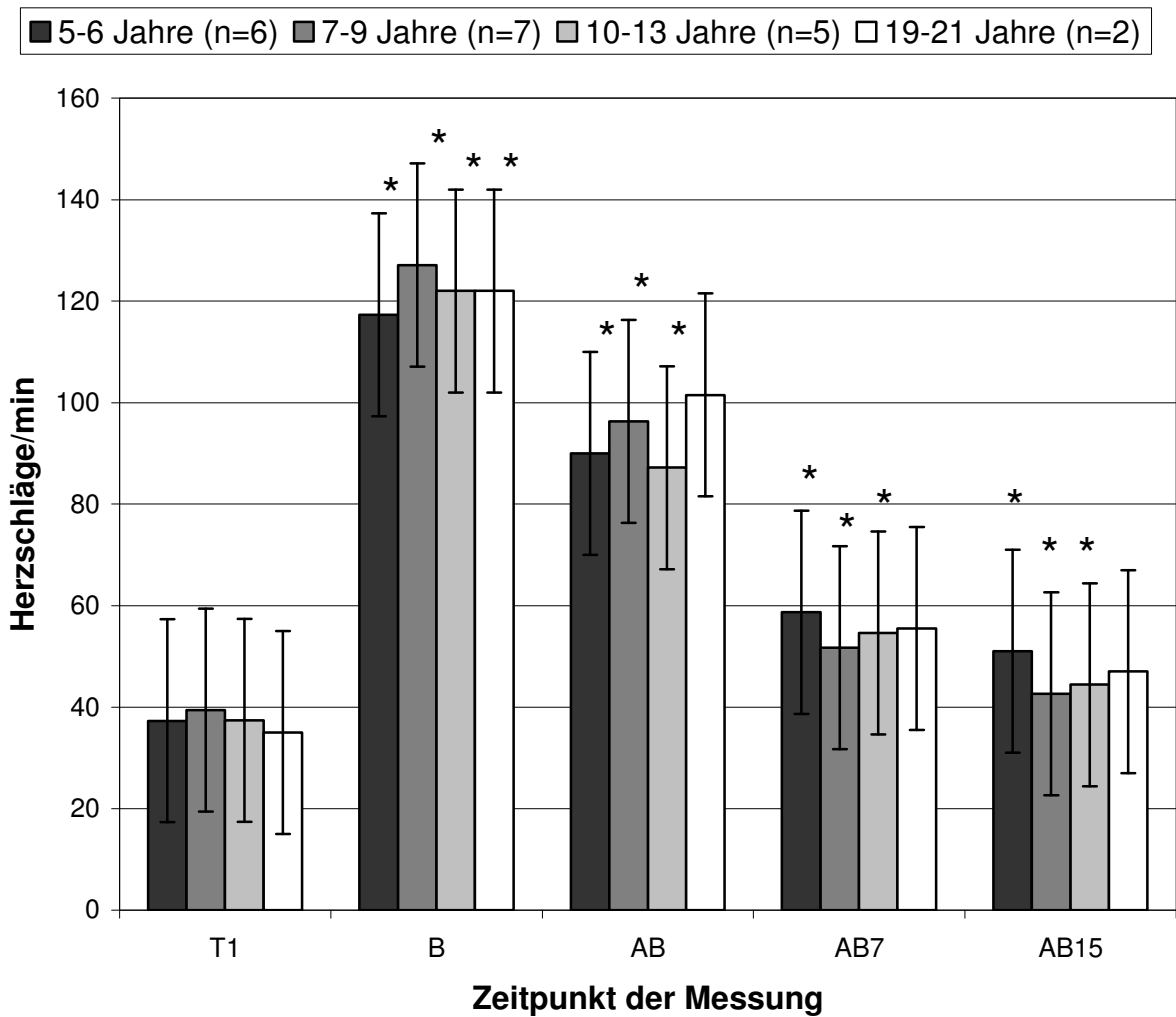


Abbildung 4: Herzfrequenzen nach Altersgruppe (siehe Tabelle 2)
 vor Beginn der Bergfahrt, während der Fahrt und 0, 7 und 15 Minuten nach der Fahrt
 (n=20 Pferde)
 * = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

4.1.2 Laktat

Plasma:

Die Laktatwerte im Plasma lagen während des Versuchs im Mittel zwischen 0,95 und 1,5 mmol/l. Am höchsten waren dabei die Ruhewerte morgens ($1,36 \pm 0,06$ mmol/l SEM) und nachmittags im Stall, wobei der Morgenwert (0) ziemlich genau dem Nachmittagswert 30 Minuten nach Rückkehr zum Stall (S_{30}) entsprach (siehe Abbildung 5). Der Laktatspiegel im Plasma stieg vom ersten Nachmittagswert (S_{30})

($1,35 \pm 0,08$ mmol/l) zum zweiten (S_{60}) ($1,55 \pm 0,1$ mmol/l) noch einmal signifikant an ($p=0,016$). Am niedrigsten war der Wert unten vor Beginn der Fahrt (T_1) mit $0,95 \pm 0,06$ mmol/l. Während der Arbeit stiegen die Laktatwerte an. Es ergab sich jedoch erst bei dem Messwert AB_{15} (15 Minuten nach Ankunft am Berg) mit $1,19$ mmol/l $\pm 0,09$ ein signifikanter Unterschied zum Wert T_1 vor Fahrtbeginn ($p=0,003$). Zum Verlauf des Plasmalaktats siehe Abbildung 5.

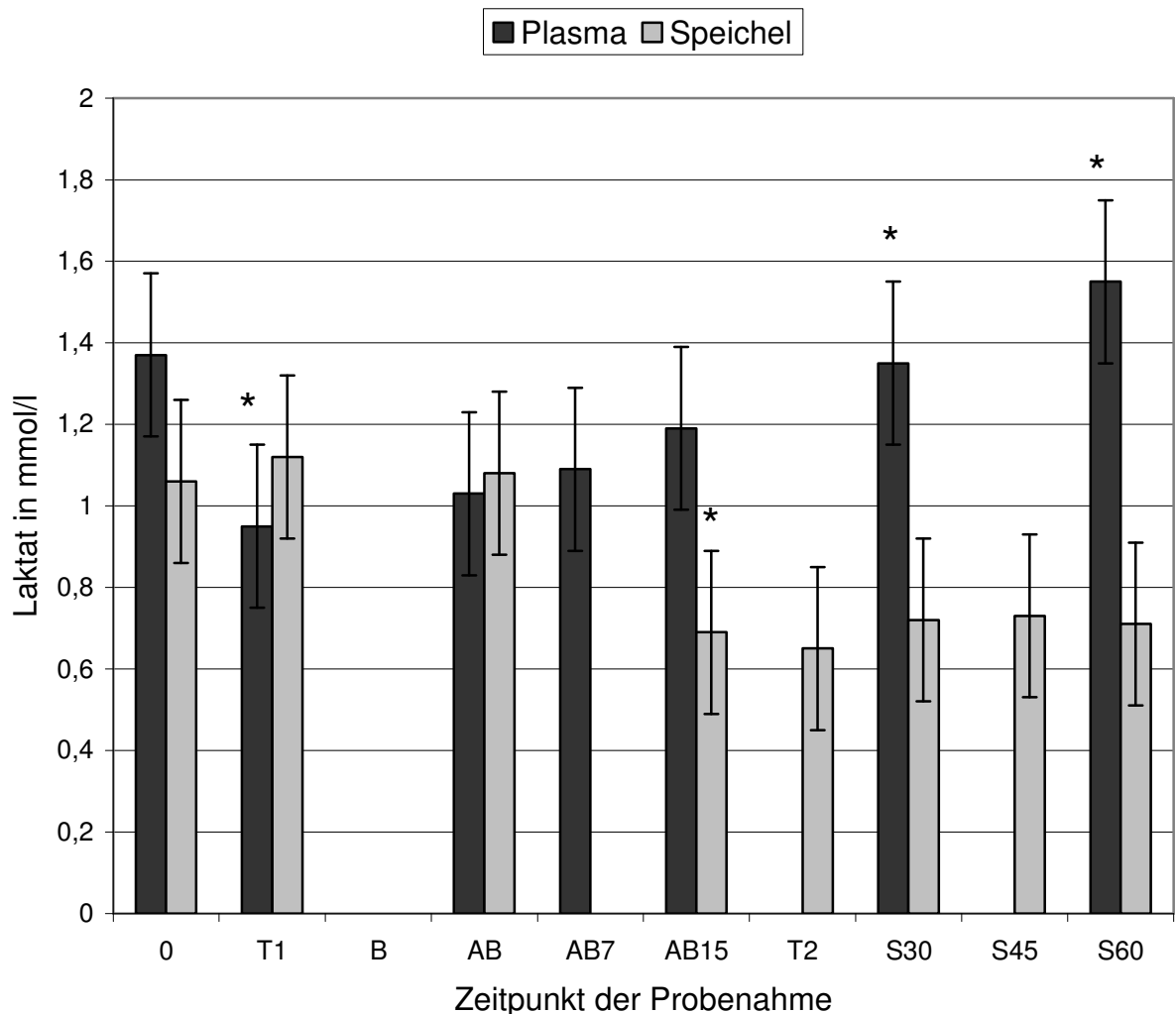


Abbildung 5: Laktatkonzentrationen in Plasma und Speichel in mmol/l
in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme ($n = 20$ Pferde)
* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

Speichel:

Im Speichel wurden mittlere Laktatkonzentrationen zwischen $0,65$ und $1,21$ mmol/l gemessen. Zwischen einigen der Messwerten bestanden zwar signifikante Unterschiede ($p=0,02$), es liess sich aber kein gerichteter Kurvenverlauf feststellen.

Der höchste Messwert war mit $1,12 \text{ mmol/l} \pm 0,21$ der Wert unten vor Beginn der Fahrt (T_1), welcher im Plasma am niedrigsten ist. Zum Verlauf des Speichellaktats siehe Abbildung 5.

Korrelation zwischen Plasma- und Speichellaktat

Insgesamt zeigen die Laktatwerte in Plasma und Speichel eine geringe tendentielle Korrelation ($p=0,076$; $r=0,168$). Bei Einzelbetrachtung der Zeiten besteht immerhin bei den Nachmittagswerten im Stall S_{30} ($p= 0,025$; $r= 0,525$) und S_{60} ($p<0,001$; $r=0,741$) sowie dem Wert 15 Minuten nach Ankunft am Berg (AB_{15}) ($p=0,004$; $r= 0,617$) ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen Blut und Speichel.

Vergleicht man die Speichelwerte mit dem jeweils vorangegangenen Blutwert, so ergeben sich signifikante Korrelationen zwischen Wert 0 im Blut und T_1 im Speichel ($p=0,024$; $r=0,514$), T_1 im Blut und AB im Speichel ($p=0,039$; $r= 0,478$), AB im Blut und AB_{15} im Speichel ($p=0,032$; $r=0,481$), S_{30} im Blut und S_{60} im Speichel ($p= 0,022$; $r=0,55$) sowie eine Tendenz zu einem positiven Zusammenhang von AB_{15} im Blut und T_2 im Speichel ($p= 0,069$; $r=0,415$). Dies legt die Vermutung nahe, dass Laktat mit einer Verzögerung von etwa 15 bis 20 Minuten in den Speichel abgegeben wird (siehe dazu Tabelle 21).

Tabelle 21: Korrelationen zwischen Plasma-und Speichellaktat

Plasma ▼	Speichel►	0	T ₁	AB	AB ₁₅	T ₂	S ₃₀	S ₄₅	S ₆₀
0		n.s.	p=0,024 r=0,514	n.s.	T+	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
T ₁		----	n.s.	p=0,039 r=0,478	p=0,004 r=0,628	n.s.	T+	n.s.	n.s.
AB		----	-----	n.s.	p=0,032 r=0,481	p=0,033 r=0,478	n.s.	n.s.	n.s.
AB ₇		----	-----	-----	p=0,019 r=0,518	p=0,004 r=0,614	n.s.	n.s.	p=0,037 r=0,517
AB ₁₅		----	-----	-----	p=0,004 r=0,617	T+	n.s.	n.s.	p=0,044 r=0,494
S ₃₀		----	-----	-----	-----	-----	p=0,025 r=0,525	n.s.	p=0,022 r=0,550
S ₆₀		----	-----	-----	-----	-----	-----	----	p<0,001 r=0,741

Signifikanzniveau $p = 0,05$

n.s. = keine signifikante Korrelation

T+, bzw T- = Tendenz zu positivem, bzw. negativem Zusammenhang

4.1.3 Glucose

Plasma:

Der Blutzuckerspiegel (siehe Abbildung 6) der untersuchten Pferde lag während der Ruhephasen morgens und abends im Stall, wo auch Futter aufgenommen wurde, im Bereich zwischen $81,3 \pm 2,6$ mg/dl (Wert 0) und $89,5 \pm 1,4$ mg/dl (S₆₀). Während der Arbeit lagen die Glucosewerte signifikant ($p < 0,001$) darunter. Der niedrigste Wert wurde mit $55,1 \pm 1,7$ mg/dl direkt nach Ankunft auf dem Berg (AB) erreicht. In den 15 Minuten darauf (Werte AB₇ und AB₁₅) stieg der Blutzuckerspiegel wieder signifikant an ($p < 0,001$).

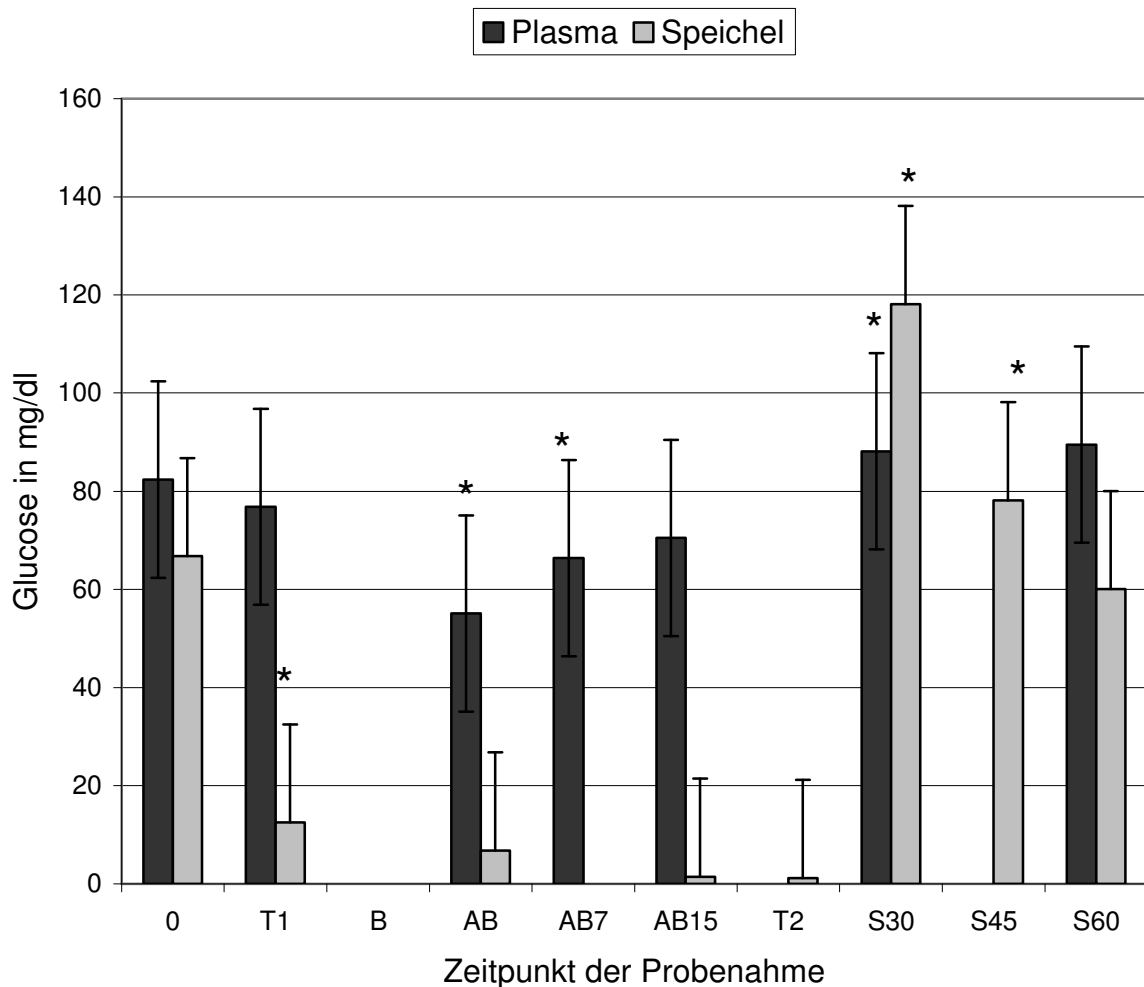


Abbildung 6: Konzentration von Glucose im Plasma und Speichel in mg/dl
in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n = 20 Pferde)
* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert (p ≤ 0,05)

Speichel:

Es besteht ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) zwischen den im Stall gemessenen Werten (0 am Morgen mit $55,4 \pm 10,6$ mg/dl und S_{30} mit $118,2 \pm 15,9$ mg/dl nachmittags 30 Minuten nach Rückkehr zum Stall) und denen während der Arbeit, wo keine Futteraufnahme möglich war (T_2 mit $1,2 \pm 0,1$ mg/dl und T_1 mit $12,5 \pm 5,6$ mg/dl). Den Glucosegehalt im Speichel zeigt Abbildung 6.

Korrelation zwischen Plasma- und Speichelglucose

In der Pearson-Korrelation (Auswertung aller Messwerte zusammen) zeigt Glucose in Plasma und Speichel einen signifikanten Zusammenhang ($p < 0,001$; $r = 0,378$). Bei Betrachtung der einzelnen Messzeitpunkte fällt allerdings auf, dass kein einziger eine

signifikante Korrelation aufweist. Zum Verlauf der Glucosekonzentration in Plasma und Speichel siehe Abbildung 6.

4.1.4 LDH

Plasma:

Die mittlere Aktivität der LDH im Plasma lag zwischen 317 ± 23 IU/l 15 Minuten nach Ankunft am Berg (AB₁₅) und 379 ± 33 IU/l 60 Minuten nach Rückkehr zum Stall (S₆₀). Der niedrigste Wert AB₁₅ unterschied sich signifikant ($p < 0,001$) von den beiden Nachmittagswerten S₃₀ und S₆₀, dem Ruhewert am Morgen im Stall (0) und vom Messwert direkt nach Ankunft am Berg (AB). Die LDH-Aktivität am Nachmittag im Stall lag im Vergleich am höchsten. Sie unterschied sich signifikant von den Werten unten vor Beginn der Fahrt (T₁) sowie 7 und 15 Minuten nach Ankunft am Berg (AB₇ und AB₁₅), jedoch nicht vom Ruhewert am Morgen (0). Der Messwert direkt nach Ankunft auf dem Berg (AB) zeigte zum Wert 60 Minuten nach Rückkehr zum Stall (S₆₀) einen signifikanten Unterschied ($p = 0,04$), aber nicht zum 30-Minuten-Wert (S₃₀). Zum Verlauf der LDH-Aktivität siehe Abbildung 7.

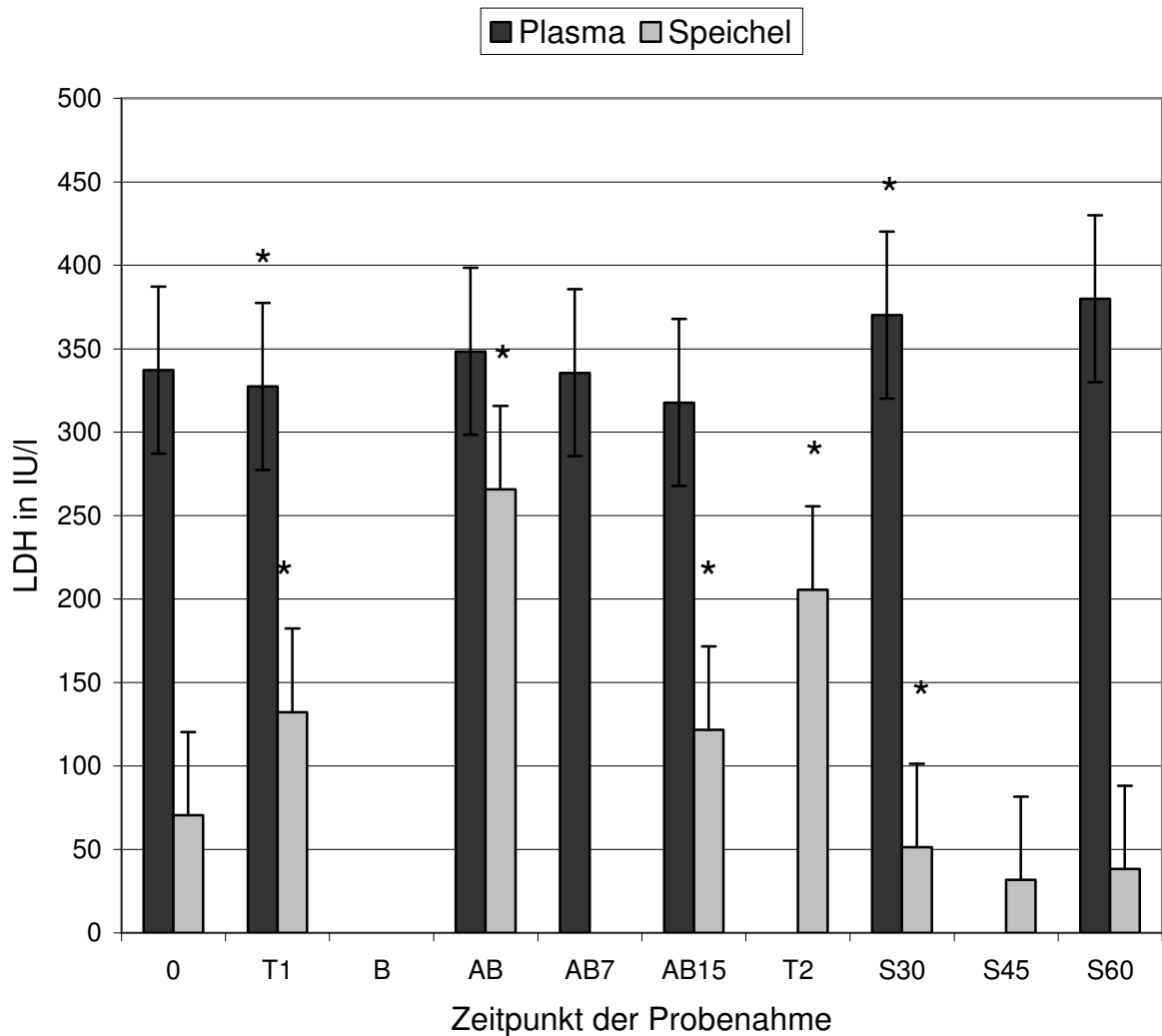


Abbildung 7: LDH-Aktivität in Plasma und Speichel in IU/l
in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n = 20 Pferde)
* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert (p<0,05)

Speichel:

Die Mittelwerte für die LDH-Aktivität im Speichel lagen für die Ruhewerte morgens und nachmittags im Stall zwischen 32 ± 7 IU/l (S₄₅) und 51 ± 17 IU/l (S₃₀) und während der Arbeit zwischen 122 ± 34 (AB₁₅) und 266 ± 105 IU/l (AB). Alle Messwerte während der Arbeit unterscheiden sich signifikant (p<0,01) von den Ruhewerten morgens (0) und nachmittags (S₃₀, S₄₅, S₆₀). Zum Verlauf der LDH-Aktivität im Speichel siehe Abbildung 7.

Korrelation zwischen Plasma- und Speichel-LDH

Zwischen der Aktivität der LDH im Plasma und im Speichel besteht kein signifikanter Zusammenhang.

4.1.5 Kreatinin

Serum

Die Kreatinin-Mittelwerte lagen bei den untersuchten Pferden zwischen $1,20 \pm 0,04$ mg/dl am Morgen (0) und $1,35 \pm 0,05$ mg/dl 30 Minuten nach Rückkehr zum Stall (S_{30}). Am Nachmittag nach der Arbeit war der Messwert 30 Minuten nach Ankunft im Stall (S_{30}) zunächst signifikant auch gegen die Arbeitswerte erhöht ($p= 0,011$), fiel aber in der nächsten halben Stunde (S_{60}) bereits wieder ($p=0,042$). Den Verlauf der Kreatininwerte im Serum zeigt Abbildung 8.

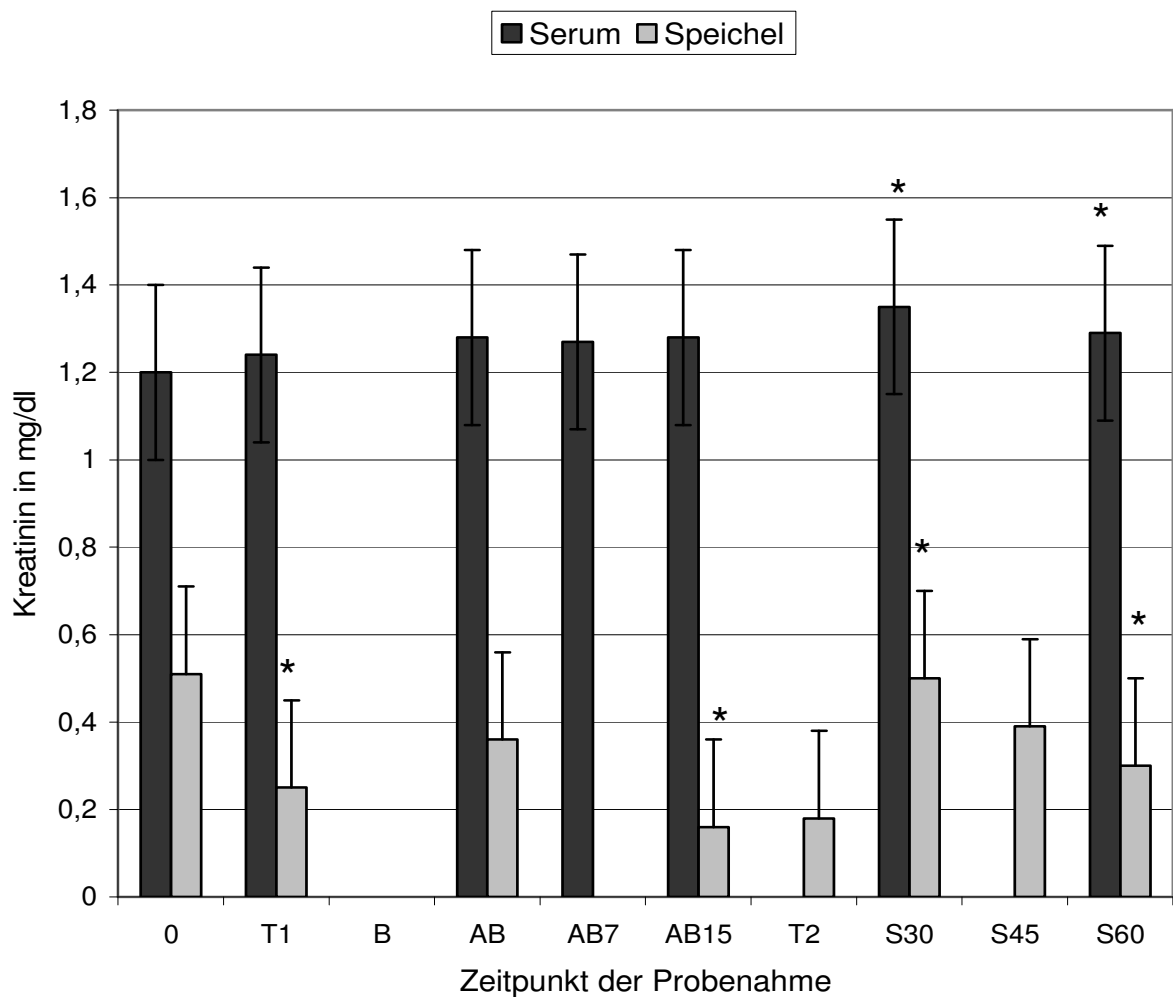


Abbildung 8: Kreatinin in Serum und Speichel in mg/dl
in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n = 20 Pferde)
* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

Speichel:

Im Speichel lagen die Messwerte für Kreatinin zwischen $0,16 \pm 0,01$ mg/dl (AB_{15}) und $0,50 \pm 0,09$ mg/dl (S_{30}), die niedrigsten fielen in die Arbeitsphase. Es bestehen signifikante Unterschiede ($p < 0,001$). Allerdings schwanken die Werte, so dass sich keine Abhängigkeit von Messzeitpunkt oder Belastung erkennen lässt. Zum Verlauf der Kreatininwerte im Speichel siehe Abbildung 8.

Korrelation zwischen Serum- und Speichelkreatinin

Zwischen den Serum- und Speichelwerten von Kreatinin besteht kein signifikanter Zusammenhang.

4.1.6 Harnstoff**Serum:**

Der Harnstoffgehalt im Serum der Versuchspferde betrug zwischen $31 \pm 1,3$ mg/dl und $36 \pm 2,0$ mg/dl. Die höchsten Konzentrationen wiesen die Werte auf, die direkt nach Ankunft am Berg (AB) und am Nachmittag (S_{30} , S_{60}) gemessen wurden. Sie zeigen einen signifikanten Unterschied ($p < 0,02$) zum Ruhewert am Morgen (0), der den niedrigsten Wert darstellt.

Zum Verlauf der Harnstoffwerte im Serum siehe Abbildung 9.

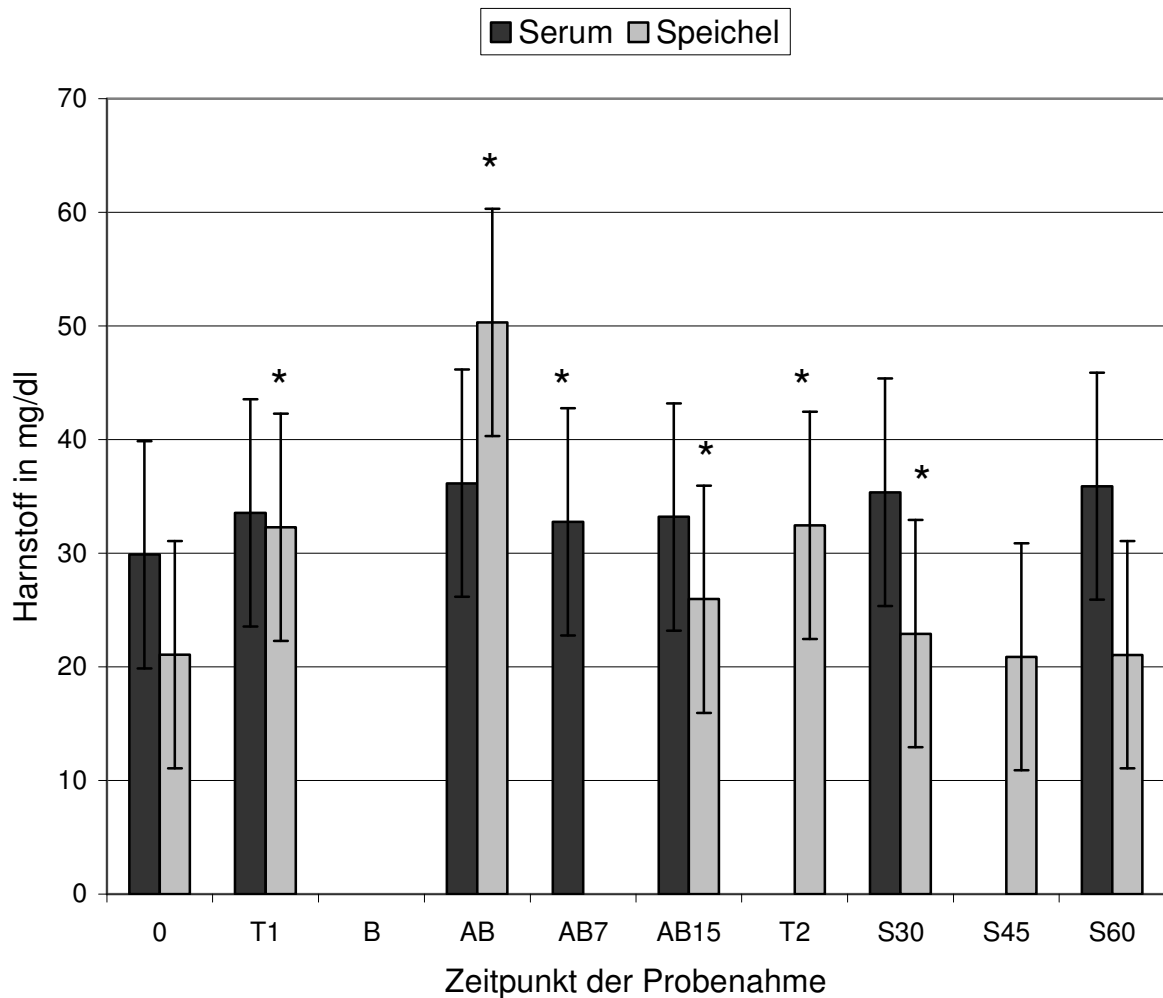


Abbildung 9: Harnstoff in Serum und Speichel in mg/dl
in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n = 20 Pferde)
* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

Speichel:

Im Speichel bewegten sich die Harnstoffwerte zwischen $21 \pm 1,9$ mg/dl und $50 \pm 5,9$ mg/dl, wobei der Messwert nach Ankunft am Berg (AB) mit 50 mg/dl am höchsten lag und sich signifikant ($p < 0,001$) von allen anderen unterscheidet. Auch der Wert T₂ direkt nach der Talfahrt wies eine signifikante Erhöhung auf ($p < 0,05$). Der Verlauf der Harnstoffwerte im Speichel ist aus Abbildung 9 ersichtlich.

Korrelation zwischen Serum- und Speichelharnstoff

Bei Harnstoff besteht eine signifikante Korrelation ($p < 0,001$; $r = 0,406$) zwischen den Serum- und Speichelwerten. Nur die Messzeitpunkte S₆₀ und AB₁₅ erreichen keine Signifikanz, wobei letzterer eine Tendenz zu einem positiven Zusammenhang zeigt ($p = 0,093$).

4.1.7 Kreatinkinase (CK)

Serum:

Die Aktivität der CK im Serum lag im Mittel zwischen 75 ± 5 IU/l (AB_{15}) und 96 ± 7 IU/l (S_{60}). Am Nachmittag wurden geringfügig höhere Werte gemessen. Der niedrigste Messwert 15 Minuten nach Ankunft am Berg (AB_{15}) unterscheidet sich signifikant von den Nachmittagswerten S_{30} ($p=0,043$) und S_{60} ($p=0,001$). Den Verlauf der Messwerte zeigt Abbildung 10.

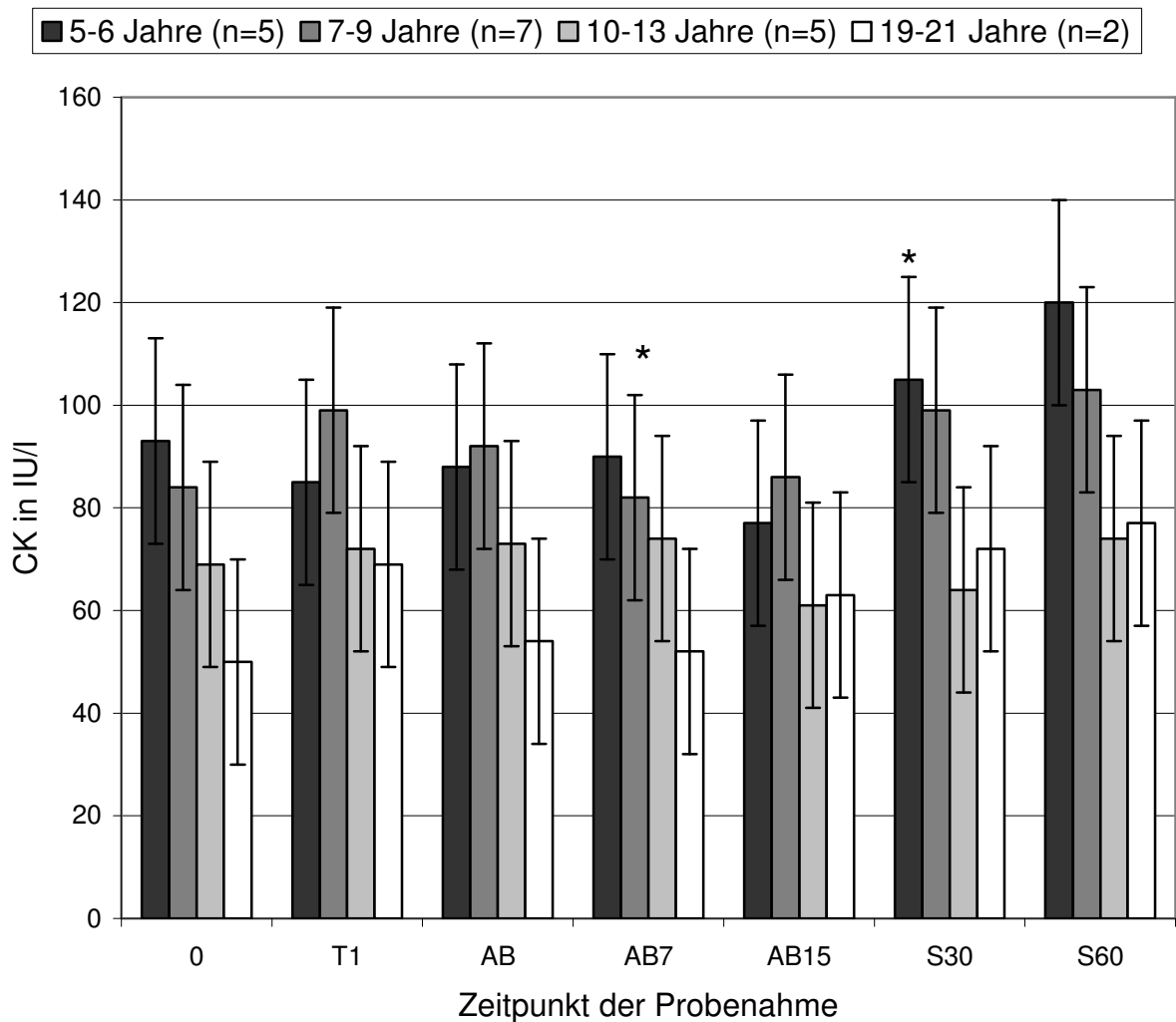


Abbildung 10: CK-Aktivität im Serum nach Altersgruppen in IU/l (siehe Tabelle 2) in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n=20 Pferde)
* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

Speichel:

Die CK-Aktivität im Speichel war mit mittleren $1,4 \pm 0,18$ IU/l bis $2,4 \pm 0,38$ IU/l sehr gering (siehe Abbildung 11). Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten.

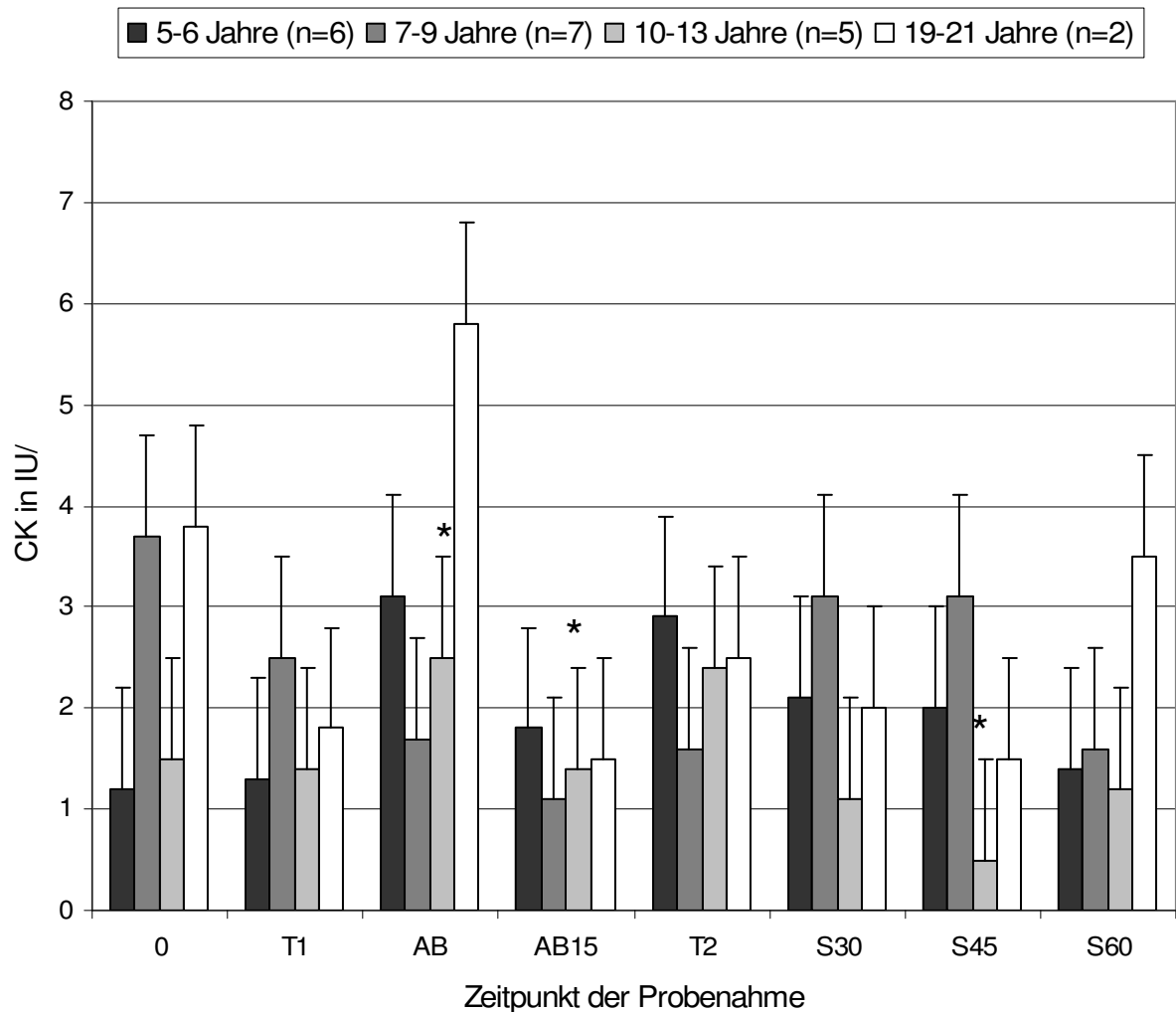


Abbildung 11: CK-Aktivität im Speichel nach Altersgruppen in IU/l (siehe Tabelle 2) in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n=20 Pferde)
* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

Korrelation zwischen Serum- und Speichel-CK

Für die Aktivität der Kreatinkinase in Serum und Speichel konnte weder insgesamt noch zu einzelnen Messzeitpunkten eine Korrelation festgestellt werden.

4.1.8 Cortisol

Serum:

Die Konzentrationen von Cortisol im Serum lagen zwischen $139,5 \pm 9,3$ nmol/l und $252,5 \pm 13,2$ nmol/l und zeigen in erster Linie einen signifikanten Unterschied ($p < 0,001$) zwischen den höheren Messwerten am Vormittag und den niedrigeren am Nachmittag.

Bei den Messungen während der Arbeit am Vormittag konnte kein signifikanter Anstieg im Vergleich zu dem Ruhewert am Morgen (0) festgestellt werden. Vom ersten zum zweiten Nachmittagswert 30, bzw. 60 Minuten nach Rückkehr in den Stall (S₃₀ und S₆₀) fiel die Cortisolkonzentration noch einmal signifikant ab ($p = 0,024$). Zum Verlauf der Cortisolwerte im Serum siehe Abbildung 12.

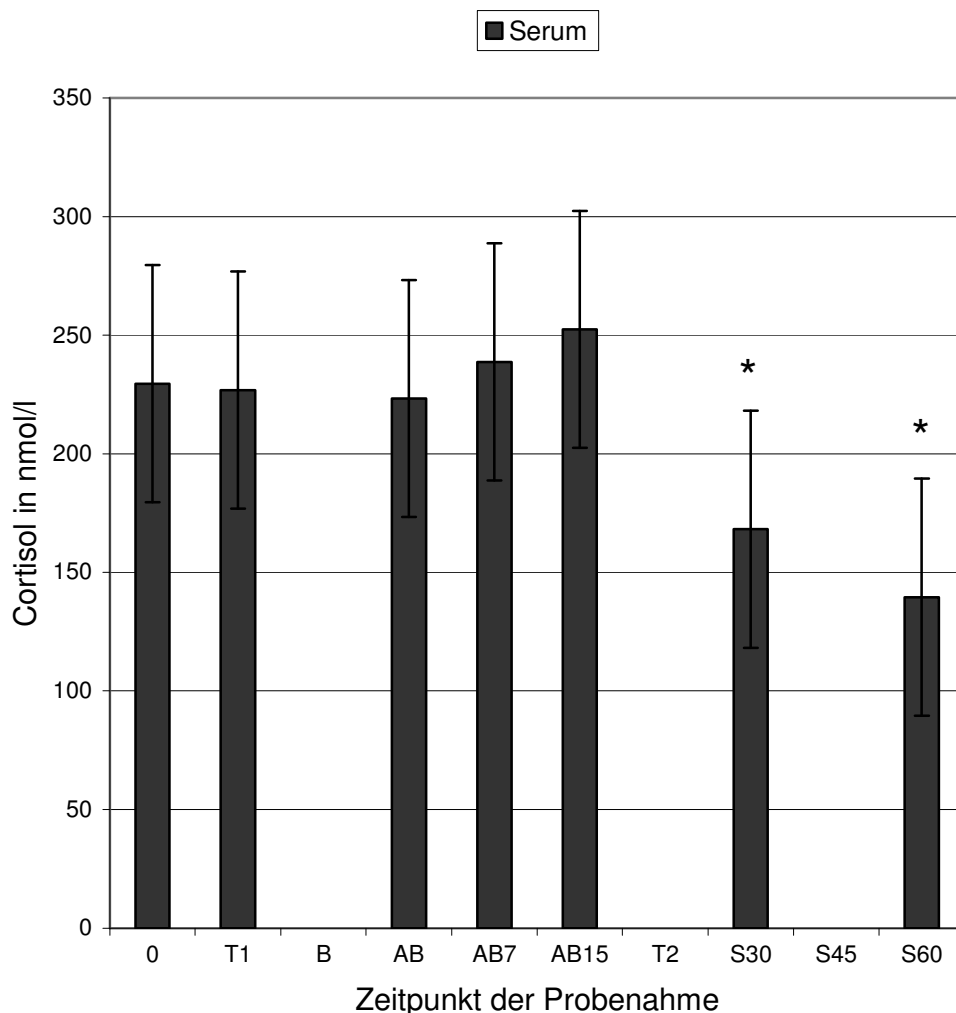


Abbildung 12: Cortisol im Serum in nmol/l

in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n = 20 Pferde)

* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

Speichel:

Das Cortisol im Speichel erreichte am Morgen in Ruhe (0) einen Wert von $1,15 \pm 0,14$ nmol/l. Wie im Serum liess sich ein signifikanter Abfall der Messwerte am Nachmittag feststellen ($p < 0,001$). So lag der Cortisolspiegel 60 Minuten nach Ankunft im Stall (S₆₀) bei $0,51 \pm 0,1$ nmol/l. Die Vormittagswerte schwankten, wie aus der Abbildung 13 ersichtlich, zwischen $1,17 \pm 0,17$ nmol/l (AB₁₅) und $1,85 \pm 0,22$ nmol/l direkt nach Ankunft auf dem Berg (AB). Das Speichelcortisol schien tendentiell nach Ruhepausen niedriger zu liegen als direkt nach der Arbeit, es wird darin aber keine Signifikanz erreicht.

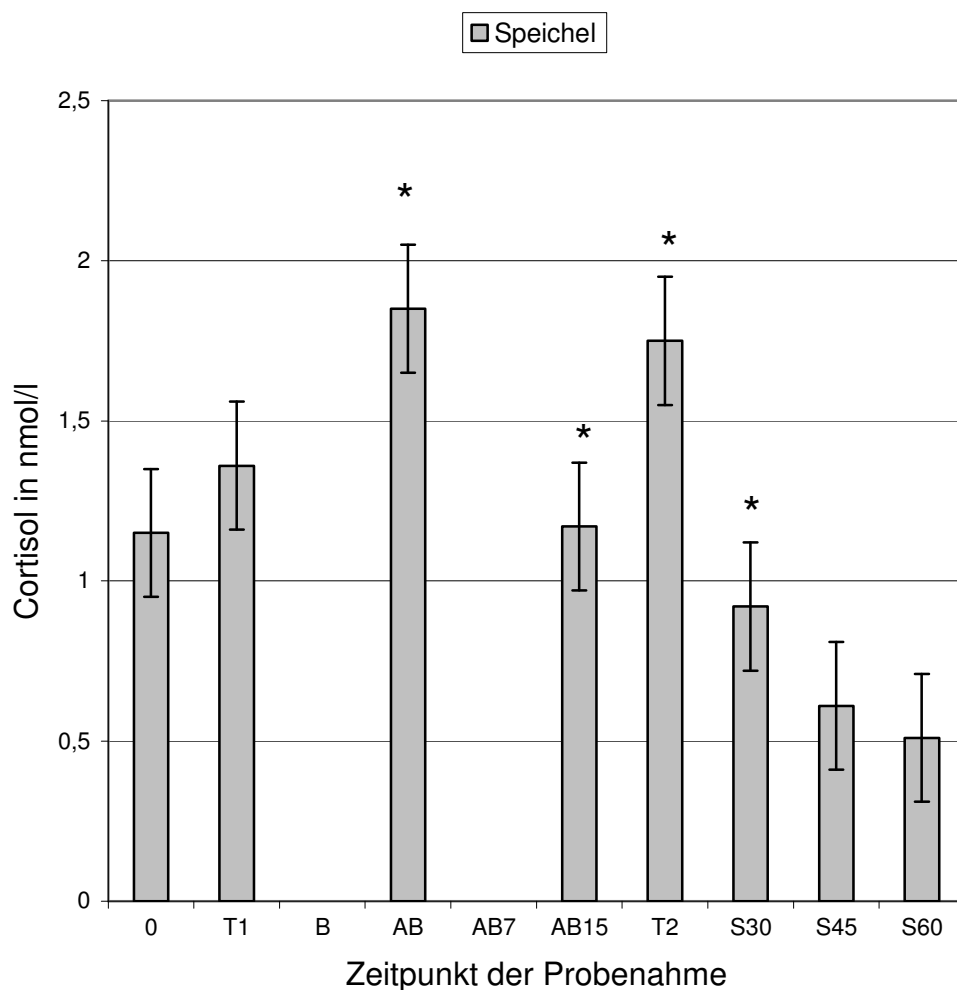


Abbildung 13: Cortisol im Speichel in nmol/l

in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenahme (n = 20 Pferde)

* = signifikanter Unterschied zum davorliegenden Wert ($p \leq 0,05$)

Korrelation zwischen Serum- und Speichelcortisol

Cortisol zeigt für die gesamte Untersuchung eine signifikante Korrelation ($p < 0,001$; $r = 0,338$) zwischen Serum- und Speichelwerten. Bei einer Einzelbetrachtung der verschiedenen Messzeitpunkte besteht jedoch nur für die Ruhewerte morgens (0) ($p = 0,044$; $r = 0,466$) sowie nachmittags im Stall (S_{30} mit $p < 0,001$; $r = 0,736$ und S_{60} mit $p = 0,010$; $r = 0,604$) eine Korrelation zwischen Serum- und Speichelcortisol.

4.1.9 Zusammenfassende Darstellung des Verlaufs der Messwerte aller Parameter

Tabelle 22 zeigt eine Übersicht der Veränderungen der Messwerte über die Beobachtungszeit.

Tabelle 22: Zusammenfassung des Verlaufs der Messwerte

	0	T ₁	B	AB	AB ₇	AB ₁₅	T ₂	S ₃₀	S ₄₅	S ₆₀
Herzfrequenz		----	↑	↓	↓	↓				
Laktat PI	----	↓		→	→	→		↑		↑
Laktat Sp	----	→		→		↓	→	→	→	→
Glucose PI	----	→		↓	↑	→		↑		→
Glucose Sp	----	↓		→		→	→	↑	↓	→
LDH PI	----	↓		→	→	→		↑		→
LDH Sp	----	↑		↑		↓	↑	↓	→	→
Kreatinin Se	----	→		→	→	→		↑		↓
Kreatinin Sp	----	↓		→		↓	→	↑	→	↓
Harnstoff Se	----	→		→	↓	→		→		→
Harnstoff Sp	----	↑		↑		↓	↑	↓	→	→
CK Se	----	→		→	→	→		↑		→
CK Sp	----	→		→		→	→	→	→	→
Cortisol Se	----	→		→	→	→		↓		↓
Cortisol Sp	----	→		↑		↓	↑	↓	→	→

□ = nicht gemessen

↓ = signifikante Erniedrigung gegenüber dem direkt vorangegangenen Wert

↑ = signifikante Erhöhung gegenüber dem direkt vorangegangenen Wert

→ = gleichbleibend, bzw. nichtsignifikante Veränderungen

PI = Plasma

Se = Serum

Sp = Speichel

CK = Kreatinkinase

LDH = Laktatdehydrogenase

4.2 Korrelationen verschiedener Blutparameter

Die Korrelationen zwischen Alter, Herzfrequenz und den verschiedenen Blutparametern sind in Tabelle 23 dargestellt.

Tabelle 23: Korrelationen der Blutparameter über alle Messwerte sowie differenziert nach Ruhe- und Belastungswerten

	HF	Cortisol	CK	Kreatinin	Glucose	Harnstoff	Laktat	LDH
Alter	n.s.	n.s. T-	p<0,001 r=-0,352	n.s.	n.s. T+	n.s.	n.s. T-	n.s. T+
Ruhe	n.s.	n.s.	p=0,001 r=-0,363	n.s.	p=0,003 r=0,342	n.s.	n.s. T-	n.s.
Belastung	n.s.	n.s.	p=0,005 r=-0,358	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
HF	----	n.s.	n.s.	n.s.	p<0,001 r= -0,644	p=0,006 r= 0,308	n.s.	n.s. T+
Ruhe	----	p=0,007 r=0,596	n.s.	n.s.	n.s.	p=0,007 r=0,596	n.s.	p=0,013 r=0,561
Belastung	----	n.s.	n.s.	n.s.	p<0,001 r=-0,567	p=0,011 r=0,329	n.s.	n.s. T+
Cortisol	----	-----	n.s.	n.s.	p<0,001 r= -0,431	n.s.	n.s. T-	n.s.
Ruhe	----	-----	n.s.	n.s.	p<0,001 r=-0,429	n.s.	n.s. T-	n.s.
Belastung	----	-----	p=0,002 r=0,400	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CK	----	-----	-----	n.s.	n.s.	p=0,047 r= -0,172	n.s.	p=0,036 r=0,181
Ruhe	----	-----	-----	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Belastung	----	-----	-----	n.s.	n.s.	n.s. T-	n.s.	n.s.
Kreatinin	----	-----	-----	-----	n.s.	p=0,012 r= 0,216	n.s. T+	n.s.
Ruhe	----	-----	-----	-----	n.s.	p=0,010 r=0,295	n.s.	n.s.
Belastung	----	-----	-----	-----	n.s.	n.s.	n.s. T+	n.s.
Glucose	----	-----	-----	-----	-----	n.s.	p<0,001 r=0,287	n.s.
Ruhe	----	-----	-----	-----	-----	n.s.	p=0,032 r=0,247	n.s.
Belastung	----	-----	-----	-----	-----	n.s.	n.s.	n.s.
Harnstoff	----	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.	n.s.
Ruhe	----	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.	n.s.
Belastung	----	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.	n.s.
Laktat	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.
Ruhe	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.
Belastung	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.

Signifikanzniveau p= 0,05

n.s. = keine signifikante Korrelation

T+= Tendenz zu positivem Zusammenhang

T-= Tendenz zu negativem Zusammenhang

HF= Herzfrequenz

CK= Kreatinkinase; LDH= Laktatdehydrogenase

Serumcortisol

Serumcortisol korreliert negativ mit dem *Blutzuckerspiegel* ($p < 0,001$). Obschon die Korrelation der Gesamtwerte signifikant ist, ergibt sich zu keiner der einzelnen Messzeiten eine signifikante Korrelation.

Serum-CK

Es besteht ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den Aktivitäten der *CK* und der *LDH* ($p = 0,036$). Die einzelnen Messzeiten erreichen keine Signifikanz.

Ausserdem scheint es eine negative Korrelation zwischen *CK* und *Harnstoff* zu geben ($p = 0,047$). Hier ist als Einzelmesszeit nur AB_{15} signifikant.

Auch das *Alter* der Pferde korreliert negativ mit der Aktivität der *CK* im Serum ($p < 0,001$), das heisst ältere Pferde hatten niedrigere CK-Werte.

Serumharnstoff

Erwartungsgemäss zeigt sich eine deutliche positive Korrelation zwischen *Serumkreatinin* und *Serumharnstoff* ($p = 0,012$). In diesem Fall ist der 0-Wert als einzige Messzeit signifikant.

Ebenso lässt sich eine signifikant positive Korrelation zwischen *Herzfrequenz* und *Serumharnstoff* ($p = 0,006$) feststellen. Von den einzelnen Zeiten korreliert nur T_1 .

Plasmagluucose

Die *Plasmagluucose* zeigt einen signifikanten positiven Zusammenhang mit dem *Plasmalaktat* ($p < 0,001$). Ausserdem korreliert sie negativ mit der *Herzfrequenz* ($p < 0,001$). Die einzelnen Messzeiten sind in beiden Fällen nicht signifikant.

Tendenzen

Glucose und *LDH* im Plasma scheinen bei älteren Pferden etwas höher zu liegen. Laktat liegt etwas niedriger, es besteht aber keine Signifikanz.

Serumcortisol und *Plasmalaktat* zeigen eine Tendenz zur Korrelation, die aber nicht signifikant ist ($p = 0,076$; $r = -0,155$).

Ein negativer Zusammenhang scheint zwischen *Alter* und *Serumcortisol* zu bestehen, ebenso wie ein positiver zwischen *Alter* und *Plasma-LDH*, jedoch wird

jeweils das Signifikanzniveau von $p=0,05$ nicht erreicht. Eine Übersicht zeigt Tabelle 23 (s.o.).

4.3 Korrelationen verschiedener Speichelparameter

Die Korrelationen zwischen Alter, Herzfrequenz und den verschiedenen Speichelparametern zeigt Tabelle 24.

Tabelle 24: Korrelationen der Speichelparameter über alle Messwerte sowie differenziert nach Ruhe- und Belastungswerten

	Cortisol	CK	Kreatinin	Glucose	Harnstoff	Laktat	LDH
Alter	n.s.	n.s.	n.s. T+	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Ruhe	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Belastung	n.s.	n.s.	n.s. T+	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Herzfrequenz	p=0,016 r=0,311	p<0,001 r=0,432	p=0,037 r=0,275	n.s.	p<0,001 r=0,570	n.s.	p<0,001 r=0,476
Ruhe	n.s.	n.s.T+	n.s.	n.s.	p=0,005 r=0,620	n.s.	n.s.
Belastung	p=0,030 r=0,344	p=0,002 r=0,472	p=0,026 r=0,356	n.s.	p<0,001 r=0,638	n.s.	p=0,002 r=0,466
Cortisol	-----	n.s.T+	n.s.	p=0,012 r=-0,205	p<0,001 r=0,512	p=0,031 r=0,176	p<0,001 r=0,562
Ruhe	-----	n.s.	n.s.	n.s.	p<0,001 r=0,418	n.s.	p<0,001 r=0,434
Belastung	-----	p=0,045 r=0,265	p<0,001 r=0,426	n.s.	p<0,001 r=0,433	p=0,034 r=0,274	p<0,001 r=0,476
CK	-----	-----	p=0,005 r=0,231	p=0,018 r=0,194	p<0,001 r=0,365	n.s.	p<0,001 r=0,499
Ruhe	-----	-----	p=0,044 r=0,214	p=0,003 r=0,311	n.s.	n.s.	n.s.
Belastung	-----	-----	p=0,005 r=0,360	n.s.T+	p<0,001 r=0,665	n.s.	p<0,001 r=0,855
Kreatinin	-----	-----	-----	p<0,001 r=0,652	p=0,017 r=0,196	p=0,022 r=0,189	n.s.
Ruhe	-----	-----	-----	p<0,001 r=0,690	n.s.	n.s.	n.s.
Belastung	-----	-----	-----	p=0,027 r=0,291	p<0,001 r=0,665	p=0,003 r=0,381	p<0,001 r=0,461

Glucose	-----	-----	-----	-----	n.s.	n.s.	p<0,001 r=-0,293
Ruhe	-----	-----	-----	-----	n.s.	n.s.	p=0,039 r=-0,217
Belastung	-----	-----	-----	-----	n.s.T+	p<0,001 r=0,784	n.s.T+
Harnstoff	-----	-----	-----	-----	-----	p=0,009 r=0,215	p<0,001 r=0,730
Ruhe	-----	-----	-----	-----	-----	p<0,001 r=0,408	p<0,001 r=0,593
Belastung	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.	p<0,001 r=0,721
Laktat	-----	-----	-----	-----	-----	-----	p=0,015 r=0,199
Ruhe	-----	-----	-----	-----	-----	-----	p<0,001 r=0,401
Belastung	-----	-----	-----	-----	-----	-----	n.s.T+

Signifikanzniveau $p=0,05$

n.s. = keine signifikante Korrelation

T+= Tendenz zu positivem Zusammenhang

T-= Tendenz zu negativem Zusammenhang

CK= Kreatinkinase

LDH= Laktatdehydrogenase

Herzfrequenz

Zwischen der *Herzfrequenz* und den *Speichelwerten* von *Cortisol* ($p=0,016$; keine signifikanten Einzelwerte), *CK* ($p<0,001$; AB signifikant), *Harnstoff* ($p<0,001$; T₁ signifikant), *Kreatinin* ($p=0,037$) und *LDH* ($p<0,001$) (jeweils keine signifikanten Einzelzeiten) lässt sich eine signifikant positive Korrelation feststellen.

Speichelcortisol

Für *Speichelcortisol* zeigt sich eine signifikante negative Beziehung zu *Speichelglucose* ($p=0,012$; keine signifikanten Einzelzeiten), sowie eine positive zu den Speichelwerten von *Harnstoff* ($p<0,001$; 0, AB, AB₁₅, S₄₅ signifikant), *Laktat* ($p=0,031$; S₆₀ signifikant) und *LDH* ($p<0,001$; AB und S₄₅ signifikant).

Speichel-CK

Die *Speichel-CK* steht in statistisch signifikantem Zusammenhang mit *Speichelkreatinin* ($p=0,005$; T₁, S₃₀ signifikant), *-Glucose* ($p=0,018$; S₆₀ signifikant), der *Herzfrequenz* (s.o.), *Speichelharnstoff* ($p < 0,001$; AB signifikant) und *-LDH* ($p < 0,001$; T₁, AB, AB₁₅, T₂ signifikant).

Speichelkreatinin

Speichelkreatinin korreliert signifikant mit *Speichelglucose* ($p < 0,001$; 0, T₁, AB₁₅, S₃₀, S₄₅, S₆₀ signifikant), *-Harnstoff* ($p=0,017$; T₁, AB, T₂ signifikant) und *-Laktat* ($p=0,022$; T₁ signifikant). Speichelkreatinin scheint bei älteren Pferden etwas höher zu liegen, darin besteht aber keine Signifikanz.

Speichelglucose

Die *Speichelglucose* korreliert ausser mit *Speichelcortisol*, *-CK* und *-Kreatinin* (s.o.) mit *Speichel-LDH* ($p < 0,001$; T₁ signifikant).

Speichelharnstoff

Speichelharnstoff steht in signifikantem Zusammenhang mit *Speichellaktat* ($p=0,009$; T₁ und S₃₀ signifikant) und *-LDH* ($p < 0,001$; T₁, AB, AB₁₅, S₃₀, S₄₅ signifikant), ausserdem noch mit *-Cortisol*, *-CK* und *-Kreatinin* (s.o.).

Speichellaktat

Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen *Speichellaktat* und *-LDH* ($p=0,015$; S₃₀ signifikant) sowie mit *Speichel-Cortisol*, *-Kreatinin* und *Harnstoff* (s.o.).

Speichel-LDH

Speichel-LDH korreliert, wie bereits erwähnt, mit allen Speichelparametern ausser Kreatinin.

Tabelle 24 (s.o.) zeigt eine Übersicht der Korrelationen.

4.4 Korrelationen verschiedener Parameter in Blut und Speichel

Die Korrelationen zwischen den Blut- und Speichelwerten der verschiedenen Parameter werden in den Tabellen 25, 26 und 27 gezeigt.

Tabelle 25: Korrelationen der Blut- und Speichelparameter über alle Messwerte

Speichel	Cortisol	CK	Kreatinin	Glucose	Harnstoff	Laktat	LDH
← Plasma →							
↓							
Cortisol	p<0,001 r=0,341	n.s.	n.s.	p=0,024 r= -0,212	n.s., T+	n.s.	n.s., T+
CK	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p=0,011 r= - 0,237	n.s.
Kreatinin	p=0,003 r=0,278	n.s.	n.s.	n.s., T+	n.s., T+	n.s.	n.s.
Glucose	p<0,001 r= -0,473	n.s.	n.s.	p<0,001 r=0,378	p<0,001 r= -0,417	n.s.	p<0,001 r= -0,483
Harnstoff	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p<0,001 r=0,406	n.s.	p<0,001 r=0,341
Laktat	n.s., T-	n.s.	n.s.	p=0,003 r=0,279	p=0,049 r= - 0,187	n.s. T+	n.s.
LDH	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s	p=0,043 r= - 0,191	n.s.

Signifikanzniveau p= 0,05

n.s. = keine signifikante Korrelation

T+= Tendenz zu positivem Zusammenhang

T-= Tendenz zu negativem Zusammenhang

CK= Kreatinkinase

LDH= Laktatdehydrogenase

Tabelle 26: Korrelationen der Blut- und Speichelparameter in Ruhe

Speichel	Cortisol	CK	Kreatinin	Glucose	Harnstoff	Laktat	LDH
Plasma							
Cortisol	p<0,001 r=0,634	n.s.	n.s.	n.s.	n.s. T+	n.s.	p=0,011 r=0,295
CK	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p=0,008 r= - 0,309	n.s.
Kreatinin	n.s.	n.s.	n.s.	p=0,026 r=0,261	n.s.	n.s.	n.s.
Glucose	p<0,001 r= - 0,381	n.s.	n.s.	n.s. T+	p=0,046 r= -0,236	n.s.	p=0,001 r= -0,365
Harnstoff	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p<0,001 r=0,409	n.s. T+	n.s.
Laktat	n.s.	n.s.	n.s.	p=0,049 r=0,231	n.s. T-	n.s.	p<0,001 r=-0,395
LDH	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s. T-	n.s.

Signifikanzniveau p= 0,05

n.s. = keine signifikante Korrelation

T+= Tendenz zu positivem Zusammenhang

T-= Tendenz zu negativem Zusammenhang

CK= Kreatinkinase

LDH= Laktatdehydrogenase

Tabelle 27: Korrelationen der Blut- und Speichelparameter unter Belastung

Speichel	Cortisol	CK	Kreatinin	Glucose	Harnstoff	Laktat	LDH
Plasma							
Cortisol	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CK	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Kreatinin	p=0,003 r=0,458	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Glucose	p=0,019 r=-0,370	n.s.	n.s.	n.s.	n.s. T-	n.s.	n.s.
Harnstoff	p=0,014 r=0,385	n.s.	n.s.	n.s.	p<0,001 r=0,517	n.s.	p=0,002 r=0,486
Laktat	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s. T+	n.s.
LDH	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s. T+	n.s.	n.s.

Signifikanzniveau $p = 0,05$

n.s. = keine signifikante Korrelation

T+= Tendenz zu positivem Zusammenhang

T-= Tendenz zu negativem Zusammenhang

CK= Kreatinkinase

LDH= Laktatdehydrogenase

Serumcortisol

Neben der Korrelation zwischen *Serum-* und *Speichelcortisol* (s.o.) scheint ein Zusammenhang zwischen *Serumcortisol* und *Speichelglucose* zu bestehen ($p=0,02$; Wert 0 signifikant).

Serum-CK

Serum-CK korreliert mit *Speichellaktat* ($p=0,01$; keine signifikanten Einzelzeiten).

Serumkreatinin

Es scheint eine Korrelation zwischen *Serumkreatinin* und *Speichelcortisol* zu existieren ($p=0,003$; AB, AB₁₅ signifikant).

Plasmaglucoese

Abgesehen von der bereits oben beschriebenen Korrelation mit der *Speichelglucose* scheint die *Plasmaglucoese* auch mit den Speichelwerten von *Cortisol* und *Harnstoff* (jeweils $p < 0,001$; keine signifikanten Einzelzeiten) sowie *LDH* zu korrelieren ($p < 0,001$; S₆₀ signifikant).

Serumharnstoff

Ausser dem Zusammenhang mit *Speichelharnstoff* (s.o.) scheint eine signifikante Korrelation zwischen *Serumharnstoff* und *Speichel-LDH* zu existieren ($p < 0,001$; S₃₀ signifikant).

Plasmalaktat

Plasmalaktat korreliert mit den Speichelwerten von *Glucose* ($p=0,003$; AB₁₅ signifikant) und *Harnstoff* ($p=0,05$; keine signifikanten Einzelzeiten). Zwischen *Plasma-* und *Speichellaktat* besteht eine Tendenz zur Korrelation ($p=0,076$; $r=0,168$), die aber das Signifikanzniveau nicht erreicht (s.o.).

Plasma-LDH

Zwischen der Aktivität der *LDH* im Plasma und dem *Laktatgehalt im Speichel* scheint ein Zusammenhang zu bestehen ($p=0,04$; keine signifikanten Einzelzeiten).

Eine Übersicht zeigt Tabelle 25 (s.o.).

5 Diskussion

5.1 Tiere und Methodik

Die in dieser Studie untersuchten Süddeutschen Kaltblutpferde zeigten keine Lahmheiten und waren auch sonst adspektorisch gesund und in gutem Fütterungs- und Pflegezustand. Trotz der nicht optimalen Haltungsform (Ständerhaltung) wurden keine Stereotypen beobachtet.

Bei den meisten Pferden war die Herzfrequenzmessung problemlos, nur bei einzelnen Tieren zeigten die Messwerte während der Bewegung plötzlich ein Plateau auf etwa dem doppelten Niveau der bisherigen Messungen an, was sich auf Kontaktschwierigkeiten der Messelektroden, wahrscheinlich durch Verrutschen, zurückführen lässt. Von ähnlichen Schwierigkeiten mit den Messgeräten berichtet auch Licht (2000). Die dadurch entstandenen Artefakte lassen sich aber leicht erkennen und wurden in der Auswertung berücksichtigt.

Auch die Entnahme der Speichelproben stellte sich unkompliziert dar, da sämtliche Pferde eine gute Speichelflussrate hatten und bereitwillig auf den Tupfern kauten, so dass sich regelmässig mindestens 2 ml Speichel gewinnen liessen. Die Blutentnahmen wurden, abgesehen von wenigen aufgeregten Tieren, im Allgemeinen ebenfalls gut toleriert. Bezüglich der wiederholten Blutentnahmen waren bei den Pferdebesitzern allerdings verständlicherweise Bedenken vorhanden, daher stimmten sie auch einer Wiederholung des Versuchsablaufes an einem zweiten Tag bei den gleichen Tieren nicht zu. Da die Probenahmen nur während des normalen Fuhrbetriebs stattfinden konnten, waren natürlich gewisse Kompromisse im Versuchsablauf unvermeidlich. So erlaubte es der tägliche Einsatz der Pferde z.B. nicht, als Kontrolle über einen ganzen Tag Ruhewerte zu entnehmen. Obwohl die Fahrer sich recht aufgeschlossen zeigten, war es aus betriebstechnischen Gründen auch nur in Einzelfällen möglich, die Pause am Berg über mehr als 15 bis 20 Minuten auszudehnen, um die Erholung über einen längeren Zeitraum zu beobachten.

Die Aufbereitung der Blut- und Speichelproben musste wegen der grossen Entfernung zum Labor vor Ort erfolgen. Nach der Entnahme wurden die Speicheltupfer sofort in den Spritzenhüllen auf Trockeneis eingefroren und das Blut unmittelbar nach Entnahme in Serum- und Fluorid-Plasmaröhrchen abgefüllt und

diese in einer Kühlbox auf Eis zwischengelagert. Die Röhrchen wurden anschliessend in einer tragbaren Zentrifuge abzentrifugiert, der Überstand in Eppendorf-Cups abgefüllt und ebenfalls auf Trockeneis eingefroren. Auf diese Weise konnten die Proben ohne Schaden zu nehmen transportiert werden.

5.2 Herzfrequenz

Die Herzfrequenzmessung eignet sich gut, um die Belastung eines Pferdes zu beurteilen und seine Fitness im Vergleich zu anderen Pferden einzuschätzen.

In der vorliegenden Untersuchung liegen die bei den Kaltblutpferden gemessenen Ruheherzfrequenzen mit durchschnittlich 38 bpm im Normalbereich von 28-40 bpm (Spörri, 1987; von Engelhardt, 2005).

Während der Arbeitsphase werden einzelne Spitzenwerte um 150 bpm erreicht, im Durchschnitt liegt die Herzfrequenz bei 122 bpm. Da es sich um reine Schrittarbeit handelt, erscheinen diese Werte im Vergleich zu den üblichen Referenzwerten von 50-90 bpm für den Schritt (Licht, 2000) zunächst hoch, jedoch muss berücksichtigt werden, dass die Pferde mit einer von 14 Personen besetzten Kutsche eine erhebliche Zuglast zu bewegen haben. In der Untersuchung von Gottlieb et al. (1988) zeigt sich eine lineare Abhängigkeit der Herzfrequenz sowohl von der Geschwindigkeit, die bei den hier untersuchten Pferden von geringer Bedeutung ist, wie auch von der Zuglast. Gottlieb et al. (1989) geben für eine Zuglast mit der Gewichtskraft von 34 kp, die auf dem Laufband im Schritt über dem Boden zu halten war, eine durchschnittliche Herzfrequenz von 111 ± 5 bpm und für 80 kp bereits 157 ± 10 bpm an. Beim zweiseppännigen Ziehen der o.g. Kutsche muss jedes der Pferde mindestens eine Masse von 750 kg (Gewichtskraft 750 kp) bewegen, dazu kommt die zusätzliche Anstrengung durch die zu bewältigende Steigung. Nach Ankunft am Berg beginnt die Herzfrequenz sofort zu fallen und liegt im Schnitt nach 7 Minuten bei 55 bpm und nach 15 Minuten bei 48 bpm. Bei Betrachtung der Altersgruppen fällt auf, dass in der Gruppe der 19- bis 21-jährigen Pferde (n=2) die Herzfrequenz langsamer abfällt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass eines der beiden Tiere etwas längere Zeit zur Erholung benötigte, während das andere im Durchschnitt lag. Der Ablauf der Erholung konnte nur bei wenigen Tieren bis zum völligen Ruhewert beobachtet werden, der nach 18 bis 30 Minuten erreicht wurde. Damit liegt die Erholungszeit niedriger als bei Perez et al. (1996) mit einer Zeit von 30 Minuten bis

zum Erreichen des Ruhewerts nach einer Belastung mit einer Herzfrequenz bis 118 bpm. Da die vorliegende Untersuchung im Winter stattfand, war eine kürzere Erholungszeit als bei Hitze und hoher Luftfeuchtigkeit zu erwarten (Marr et al., 1999). Die Talfahrt bedeutet für die Tiere kaum Anstrengung, da die Herzfrequenzen mit etwa 52 bis 85 bpm die Referenzwerte für Schritt ohne Zuglast (Licht, 2000) nicht überschreiten. Die im Vergleich zu den maximal möglichen Werten von 200 bis 220 bpm (Geor und McCutcheon, 2005) niedrigen Herzfrequenzen und die guten Erholungswerte sprechen dafür, dass die Pferde in dieser Untersuchung gut konditioniert und ihrer arbeitsphysiologischen Belastung gewachsen sind. Die hohe Effizienz der Kaltblüter bei niedriger Geschwindigkeit stimmt mit den Beobachtungen von Potard et al. (1998) überein; im vorliegenden Fall müssen die Pferde sogar deutlich mehr als 20 % ihres Körpergewichtes ziehen.

5.3 Laktat

5.3.1 Laktat im Plasma

In der Literatur wird das basale Plasmalaktat mit Werten zwischen 0,57 mmol/l (Brock, 1992) und 1 mmol/l (Lindner, 1997) angegeben. Bei den hier untersuchten Pferden liegt der Ruhewert am Morgen (0) mit $1,36 \pm 0,06$ mmol/l vergleichsweise etwas höher und fällt nach der Fahrt zum Startpunkt im Tal auf $0,95 \pm 0,06$ mmol/l (T_1). Warum der morgendliche Ruhewert relativ hoch liegt, ist unklar. Da selbst nach einer Belastung von 80 % der $VO_2\max$ das Plasmalaktat in wenig mehr als zwei Stunden den Ruhewert wieder erreicht ist (Pinkowski et al., 1998), kann es sich nicht um eine noch nicht abgebaute Laktatanhäufung vom Vortag handeln. Die Ruhewerte könnten bei Kaltblütern womöglich höher liegen als z.B. bei den Trabern in der Untersuchung von Brock (1992). Von unterschiedlichen Laktatwerten in Abhängigkeit von der Rasse berichten schon Saibene et al. (1985) und Munoz et al. (2002).

Der Unterschied zwischen den Stallwerten und T_1 könnte eventuell auf einen verstärkten anaeroben Stoffwechsel des Verdauungstraktes während der Futteraufnahme zurückzuführen sein. Möglicherweise wird das Laktat durch die bessere Durchblutung in der Bewegung abgebaut. Hubbell et al. (1997) können nach Belastung eine schnellere Rückkehr zum Ruhewert durch Bewegung im Schritt feststellen. Da die Fahrt zum Startpunkt in der Ebene im Schritt mit nur 3 Personen in der Kutsche stattfindet, dürfte diese selbst nicht zu einer Laktatanhäufung führen.

In der anschliessenden Arbeitsphase und weiterhin nachmittags im Stall steigt das Laktat stetig leicht an. Der Anstieg nach der Bergfahrt war zu erwarten, da nach Gottlieb et al. (1988) das Plasmalaktat mit Geschwindigkeit und Zuglast exponentiell ansteigt, die Herzfrequenz hingegen steigt linear. Diese korreliert laut Covalesky et al. (1992) mit dem Plasmalaktat, was sich in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt. Erstaunlich ist allerdings das geringe Ausmass des Laktatanstieges nach der Bergfahrt. Die ersten beiden Werte nach Ankunft am Berg (AB und AB₇) unterscheiden sich noch nicht signifikant von T₁, sondern erst AB₁₅ mit $1,19 \pm 0,09$ mmol/l, der aber immer noch unterhalb vom 0-Wert liegt. Offensichtlich arbeiten die Pferde trotz der hohen Zuglast und der Steigung im aeroben Bereich, wie auch bei Distanzritten nur sehr geringe Laktatwerte erreicht werden (Lindner, 1997). Dies deutet auf eine hohe aerobe Kapazität hin, also sind die Pferde gut trainiert, da Ausdauertraining zu einer geringeren Laktatbildung bei submaximalen Geschwindigkeiten führt (Roneus et al., 1994; Aguera et al., 1995). Möglicherweise spielt auch die Geschwindigkeit für die Laktatbildung im Vergleich zur Last eine grössere Rolle (Desmecht et al., 1996).

Weiterhin fällt auf, dass nach Ende der Belastung durch die Bergfahrt das Plasmalaktat während der Pause noch steigt, obwohl es bei weitem nicht die von Lindner (1997) angegebene Schwelle von 8 mmol/l erreicht, ab der ein weiterer Anstieg nach Ende der Belastung zu erwarten ist. Selbst nachmittags im Stall erhöhen sich die Werte noch einmal signifikant. Dies liesse sich vielleicht wieder mit anaerober Tätigkeit des Digestionstraktes erklären.

Da während der Belastung das Laktat im Plasma unter den Ruhewerten bleibt, handelt es sich zweifellos um aerobe, submaximale Arbeit.

Bei den hier untersuchten Pferden zeigen Laktat und Glucose im Plasma insgesamt eine positive Korrelation ($p < 0,001$; $r = 0,287$), die jedoch bei isolierter Betrachtung der Arbeitswerte nicht vorliegt.

Um im vorliegenden Fall die Fitness eines einzelnen Pferdes anhand der Laktatwerte zu beurteilen, wäre es im Gegensatz zum Training von Rennpferden vermutlich nicht sinnvoll, eine Laktat-Laufgeschwindigkeitskurve (Lindner, 1997) zu erstellen, da ja die Kaltblutpferde nicht auf Geschwindigkeit trainiert werden. Wahrscheinlich liefert ein Vergleich des Plasmalaktats zwischen mehreren Pferden nach einer definierten Belastung den besten Überblick.

5.3.2 Laktat im Speichel

Wie auch bei Gansen et al. (1996) kann in der vorliegenden Untersuchung keine signifikante Korrelation zwischen Plasma- und Speichellaktat nachgewiesen werden, allerdings zeigen die Gesamtwerte eine Tendenz zu einem positiven Zusammenhang ($p=0,076$; $r=0,168$) und eine Korrelation der Messwerte AB_{15} , S_{30} und S_{60} . Im Ganzen nehmen Plasma- und Speichellaktatkurve keinen parallelen Verlauf. Das ist erstaunlich, da in der Literatur des öfteren gute Korrelationen zwischen Blut- und Speichellaktat gefunden wurden (Hata, 1941 beim Hund; Ohkuwa et al., 1995 und Segera et al., 1996 beim Menschen). Da zumindest die o.a. Untersuchungen beim Menschen nach intensiver sportlicher Belastung stattfanden, ist es möglich, dass erst bei hohem Plasmalaktat durch anaerobe Muskelarbeit eine Korrelation mit dem Laktat im Speichel auftritt, insbesondere wenn in den Speicheldrüsen durch anaeroben Stoffwechsel eine gewisse Menge Laktat produziert würde. Mendez et al. (1976) nehmen sogar an, dass das Laktat im Speichel zur Gänze aus dem anaeroben Metabolismus der Speicheldrüsen stammt. Auch diese Möglichkeit könnte zutreffen, da das Speichellaktat im Vergleich zu Segera et al. (1996), die beim Menschen im Speichel regelmässig etwa 15 % des Plasmalaktats finden, hier beim Pferd deutlich höher liegt, zu einigen Messzeitpunkten sogar über den Plasmawerten. Dies könnte aber auch daran liegen, dass Laktat mit einer gewissen Verzögerung aus dem Blut in den Speichel diffundiert. Ben-Aryeh et al. (1989) beobachten beim Menschen eine Verzögerung von etwa 10 Minuten. Dasselbe könnte auch für das Pferd zutreffen, eventuell dauert die Diffusion sogar noch länger, da in dieser Arbeit die meisten Speichellaktatwerte mit den vorangegangenen Plasmawerten eine gute Korrelation aufweisen. Die Messzeiten liegen jeweils zwischen 15 und 30 Minuten auseinander. Ob wirklich eine Diffusionsverzögerung vorliegt, und wie lang diese beim Pferd tatsächlich ist, oder ob es sich um eine Kombination der genannten Theorien handelt, müssten zukünftige Untersuchungen klären. Eine Verwendbarkeit von Speichel zur einfachen und nichtinvasiven Leistungskontrolle wäre ausgesprochen hilfreich; solange jedoch die genauen Zusammenhänge unklar sind, kann eine Analyse von Laktat im Speichel die herkömmlichen Blutproben noch nicht vollständig ersetzen.

5.4 Glucose

5.4.1 Glucose im Plasma

Der Blutzuckerspiegel wird in der Literatur mit 80-120 mg/dl (Kraft und Dürr, 2005), bzw. 50-150 mg/dl (Grimminger-Heigl, 1993) angegeben, bei nüchternen Pferden mit 50-100 mg/dl. Die in diesem Versuch ermittelten Plasmaglucosewerte liegen mit $81,3 \pm 2,6$ mg/dl bis $89,5 \pm 1,4$ mg/dl im Stall während und nach der Futteraufnahme am unteren Rand des Referenzwertes. Dies stimmt mit der Beobachtung von Grimminger-Heigl (1993) überein, dass Kaltblutpferde und Ponies im Schnitt einen niedrigeren Blutzuckerspiegel aufweisen als Warmblüter.

Nach der Bergfahrt fällt die Plasmaglucose durch Verbrauch in der Muskulatur signifikant auf $55,1 \pm 1,7$ mg/dl (AB). Dies beschreibt auch Brock (1992) nach submaximaler Belastung. Dazu passt auch die in der vorliegenden Arbeit beobachtete signifikante negative Korrelation der Plasmaglucose mit der Herzfrequenz ($p < 0,001$; $r = -0,644$), da letztere unter Belastung natürlich ansteigt.

Der Rückgang der Glucosewerte im Plasma kann durch Stress aufgehoben werden, welcher entweder psychisch bedingt ist oder durch sehr hohe physische Anforderungen zustande kommt. Infolge eines Anstiegs von Cortisol und Katecholaminen (Brock, 1992; Schönreiter, 1996) steigt auch der Blutzucker. Es lässt sich in dieser Untersuchung erstaunlicherweise im Gegensatz zu der Untersuchung von Brock (1992), die unter Stress eine positive Korrelation zwischen Glucose und Cortisol im Plasma erwähnt, eine deutliche negative Korrelation ($p < 0,001$; $r = -0,431$) zwischen den genannten Parametern feststellen. Bei isolierter Betrachtung der Arbeitswerte tritt diese Korrelation jedoch nicht auf.

Ebenso schwer zu erklären ist in diesem Zusammenhang, dass in der vorliegenden Arbeit in den Gesamt- und Ruhewerten, jedoch nicht in den Arbeitswerten eine signifikante positive Korrelation zwischen Plasmalaktat und –Glucose auftritt ($p < 0,001$; $r = 0,287$). Bei hoher körperlicher Belastung, die sowohl einen Laktatanstieg als auch über Stress einen erhöhten Blutzuckerspiegel hervorruft, wäre das logisch, mit der negativen Korrelation zwischen Glucose und Cortisol ergibt sich jedoch ein Widerspruch.

Während der Pause auf dem Berg steigen die Glucosewerte innerhalb von 15 Minuten wieder signifikant bis auf $70,51 \pm 2,06$ mg/dl (AB₁₅). Brock (1992) beobachtet nach einem belastungsbedingten Rückgang der Plasmaglucose eine

Erholungszeit von 2 Stunden. Bei den hier untersuchten Pferden ist zwar nach 15 Minuten noch nicht wieder der Ruhewert erreicht, jedoch erfolgt der Anstieg des Blutzuckers so schnell, dass eine kürzere Erholungszeit angenommen werden kann. Da die Laktatwerte immer noch steigen, während nach dem Glucoseabfall durch die Bergfahrt der Blutzucker in der Pause auf dem Berg wieder steigt, könnte dieser parallele Verlauf für die Korrelation verantwortlich sein.

In Verbindung mit Cortisol und der Herzfrequenz kann die Plasmaglucoese dazu herangezogen werden, die physische und psychische Belastung eines Pferdes zu beurteilen.

5.4.2 Glucose im Speichel

Bei den hier untersuchten Pferden wurden im Speichel stark schwankende Glucosewerte gefunden; sie liegen zwischen $1,2 \pm 5,6$ mg/dl (T_2) und $118,2 \pm 15,9$ mg/dl (S_{30}). Die hohen Werte wurden im Stall während oder direkt nach der Futteraufnahme gemessen, in der Arbeitsphase, während der keine Futteraufnahme möglich ist, sinkt der Zuckergehalt des Speichels ständig ab. Aus diesem Verlauf ergibt sich eine signifikante Korrelation zu den Plasmawerten, die ja auch im Stall während des Fressens höher sind als unter Belastung. Allerdings zeigt sich in der Einzelbetrachtung der Messzeiten keine Korrelation, und die Tatsache, dass im Stall der Glucosegehalt des Speichels höher liegt als der des Plasmas, legt den Verdacht nahe, dass die Glucose im Speichel nicht aus dem Blut, sondern direkt aus der Nahrung stammt, etwa aus in Pelletfutter enthaltener Melasse. Dass die Speichelglucose bis zum Ende der Arbeitsphase absinkt und nicht wie der Blutzucker nach Ankunft am Berg wieder steigt, deutet darauf hin, dass die während der Arbeitsphase gemessenen Speichelwerte nur auf Futterreste zurückzuführen sind, die mit zunehmendem zeitlichen Abstand zur Fütterung weniger werden. Es handelt sich bei der Korrelation zwischen Plasma- und Speichelglucose also vermutlich um eine „Scheinkorrelation“.

Ob der nicht mit Futterbestandteilen verunreinigte Pferdespeichel Glucose enthält, ist unklar. Eckersall (1984, 1985) nimmt an, dass Pferdespeichel zuckerfrei ist, auch Rehak et al. (2000) können beim Menschen keine Glucose nachweisen. Dagegen finden andere Autoren beim Menschen (Weber, 1989) und beim Hund (Hata, 1941) Glucose im Speichel. Die Beobachtungen der vorliegenden Untersuchung deuten darauf hin, dass im reinen Pferdespeichel entweder keine oder nur sehr wenig

Glucose vorkommt. Da der Speichel in dieser Arbeit aus organisatorischen Gründen mit den Tupfern eingefroren werden musste und nicht, wie Gough et al. (1996) empfehlen, in Fluoridröhrchen abgefüllt wurde, sind gewisse Verluste durch Glucoseabbau nicht ausgeschlossen. Allerdings wurden die Tupfer nicht bei -20°C , sondern gleich auf Trockeneis bei -78°C eingefroren.

In jedem Fall ist die Speichelglucose diagnostisch uninteressant, da man beim Pferd bei Probenahme aus dem Maul eine Verunreinigung mit Futterresten kaum verhindern kann und eine Speichelentnahme aus der Parotis so invasiv ist, dass sie allenfalls aus wissenschaftlichen Gründen in Frage kommt.

5.5 Laktatdehydrogenase (LDH)

5.5.1 LDH im Plasma

Die LDH-Aktivität im Plasma der hier untersuchten Pferde liegt zwischen 317 ± 23 IU/l (AB_{15}) und 379 ± 33 IU/l (S_{60}). Damit liegen die Werte ziemlich genau im von Grimminger-Heigl (1993) ermittelten Durchschnitt von 351 ± 112 IU/l und unterhalb des Referenzwertes von bis zu 600 IU/l. Die Beobachtung von Grimminger-Heigl (1993), dass Kaltblüter höhere LDH-Werte aufweisen, kann nicht bestätigt werden. Das kann allerdings daran liegen, dass die hier untersuchten Pferde einen guten Trainingszustand aufweisen. Durch Ausdauertraining sinkt die LDH-Aktivität (Guy und Snow, 1977; Essen-Gustavsson et al., 1989).

Am höchsten liegen die Werte nachmittags im Stall (S_{30} und S_{60}), die sich aber nicht signifikant vom 0-Wert am Morgen unterscheiden. Am Anfang der Arbeitsphase sinkt LDH zunächst signifikant gegenüber den 0-Wert ab (T_1), um dann nach der Bergfahrt wieder leicht zu steigen (AB). Innerhalb der nächsten 15 Minuten sinkt der LDH-Wert auf das Minimum (AB_{15}). Die Nachmittagswerte steigen wieder signifikant.

Dieser Verlauf ist nicht eindeutig erklärbar. Der Anstieg nach der Bergfahrt ist verständlich, da nach Belastung sofort ein geringgradiger Aktivitätsanstieg der LDH zu verzeichnen ist (Schmidt, 1979; Art et al., 1990). Der Abfall innerhalb der nächsten 15 Minuten dagegen ist erstaunlich, da nach Anderson (1975) das LDH-Maximum 24 Stunden nach einer Belastung eintreten sollte. Es ist möglich, dass sich bei den untersuchten Pferden Effekte von verschiedenen Belastungen überlagern, da die Tiere jeden Tag etwa 3-4 Mal die Bergstrecke zurücklegen. Womöglich spielt auch ein Tagesrhythmus eine Rolle, da die Nachmittagswerte geringgradig höher

sind. Beim Rind wurde ein Tagesrhythmus für LDH im Blut mit einem Maximum am Nachmittag beobachtet (Hagemeister und Unshelm, 1967).

Grimminger-Heigl (1993) und Klingelhöfer (1998) stellten bei Stuten signifikant höhere LDH-Werte als bei Wallachen und Hengsten fest. In vorliegender Arbeit kann dagegen kein signifikanter Geschlechtsunterschied nachgewiesen werden; das mag daran liegen, dass in den zwei o.a. Studien die Tierzahl sehr viel höher ist.

Wie bei Klingelhöfer (1998) zeigt sich auch in der vorliegenden Studie eine signifikante Korrelation von LDH und CK ($p=0,036$; $r=0,181$), da es sich bei beiden um Enzyme des Muskelstoffwechsels handelt.

Aufgrund des wenig aussagekräftigen Verhaltens der LDH in diesem Versuch scheint sie – zumindest für sich genommen- zur Beurteilung der Belastung der Pferde bei dieser Art von langsamer Arbeit nicht besonders gut geeignet. In anderen Sparten des Pferdesports, vor allem wenn es um Geschwindigkeit geht, hat sich die LDH als nützlicher Leistungsparameter erwiesen (Essen-Gustavsson et al., 1989; 1997).

5.5.2 LDH im Speichel

Für die Aktivität der LDH im Speichel wurden in dieser Arbeit Werte zwischen $31,6 \pm 3,11$ IU/l und $265,7 \pm 50,0$ IU/l gemessen.

Im Gegensatz zu den Plasmawerten liegt die Speichel-LDH während der Arbeit signifikant höher als morgens und nachmittags im Stall. Nach der Fahrt zum Startpunkt im Tal (T_1), der Bergfahrt (AB) und der Talfahrt (T_2) steigt die Speichel-LDH jeweils signifikant gegenüber dem vorhergegangenen Wert an, in der Pause am Berg sinkt sie wieder (AB_{15}), jedoch nicht bis auf den Ruhewert.

Der Verlauf der Speichel-LDH ist völlig anders als der der Plasmawerte und korreliert infolgedessen auch nicht mit diesen. Interessanterweise beschreibt die Speichel-LDH-Kurve sehr gut den Ablauf von Ruhe- und Belastungsphasen und korreliert signifikant mit der Herzfrequenz ($p<0,001$; $r=0,476$). In der Literatur herrscht jedoch die Auffassung vor, dass zumindest beim Menschen die LDH im Speichel nicht oder nur zu geringen Teilen aus dem Blut stammt (Rehak et al., 2000; Nagler et al., 2000). Da in dem Versuch von Rehak et al. (2000) beim Menschen die Speichelwerte die Serumwerte übersteigen, muss zumindest ein Teil der LDH im Speichel aus den Speicheldrüsen oder der Mundhöhle stammen. In der vorliegenden Arbeit liegt die Speichel-LDH dagegen deutlich unter den Plasmawerten. Da Alonso de la Pena et

al. (2004) einen Aktivitätsverlust der LDH im menschlichen Speichel durch Einfrieren beschreiben, ist es natürlich möglich, dass die Werte ursprünglich höher lagen. Ein weiterer wichtiger Hinweis auf die Herkunft der LDH im menschlichen Speichel ist das Isoenzymmuster, welches nicht dem des Blutes, sondern eher dem des Mundepithels entspricht (Nagler et al., 2000). Da es beim Pferd bisher keine Literatur über die Speichel-LDH gibt, und in dieser Arbeit keine Isoenzyme bestimmt wurden, ist es bisher nicht möglich, die Herkunft der LDH im Pferdespeichel zu klären. Bis dahin kann die LDH- Bestimmung im Speichel noch nicht im diagnostischen Sinne verwendet werden. Auch aufgrund der Korrelation mit der Herzfrequenz wäre eine weitere Untersuchung von Interesse.

5.6 Kreatinin

5.6.1 Kreatinin im Serum

Die in dieser Arbeit gemessenen Kreatininwerte im Serum liegen innerhalb des von Kraft und Dürr (2005) mit 0,8-1,8 mg/dl angegebenen Referenzbereiches. Damit sind die Kreatininwerte beim Pferd deutlich höher als beim Menschen und zeigen im Gegensatz zum Menschen (Herold, 2005) keinen Geschlechtsunterschied.

Sie reichen von $1,2 \pm 0,02$ mg/dl am Morgen (0) bis $1,35 \pm 0,05$ mg/dl (S₃₀) am Nachmittag. Vom niedrigsten Wert am Morgen (0) steigt das Serumkreatinin während der Arbeitsphase; AB, AB₇ und AB₁₅ liegen annähernd gleich. Am Nachmittag im Stall (S₃₀) erfolgt noch einmal ein signifikanter Anstieg gegenüber den Arbeitswerten. Innerhalb der nächsten 30 Minuten (S₆₀) fällt der Wert wieder signifikant.

Da körperliche Belastung zu einem Kreatininanstieg im Blut führt (Valberg et al., 1989; Aguera et al., 1995), sind die höheren Messwerte in der Arbeitsphase gut nachzuvollziehen. Der darauf folgende Anstieg nach Rückkehr in den Stall widerspricht jedoch der Aussage von Aguera et al. (1995), dass nach einer Belastung der Kreatininspiegel innerhalb von 30 Minuten wieder auf den Ruhewert fällt. Auch die Tatsache, dass Kreatinin nach Ende der Belastung noch weiter steigt, entspricht nicht den Angaben aus der Literatur (Valberg et al., 1989). Der Grund für den Anstieg des Kreatinins im Serum unter Belastung ist nach wie vor nicht völlig geklärt; einige Autoren vermuten darin ein Anzeichen für eine reduzierte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) aufgrund von Flüssigkeitsverlust und verringerter

Nierendurchblutung (Rose et al., 1980; Williamson et al., 1996). In Anbetracht der Tatsache, dass ein renal bedingt über dem Referenzwert liegender Kreatiningehalt darauf hindeutet, dass 50 % des Nierengewebes nicht mehr arbeiten (Hacklechner, 1993), erscheint dies unwahrscheinlich. Auch McKeever et al. (1991) beweisen, dass submaximale Belastungen die GFR nicht beeinflussen. Eine andere Möglichkeit ist eine verstärkte Spaltung von Kreatinphosphat durch die Muskelarbeit (Valberg et al., 1989).

Um Kreatinin als Leistungsparameter auszuwerten, müsste noch genauer geklärt werden, warum es unter Belastung steigt und wie die Halbwertszeit im Blut ist. Als Mass für den Trainingsfortschritt ist es ungeeignet, da es während des Trainings keinen gerichteten Verlauf zeigt (Kallweit et al., 1996). Bewährt ist Kreatinin als erster Anhaltspunkt für die Nierenfunktion. Erwartungsgemäss korreliert das Serumkreatinin deutlich mit dem Serumharnstoff, da beide als Endprodukte des Muskelstoffwechsels anfallen.

5.6.2 Kreatinin im Speichel

Im Speichel werden bei den hier untersuchten Pferden Kreatininwerte zwischen $0,16 \pm 0,01$ mg/dl (AB₁₅) und $0,50 \pm 0,09$ mg/dl (S₃₀) erreicht. Wie beim Menschen sind die Kreatininwerte im Speichel also niedriger als im Serum. Da es noch keine Literatur über Speichelkreatinin beim Pferd gibt, fehlen hier die Vergleichsmöglichkeiten. Der Verlauf der Kurve ist ungerichtet und schwankt; im Gegensatz zum Serum liegen die niedrigsten Ergebnisse in der Arbeitsphase. Der höchste Wert ist wie im Serum S₃₀. Insgesamt weisen Serum- und Speichelkreatinin keine signifikante Korrelation auf, auch nicht in den einzelnen Messzeiten. Auch beim Menschen beobachten Chiou und Pu (1979) sehr stark zwischen Individuen und Messzeiten schwankende Speichelkreatininwerte. Lloyd et al. (1996) können bei gesunden Menschen ebenfalls keine Beziehung zwischen Serum- und Speichelkreatinin feststellen, während die Werte bei Nierenkranken korrelieren. Ob dies auch beim Pferd zutrifft, wäre noch zu untersuchen.

Über die Kreatininmenge im menschlichen Speichel im Vergleich zum Blut gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben; Chiou und Pu (1979) finden im Speichel etwa 10 % der Kreatininmenge im Blut, Lloyd et al. (1996) 10-15 %, Chiou et al. (1977) beobachten starke Schwankungen zwischen 3,3 % und 22,2 %. Die von Rehak et al. (2000) erwähnten Referenzwerte für Speichel liegen bei etwa 50 % der

Referenzwerte für Blut (Herold, 2005). Die in dieser Arbeit beim Pferd gemessenen Speichelwerte erreichen je nach Messzeit zwischen 12,5 % und 35 % der Serumwerte.

Wegen der fehlenden Korrelation mit dem Serumkreatinin ist in diesem Fall kein Ersatz der Blutproben durch Speichelproben möglich.

5.7 Harnstoff

5.7.1 Harnstoff im Serum

In der Literatur wird der Harnstoff im Serum für das Pferd mit 20-40 mg/dl (3,3-6,7 mmol/l) angegeben (Kraft und Dürr, 2005). Hacklechner (1993) stellt einen signifikanten Einfluss der Fütterung fest und unterscheidet zwischen Pferden mit Grasfütterung (24-60 mg/dl) und Heufütterung (19-46 mg/dl). Die in dieser Arbeit untersuchten Pferde haben keinen regelmässigen Weidegang und liegen mit Werten zwischen $31 \pm 1,3$ mg/dl und $36 \pm 2,0$ mg/dl im Normbereich. Der niedrigste Wert wurde am Morgen (0), der höchste direkt nach der Bergfahrt (AB) gemessen, was der Beobachtung von Rose et al. (1980) entspricht, dass der Harnstoff im Blut nach Belastung signifikant steigt.

Das bestätigt auch die bei den hier untersuchten Pferden festgestellte signifikante Korrelation des Serumharnstoffs mit der Herzfrequenz.

Während der 15-minütigen Pause fallen die Werte wieder signifikant (AB_7 , AB_{15}), um dann am Nachmittag im Stall wieder leicht zu steigen (keine Signifikanz). Der leichte Anstieg am Nachmittag könnte ev. auf eine Tagesrhythmik zurückzuführen sein. Dergleichen ist zwar für das Pferd bisher nicht bekannt, jedoch beschreiben Hagemeister und Unshelm (1969) beim Rind einen Harnstoff-Tagesrhythmus mit Peaks zwischen 8 und 10 sowie 16 und 18 Uhr.

Da sich die Harnstoffwerte durch Training nicht verändern, ist dieser Parameter zur Kontrolle des Trainingsfortschritts nicht geeignet, eher zur Beurteilung der körperlichen Belastung und, wie Kreatinin, als erster Anhaltspunkt zur Beurteilung der Nierenfunktion.

5.7.2 Harnstoff im Speichel

Die hier im Speichel gemessenen Harnstoffwerte liegen zwischen $21 \pm 1,7$ mg/dl (S_{45}) und $50 \pm 5,9$ mg/dl (AB). Damit übersteigen sie deutlich die von Eckersall (1984, 1985) beim Pferd beobachteten Werte von 6,54 mg/dl, bzw. 9,6 mg/dl. Beim

Menschen werden etwa 27 ± 9 mg/dl erreicht (Rehak et al., 2000). Am niedrigsten liegen die Stallwerte morgens und abends (0, S₃₀, S₄₅, S₆₀), die sich voneinander nicht signifikant unterscheiden. Bereits T₁ liegt signifikant über dem Morgenwert (0), dann steigt der Speichelharnstoff nach der Bergfahrt noch einmal signifikant auf den Maximalwert AB, fällt innerhalb der nächsten 15 Minuten wieder deutlich ab (AB₁₅) und steigt nach der Talfahrt wieder signifikant (T₂). Anscheinend reagiert der Harnstoff im Speichel deutlich auf Belastung. Interessanterweise übersteigt der Maximalwert AB im Gegensatz zu allen anderen Messwerten sogar den entsprechenden Serumwert. Das wirft die Frage auf, ob der Harnstoff im Speichel womöglich nicht vollständig aus dem Blut stammt. Möglicherweise lässt sich der hohe Wert (AB) auch durch einen aktiven Transportmechanismus erklären.

Indes zeigt der Speichelharnstoff hier eine gute Korrelation zum Serumharnstoff, auch die einzelnen Zeiten korrelieren zum grössten Teil. In der Literatur deutet ebenfalls nichts darauf hin, dass es andere Quellen für Speichelharnstoff als den Harnstoff im Blut geben könnte. Beim Menschen wurden im Speichel 90 % des Serumharnstoffs gemessen (Rehak et al., 2000), beim Schaf 60-74 % (Cirio et al., 2000). Sowohl beim Menschen (Akai et al., 1983) wie auch bei Hund (Watanabe et al., 1984) und Schaf (Boivin und Bost, 1977) korrelieren Serum- und Speichelwerte deutlich. Beim Pferd gibt es bisher in der Literatur keine Untersuchung, die Harnstoff in Blut und Speichel vergleicht. Aufgrund der hier gefundenen guten Korrelationen könnte eine weitere Untersuchung zu Harnstoff im Speichel lohnen, da hier möglicherweise die Blutproben tatsächlich durch Speichelproben ersetzt werden könnten.

5.8 Kreatinkinase (CK)

5.8.1 CK im Serum

Die Kreatinkinase im Serum liegt bei den Pferden in diesem Versuch mit 75 ± 5 IU/l (AB₁₅) bis 96 ± 7 IU/l (S₆₀) innerhalb des von Kraft und Dürr (2005) mit bis zu 130 IU/l, bzw. von Grimminger-Heigl (1993) mit bis zu 150 IU/l angegebenen Referenzbereiches. Eine Tendenz zu höheren CK-Werten bei Kaltblütern, wie sie Grimminger-Heigl (1993) findet, kann hier nicht bestätigt werden.

Die Nachmittagswerte im Stall liegen am höchsten, wobei sich S_{30} einzig von dem vorangegangenen Minimalwert AB_{15} signifikant unterscheidet. Bei S_{60} zeigt sich zusätzlich ein signifikanter Unterschied zu AB_7 und 0. Die restlichen Werte liegen so nah zusammen, dass sie sich nicht signifikant unterscheiden. Die höheren Messwerte am Nachmittag stimmen mit der Studie von Schmidt und Schmidt (1980) überein, die im Serum von Warmblutpferden nachmittags signifikant höhere CK-Werte beobachten als vormittags. Da die CK nach anaerober Belastung (Essen-Gustavsson et al., 1984), auch durch Zugarbeit (Perez et al., 1996), steigt und dabei das Maximum erst nach 6-12 Stunden erreicht wird (Klingelhöfer, 1998), könnte auch das der Grund für die höheren Nachmittagswerte sein. Ein Beginn des CK-Anstiegs wenige Minuten nach der Arbeit, wie ihn Art et al. (1990) beschreiben, und ein weiterer Anstieg während der Ruhephase (Williamson et al., 1996) kann hier nicht festgestellt werden. Im Gegenteil, der Wert nach der Bergfahrt (AB) liegt etwas niedriger als T_1 und die CK sinkt während der Erholungsphase (AB_7 , AB_{15}) noch geringfügig ab. Die fehlende Erhöhung von CK nach der Bergfahrt deutet darauf hin, dass die Arbeit nicht oder kaum im anaeroben Bereich stattfindet, sowie auf einen guten Trainingszustand der Pferde, da durch Training die CK nach Belastung nicht mehr so stark ansteigt (Munoz et al., 2002; Perez et al., 1996).

Bei den hier untersuchten Pferden kann, wie bei Grimminger-Heigl (1993), im Gegensatz zu Harris et al. (1990, 1998) keine Geschlechtsabhängigkeit nachgewiesen werden. Es besteht aber eine signifikante negative Korrelation der CK mit dem Alter, die Grimminger-Heigl (1993) nicht feststellt und Harris et al. (1998) nur bei männlichen Tieren beobachten können. Mit der LDH lässt sich eine signifikante positive Korrelation der Gesamtwerte nachweisen (siehe LDH im Plasma), was sich mit den Ergebnissen von Klingelhöfer (1998) deckt. Obwohl die beiden Kurven einen annähernd gleichen Verlauf nehmen, erreichen die einzelnen Messzeiten allerdings keine Signifikanz, was an der verhältnismässig geringen Tierzahl ($n=20$) liegen kann. Mit Harnstoff zeigt die CK in dieser Untersuchung interessanterweise eine negative Korrelation ($p=0,047$; $r=-0,172$). Von den einzelnen Messzeiten korreliert hier AB_{15} , ausserdem zeigen 0 und S_{30} eine Tendenz zu einem negativen Zusammenhang.

Die Kreatinkinase ist, wie die Literatur zeigt, ein brauchbarer Parameter zur Kontrolle des Trainingsfortschritts (Anderson, 1975; Harris et al., 1998) und der Intensität der Belastung (Rose et al., 1983; Andrews et al., 1995; Williams et al., 2004), sofern man die Proben nicht zu früh nach der Arbeit nimmt, da aufgrund des verzögerten

Anstiegs der CK dann möglicherweise noch keine aussagekräftigen Werte erreicht werden (Krzywanek et al. 1996, Kallweit et al. 1996). Am günstigsten müsste eine Entnahme der Proben etwa 6 Stunden nach Ende der Belastung sein (Klingelhöfer, 1998). Für die Beurteilung von aerober Arbeit eignet sich die CK nur bedingt, da diese keine ausreichend hohen Anstiege des Enzyms verursacht.

5.8.2 CK im Speichel

Die hier gemessenen CK-Werte im Speichel sind mit $1,4 \pm 0,18$ (AB₁₅) bis $2,8 \pm 0,54$ (AB) sehr gering und unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Sie zeigen auch keine signifikante Korrelation mit der Serum-CK. Obwohl es zur CK im Pferdespeichel bisher keine Literatur gibt, deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass es sich beim Pferd wie beim Menschen verhält und die CK im Speichel aus Verunreinigungen durch abgeschilferte Mundepithelzellen und kleine Blutungen der Mundschleimhaut stammt (Petrovich et al., 1996), da im menschlichen Speicheldrüsensekret keine CK vorkommt. Mit einem Molekulargewicht von ca. 80.000 (Klingelhöfer, 1998) kann die CK auch nicht passiv in den Speichel diffundieren, da die tight junctions zwischen den Azinuszellen der Speicheldrüsen nur Moleküle mit einem Molekulargewicht bis etwa 300 durchlassen. Aufgrund der geringen Messwerte im Speichel ist die Existenz eines spezifischen Transportmechanismus nicht anzunehmen.

Die CK im Speichel ist also diagnostisch nicht verwertbar und für diesen Parameter sind Speichelproben kein Ersatz für Blutuntersuchungen.

5.9 Cortisol

5.9.1 Cortisol im Serum

In der Literatur werden basale Serumcortisolwerte von 50-200 nmol/l (Irvine und Alexander, 1994), bzw. 30-120 nmol/l (Lebelt et al., 1996) oder 89-204 nmol/l bei Vollblütern (Van Heerden et al., 1990) angegeben. Die hier gemessenen Basalwerte liegen mit $139,50 \pm 9,34$ nmol/l am Nachmittag (S₆₀) und $229,56 \pm 12,89$ nmol/l am Morgen (0) relativ hoch. Die Arbeitswerte unterscheiden sich nicht signifikant vom morgendlichen Basalwert (0). T₁ und AB liegen etwas unter dem 0-Wert, AB₇ und AB₁₅ übersteigen ihn. Der Cortisolgehalt im Serum ist am Nachmittag signifikant geringer als am Morgen und während der Arbeitsphase am Vormittag. Damit zeigen

die Messungen, wie von Toutain et al. (1988) und Lebelt (1996) beschrieben, einen, von der Belastung unabhängigen, deutlichen Tagesrhythmus. Die Erhöhung des Serumcortisols in der Arbeitsphase ist eine Reaktion auf die körperliche Belastung (Snow und Rose, 1981). Das Cortisol steigt aber nicht signifikant über das Niveau des morgendlichen Basalwertes (0), was darauf hindeutet, dass die Belastung relativ gering ist. Die niedrigen Werte direkt vor (T_1) und nach der Bergfahrt (AB) sind vermutlich mit dem abfallenden Verlauf des Tagesrhythmus zu begründen, der möglicherweise sogar den belastungsbedingten Anstieg teilweise verdeckt (Brandenberger und Follenius, 1975).

Dass sich erst 7 Minuten nach Ankunft am Berg (AB_7) ein Cortisolanstieg messen lässt, dürfte darauf zurückzuführen sein, dass der maximale Cortisolwert erst 5-30 Minuten nach einer Belastung erreicht wird (Nagata et al., 1999).

Das ungewöhnlich hohe Basalniveau ist schwer zu erklären; es könnte eventuell durch Stress infolge der Ständerhaltung oder durch die Blutentnahmen zustandekommen. Andererseits müsste Stress den Tagesrhythmus aufheben (Irvine und Alexander, 1994), was hier nicht der Fall ist. Eine andere Möglichkeit wäre ein trainingsbedingt hohes Ruhecortisol (Persson et al., 1980). Die am Morgen gemessenen Werte liegen dabei noch über denen, die Alexander et al. (1991) als Ruhecortisol für gut trainierte Vollblüter angeben. Da in der Literatur keine Referenzwerte für Cortisol bei Kaltblütern vorliegen, wäre es auch noch möglich, dass es rassebedingte Unterschiede gibt, was in weiteren Versuchen zu klären wäre. In der vorliegenden Untersuchung treten die in der Literatur erwähnten positiven Korrelationen zwischen Serumcortisol und Herzfrequenz (Covalesky et al., 1992), Laktat (Port, 1991) nur in der isolierten Betrachtung der Ruhewerte auf. Im Gegensatz zur Untersuchung von Brock (1992) korreliert das Serumcortisol hier negativ mit der Plasmagluucose.

Die Serumcortisolbestimmung ist als diagnostische Methode durchaus bewährt. In dieser Arbeit hat sich allerdings gezeigt, dass Serumcortisol als Parameter für körperliche Belastung beim Pferd etwas schwierig auszuwerten ist, da es von verschiedenen zum Teil schwer zu differenzierenden Faktoren wie Stresseinwirkung, verzögertem Anstieg nach Arbeit und dem Verlauf des Tagesrhythmus beeinflusst wird.

5.9.2 Cortisol im Speichel

In der vorliegenden Studie bewegen sich die Speichelcortisolkonzentrationen zwischen $0,51 \pm 0,10$ nmol/l (S_{60}) und $1,85 \pm 0,22$ nmol/l (AB). Sie liegen dabei in einer ähnlichen Grössenordnung wie bei Licht (2000) mit $0,85 \pm 0,34$ nmol/l und $1,93 \pm 1,00$ nmol/l. Wegen des höheren Serumcortisols entspricht das Speichelcortisol bei den hier untersuchten Pferden nur etwa 0,4-0,8 % der Cortisolkonzentration im Serum, während Lebelt et al. (1996) 3-5 % finden. Da nur das freie Cortisol in den Speichel übertritt (Vining und McGinley, 1987), könnte möglicherweise bei den hier untersuchten Pferden ein grösserer Anteil des Cortisols im Blut an corticosteroid binding globulin (CBG) gebunden vorliegen, so dass im Vergleich zum Gesamtcortisol der freie Anteil geringer ist. Sollte dies zutreffen, deutet es darauf hin, dass die Pferde nicht unter dauerhaftem Stress stehen, da sonst die Bindungskapazität des CBG nachliesse (Irvine und Alexander, 1994), deshalb mehr Cortisol frei würde und auch mehr im Speichel auftauchen würde. Insgesamt zeigen hier Serum- und Speichelcortisol wie bei Lebelt et al. (1996) eine signifikante Korrelation. Bei Betrachtung der Einzelwerte fällt auf, dass die Ruhewerte morgens und nachmittags im Stall korrelieren, nicht aber die Messwerte der Arbeitsphase. In diesem Bereich weichen die ansonsten gleich verlaufenden Kurven von Serum- und Speichelcortisol voneinander ab. Im Gegensatz zum Serum, dessen Kurve vom 0-Wert über T_1 bis AB fällt und erst dann wieder ansteigt, liegt im Speichel T_1 höher als der 0-Wert, und AB stellt das Maximum dar. AB_{15} liegt im Speichel signifikant unter AB, und nach der Talfahrt (T_2) steigt die Kurve wieder signifikant.

Die Nachmittagswerte liegen wieder wie im Serum signifikant niedriger. Auch im Speichel zeigt sich also ein deutlicher Tagesrhythmus, wie auch Lebelt et al. (1996) und Licht (2000) beobachten. Warum die Arbeitsphase sich in Serum und Speichel so unterschiedlich verhält, ist schwer zu erklären. Möglicherweise ist das Speichelcortisol, dessen Arbeitswerte sich im Gegensatz zum Serumcortisol signifikant voneinander unterscheiden, der bessere Messwert. Wenn dies zutrifft, bedeutet das allerdings, dass, weil das Speichelcortisol aus dem Blut stammt, der Anstieg des Cortisols nicht nur im Speichel, sondern auch im Serum unmittelbar erfolgen und, anstatt nach Ende der Arbeit noch weiter zu steigen (Nagata et al., 1999), innerhalb von 15 Minuten bereits wieder sinken müsste. Licht (2000) beobachtet einen solchen Verlauf im Speichel nach Belastung.

Nach den Ergebnissen dieser Arbeit zu urteilen, gibt Speichelcortisol den Tagesrhythmus des Cortisols im Blut gut wieder und scheint sogar zur Beurteilung von submaximaler körperlicher Belastung besser geeignet als das Serumcortisol. Da sich der Verlauf der beiden Kurven jedoch während der Arbeitsphase unterscheidet, wäre es allerdings von Interesse, die Gründe für diese Abweichung zu klären, bevor das Speichelcortisol als zuverlässiger Belastungsparameter eingestuft werden kann.

5.10 Korrelation verschiedener Blutparameter

5.10.1 Plasmaglucose und Herzfrequenz

Die *Herzfrequenz* korreliert negativ mit der *Plasmaglucose* ($p < 0,001$; $r = -0,644$), was wohl durch den Verbrauch von Glucose während der Belastung, die sich in der Herzfrequenz zeigt, zustande kommt (Brock, 1992). Diese Korrelation tritt nur in den Gesamtwerten und in der gemeinsamen Betrachtung der Arbeitswerte auf, die einzelnen Zeiten und die Ruhewerte korrelieren nicht.

5.10.2 Plasmaglucose und Plasmalaktat

Das *Plasmalaktat* korreliert positiv mit der *Plasmaglucose* ($p < 0,001$; $r = 0,287$). Stress durch hohe körperliche Belastung oder auch psychische Anspannung während der Arbeit könnte dazu führen, dass sowohl Laktat durch anaerobe Muskelarbeit als auch Glucose infolge einer Cortisol- und Katecholaminerhöhung ansteigen (Brock, 1992; Schönreiter, 1996). Da aber die *Plasmaglucose* hier negativ mit *Serumcortisol* korreliert, ist das nicht möglich. Lacombe et al. (1999) stellen bei starker Entleerung der Glykogenspeicher durch wiederholte intensive Belastung eine verringerte Laktatanhäufung bei weiterer anaerober Arbeit fest. Dies müsste auch wegen Substratmangels einen negativen Effekt auf den Blutzuckerspiegel haben. Im vorliegenden Fall kommt diese Erklärung jedoch auch nicht in Frage, da es sich um eine verhältnismässig geringe, vorwiegend aerobe Belastung handelt. Die Korrelation beschränkt sich auf die Gesamtwerte sowie die gemeinsame Betrachtung der Ruhewerte und trifft auf keine der einzelnen Messzeiten zu.

5.10.3 Plasmaglucoose und Serumcortisol

Eine negative Korrelation der *Plasmaglucoose* mit dem *Serumcortisol* ($p < 0,001$; $r = -0,431$), wie sie in der vorliegenden Arbeit festgestellt wurde, ist unter Stress nicht möglich, da dann üblicherweise eine positive Korrelation dieser Parameter vorliegt. Diese kommt dadurch zustande, dass unter Stress ACTH ausgeschüttet wird, was sowohl einen erhöhten Cortisol- als auch Katecholaminspiegel zu Folge hat. Die Katecholamine bewirken eine verringerte Insulin- und erhöhte Glukagonausschüttung, was zu einem erhöhten Blutzucker führt (Brock, 1992).

Dies legt die Schlussfolgerung nahe, dass im vorliegenden Fall die Pferde weder psychischem noch physischem Stress unterliegen und möglicherweise eine geringe Anstrengung, die zum Verbrauch von Plasmaglucoose führt, zwar einen leichten Cortisolanstieg, aber noch keine Katecholaminfreisetzung bewirkt.

Bei den einzelnen Messzeiten ergibt sich für Plasmaglucoose und Serumcortisol keine signifikante Korrelation.

5.10.4 Serumharnstoff und Herzfrequenz

Herzfrequenz und *Serumharnstoff* korrelieren positiv ($p = 0,006$; $r = 0,308$), was auf einen stärkeren Proteinkatabolismus bei Belastung zurückzuführen sein dürfte (Hacklechner, 1993). Um den erhöhten Bedarf an Brennstoffen zur Energiegewinnung zu decken, werden auch Proteine verstoffwechselt. Aus dem beim Abbau der Aminosäuren entstehenden toxischen NH_4^+ wird im Harnstoffzyklus über verschiedene Zwischenstufen der ungiftige Harnstoff synthetisiert (Stryer, 1991), der dann primär über die Niere ausgeschieden wird. Die Korrelation zeigt sich ebenfalls in der gemeinsamen Betrachtung der Ruhewerte ($p = 0,007$; $r = 0,596$) und der Arbeitswerte ($p = 0,011$; $r = 0,329$). Von den einzelnen Messzeiten korreliert jedoch interessanterweise nur T_1 .

5.10.5 Serumharnstoff und Serumkreatinin

Kreatinin zeigt eine positive Korrelation mit *Harnstoff* ($p = 0,012$; $r = 0,216$). Beide Werte fallen im Muskelstoffwechsel an. Kreatinphosphat wird zu Kreatin und schliesslich zu Kreatinin abgebaut, und Harnstoff ist ein Endprodukt des Aminosäurenstoffwechsels. In diesem Fall ist der 0-Wert als einzige Messzeit signifikant, in beiden Fällen handelt es sich dabei um den niedrigsten Wert.

5.10.6 Serumharnstoff und Serum-CK

Harnstoff korreliert negativ mit *CK* ($p=0,047$; $r=-0,172$). Hier ist als Einzelmesszeit nur AB_{15} signifikant. Dieser Zusammenhang wurde in der Literatur bisher nicht beschrieben und ist kaum zu erklären. Möglicherweise handelt es sich um einen zufälligen Wert, zumal auch p am oberen Rand des Signifikanzniveaus liegt.

5.10.7 Serum-CK und Alter

Die *CK* korreliert negativ mit dem *Alter* der Pferde ($p<0,001$; $r=-0,352$). Da die Pferde in der Mehrzahl noch kein sehr hohes Alter erreicht haben, deutet diese Korrelation wohl darauf hin, dass die Tiere mittleren Alters schon besser im Training stehen als die Jungpferde und daher geringere *CK*-Werte aufweisen. Die *CK* steigt nach Ausdauertraining unter Belastung nicht mehr so hoch an (Harris et al., 1998).

5.10.8 Serum-CK und Plasma-LDH

LDH korreliert positiv mit *CK* ($p=0,036$; $r=0,181$), da beide Enzyme des Muskelstoffwechsels sind und unter Belastung, auch bei Zugarbeit (Perez et al., 1996), steigen. Eine Korrelation zwischen *CK* und *LDH* tritt häufig auf (Klingelhöfer, 1998). Bei beiden Enzymen beginnt der Anstieg sofort (Schmidt, 1979), das Maximum wird bei der *LDH* später als bei der *CK* (Anderson, 1975; Klingelhöfer, 1998) erreicht. Bei beiden Enzymen könnte eine Tagesrhythmik mit höheren Werten am Nachmittag vorliegen (Schmidt und Schmidt, 1980; Hagemeister und Unshelm, 1967). Trotz ähnlichen Kurvenverlaufs sind die einzelnen Messzeiten hier erstaunlicherweise nicht signifikant.

5.11 Korrelation verschiedener Speichelparameter

Unter den Korrelationen der Speichelwerte fallen besonders auf:

5.11.1 Herzfrequenz und Speichelcortisol

Die *Herzfrequenz* korreliert positiv mit *Speichelcortisol* ($p=0,016$; $r=0,311$), was auch Licht (2000) feststellen kann, obwohl interessanterweise das Serumcortisol keine signifikante Korrelation mit der Herzfrequenz aufweist. Dieser Zusammenhang zeigt, dass die Speichelcortisolkonzentration auf körperliche Belastung reagiert. Da

Speichelcortisol die freie Cortisolfraktion im Blut widerspiegelt (Vining und McGinley, 1987) und diese unter Belastung steigt, zeigt das freie Cortisol - und damit auch das Speichelcortisol - einen prozentual höheren Anstieg als das Gesamtcortisol im Serum (Lebelt et al. 1996), der deswegen vermutlich eher signifikant ausfällt. Einzelne Zeiten korrelieren jedoch nicht.

5.11.2 Herzfrequenz und Speichelharnstoff

Auch mit dem *Speichelharnstoff* korreliert die *Herzfrequenz* deutlich positiv ($p < 0,001$; $r = 0,570$). Da auch zwischen Herzfrequenz und Serumharnstoff ein signifikanter Zusammenhang besteht, und auch die Serum- und Speichelwerte von Harnstoff deutlich korrelieren, ist dies gut nachvollziehbar. Wie beim Serumharnstoff ist auch hier T_1 signifikant. In dieser Korrelation zeigt sich eine Abhängigkeit der Harnstoffkonzentration von der körperlichen Belastung, die für den Serumharnstoff bereits beschrieben wurde (Rose et al., 1980) und anscheinend auch auf den Speichelharnstoff zutrifft.

5.11.3 Speichellaktat und Speichelcortisol

Speichellaktat korreliert - im Gegensatz zu den nicht signifikanten Blutwerten - mit *Speichelcortisol* ($p = 0,031$; $r = 0,176$). Hier ist nur der Wert 60 Minuten nach Rückkehr zum Stall (S_{60}) signifikant. Eine Korrelation von Laktat und Cortisol wäre verständlich, da sowohl durch anaerobe Muskelarbeit Laktat im Blut ansteigt, als auch körperliche Belastung eine Cortisolausschüttung bewirkt. Trotzdem korrelieren die beiden Werte im Blut meist nicht (Covalesky et al., 1992; Nagata et al., 1999), während Laktat sowohl mit ACTH und Katecholaminen einen deutlichen Zusammenhang zeigt. Dies mag daran liegen, dass der Cortisolspiegel im Gegensatz zu den Katecholaminen weniger von der Arbeitsintensität als der Arbeitsdauer abhängt (Nagata et al., 1999). Laktat hingegen wird mehr durch die Intensität der Arbeit beeinflusst (Desmecht et al., 1996). Über die Zusammenhänge von Laktat und Cortisol im Speichel beim Pferd liegt keine Literatur vor. Beim Menschen kann Port (1991) nach submaximaler Belastung sowohl im Serum als auch im Speichel eine positive Korrelation zwischen Cortisol und Laktat nachweisen. Dass auch im vorliegenden Fall die Werte im Speichel korrelieren, könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Arbeit der Pferde sowohl in der Dauer als auch in der Intensität im mittleren Bereich liegt.

5.11.4 Speichellaktat, Speichelharnstoff und Speichelkreatinin

Speichellaktat zeigt ausserdem eine signifikante Korrelation mit *Speichelharnstoff* ($p=0,009$; T_1 und S_{30} signifikant) und *-Kreatinin* ($p=0,022$; T_1 signifikant), die übrigens auch untereinander korrelieren ($p=0,017$; T_1 , AB, T_2 signifikant). Alle drei Werte stammen aus dem Muskelstoffwechsel und steigen auch schon unter submaximaler Belastung an (Valberg et al., 1989).

5.11.5 Speichelharnstoff und Speichelcortisol

Speichelharnstoff korreliert mit *Speichelcortisol* ($p<0,001$; 0, AB, AB₁₅, S₄₅ signifikant). Auch hier handelt es sich um zwei belastungsabhängige Parameter, deren Korrelation, auch zumal viele einzelne Messzeiten signifikant sind, durchaus plausibel ist. Es ist allerdings ungewöhnlich, dass diese Korrelation im Blut nicht auftritt. Dies könnte bedeuten, dass der Speichel für die Bestimmung von Belastungsparametern das bessere Medium darstellt.

5.11.6 Speichel-LDH

Die *Speichel-LDH* korreliert interessanterweise, ausser mit Kreatinin, mit sämtlichen anderen Speichelparametern sowie der *Herzfrequenz* ($p<0,001$; keine signifikanten Einzelzeiten). Im Einzelnen sind das: *Speichellaktat* ($p=0,015$; S₃₀ signifikant), *Speichelcortisol* ($p<0,001$; AB und S₄₅ signifikant), *Speichel-CK* ($p<0,001$; T_1 , AB, AB₁₅, T_2 signifikant), *Speichelglucose* ($p<0,001$; T_1 signifikant) und *Speichelharnstoff* ($p<0,001$; T_1 , AB, AB₁₅, S₃₀, S₄₅ signifikant). Da alle diese Werte Belastungsparameter sind, die bei Arbeit ansteigen (s.o.), ist dies nachvollziehbar. Die Herzfrequenz zeigt auch im Blut mit der LDH eine Tendenz zur Korrelation, die aber dort nicht signifikant ist. Dass diese im Speichel das Signifikanzniveau erreicht, spricht dafür, dass die LDH-Aktivität im Speichel im Zusammenhang mit der Belastung steht. Diesen Eindruck vermittelt auch der Verlauf der Speichel-LDH-Kurve, obwohl LDH in Plasma und Speichel nicht korreliert. Dies scheint der Theorie zu widersprechen, dass die Speichel-LDH beim Pferd wie beim Menschen (Rehak et al., 2000; Nagler et al., 2000) nicht aus dem Blut, sondern aus abgeschilferten Zellen des Mundepithels stammt. Auch die Korrelation mit anderen Belastungsparametern spricht gegen diese Herkunft der LDH im Speichel.

5.12 Abschliessende Betrachtungen

Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie hat sich die Belastung der Pferde durch die hier geleistete Zugarbeit als gering erwiesen, und es liegt trotz der erheblichen Steigung und der relativ hohen Zuglast keine Überbeanspruchung der Tiere vor. Im Sommer ist aufgrund der Temperatur eine höhere Belastung der Pferde als während des Untersuchungszeitraums zu erwarten (Marr et al., 1999). Jedoch setzt innerhalb von etwa 15 Tagen eine Adaptation an Hitze und hohe Luftfeuchtigkeit ein (Marlin et al., 1999). Sofern den Pferden eine Akklimatisierung ermöglicht wurde, konnten selbst bei Turnierpferden, die per Flugzeug in ein Land mit heisserem Klima transportiert wurden, keine nachteiligen Folgen für Gesundheit und Fitness festgestellt werden (Marlin et al., 2001). Die untersuchten Parameter (Herzfrequenz, Laktat, LDH, Glucose, Harnstoff, Kreatinin, CK und Cortisol) eignen sich, um die Arbeitsintensität und die Fitness von Pferden einzuschätzen, und ergänzen sich gegenseitig. Die Herzfrequenz bietet einen guten Anhaltspunkt zum Vergleich der Arbeitsintensität mit anderen Belastungsformen, obwohl sie natürlich von der Kondition der Pferde abhängig ist. In Verbindung mit den Cortisolwerten kann, wie auch schon Licht (2000) feststellte, eine Aussage über die psychischen und physischen Anteile der Belastung getroffen werden, wobei die Beurteilung der letzteren durch die übrigen Parameter gut ergänzt wird. Insbesondere anhand des Laktats kann unterschieden werden, ob es sich primär um aerobe oder anaerobe Muskelarbeit handelt. Da die Belastung im vorliegenden Fall submaximal ist, kann neben der Erholungszeit auch der Vergleich von Herzfrequenz, Laktatwerten und den Aktivitäten der CK und der LDH zwischen den verschiedenen Pferden, selbstverständlich nach dem gleichen Arbeitspensum, zur Beurteilung der Fitness der einzelnen Tiere dienen. Um einen Trainingsfortschritt nachzuweisen, sind diese Werte ebenfalls geeignet, wobei in diesem Fall wiederholte Messungen unter den gleichen Bedingungen erforderlich sind.

Die Untersuchung der o.g. Parameter im Speichel ist nicht in allen Fällen sinnvoll. Glucose ist z.B. trotz Korrelation mit den Blutwerten zur Messung im Speichel nicht geeignet, da Glucose aus dem Futter direkt in den Speichel gelangen kann und es nach der Nahrungsaufnahme etwa zwei Stunden dauert, bis die meisten Futterbestandteile aus der Maulhöhle verschwunden sind. Zu diesem Zeitpunkt liegt dann die Speichelglucose fast bei Null und ist genauso wenig aussagekräftig.

Die Speichelwerte der CK korrelieren nicht mit denen im Serum und sind so gering, dass sie kaum ohne grosse Messfehler ausgewertet werden können, dazu kommt - ebenso wie auch bei der LDH - dass die Herkunft dieser Enzyme im Speichel noch ungeklärt ist. Daher ist bei der LDH die Brauchbarkeit von Speichelproben ebenfalls fraglich, zumal auch sie in Plasma und Speichel keine signifikante Korrelation zeigt. Jedoch korreliert die Speichel-LDH verblüffend gut mit der Herzfrequenz und vielen der anderen Belastungsparameter im Speichel, daher wäre eine weitergehende Untersuchung dieses Wertes im Speichel durchaus interessant.

Speichelkreatinin zeigt beim gesunden Pferd, wie auch schon beim Menschen beobachtet wurde, keine Korrelation zu den Serumwerten. Da bei menschlichen Nierenpatienten mit hohem Serumkreatinin eine Korrelation nachgewiesen wurde (Lloyd et al., 1996), könnte dies ev. auch für nierenkranke Pferde zutreffen.

Bei Laktat zeigt sich zwischen den Gesamtwerten in Plasma und Speichel nur eine geringe tendenzielle Korrelation ($p=0,076$; $r=0,168$). Da aber der Grossteil der Speichelwerte signifikant mit den davorliegenden Plasmawerten korreliert, besteht ein begründeter Verdacht auf eine verzögerte Diffusion des Laktats in den Speichel, was in weiteren Untersuchungen geklärt werden sollte. In diesem Fall könnte die Speichelprobe eine gute Alternative zur Blutuntersuchung werden.

Cortisol korreliert, wie auch in den Arbeiten von Lebelt et al. (1996) und Licht (2000) schon festgestellt wurde, sehr gut in Blut und Speichel. In beiden Medien zeigt sich ein deutlicher circadianer Rhythmus. Körperliche Belastung scheint durch Speichelcortisol sogar exakter wiedergegeben zu werden als durch Serumcortisol, also ist die Speicheluntersuchung zur Cortisolbestimmung sehr gut geeignet.

Auch für Harnstoff ist eine gute Korrelation zwischen Serum- und Speichelwerten nachzuweisen, die auch für die meisten einzelnen Messzeiten signifikant ist. Daher dürfte auch bei Harnstoff ein Ersatz der Blut- durch Speichelproben möglich sein.

Die hier untersuchte Zugarbeit ist, zumindest bei den Kaltblutpferden, trotz der relativ hohen Zuglast, eine Belastung vorwiegend im aeroben Bereich mit einem nur sehr geringen Laktatanstieg. Dieses Ergebnis ist überraschend, da Gottlieb et al. (1988) einen exponentiellen Anstieg der Laktatproduktion sowohl mit der Geschwindigkeit als auch mit der Zuglast beobachtete. Die Untersuchung von Gottlieb et al. (1988) fand allerdings bei Trabrennpferden im langsamen Trab statt. Im vorliegenden Fall arbeiten die Pferde im Schritt. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass die Gangart und das Tempo eine grössere Rolle für die Laktatproduktion spielen als die Zuglast,

und daher ein grosser Unterschied zwischen Zugarbeit im Schritt und im Trab besteht.

6 Zusammenfassung

Sowohl für den Pferdesport wie auch den Tierschutz ist es von grösstem Interesse, die Belastung der Tiere und ihre Fitness objektiv beurteilen zu können. Nur so können das Training optimiert und Überbelastungen ausgeschlossen werden.

Bisher erforderte die Kontrolle des Trainingsfortschritts beim Pferd über Parameter wie Cortisol, Laktat, Glucose, Harnstoff, Kreatinin, Laktatdehydrogenase (LDH) und Kreatinkinase (CK) eine häufige Entnahme von Blutproben.

Ziel dieser Arbeit war daher, die Brauchbarkeit von Speichelproben als nichtinvasive und einfach durchzuführende Alternative zur Blutentnahme zu überprüfen, die Veränderungen der o.g. Parameter durch Belastung, repräsentiert durch die Herzfrequenz, und Tageszeit darzustellen, und die Reaktion dieser Parameter auf Zugarbeit im Schritt am Berg zu ermitteln.

In der vorliegenden Untersuchung zogen gewerblich eingesetzte Süddeutsche Kaltblutpferde (n=20) zweispännig im Schritt baugleiche Kutschen (Leergewicht ca. 500 kg). Diese waren bergauf mit 14 Personen und bergab mit 3 Personen besetzt. Die Strecke betrug ca. 1,4 km über eine Differenz von 140 Höhenmetern (durchschnittliche Steigung 10 %). Die Bergfahrt dauerte 15 bis 20 Minuten, die Talfahrt 12 bis 15 Minuten.

Während der Arbeit vor der Kutsche und in Ruhe vor und nach der Belastung wurden bei den Pferden Blut- und Speichelproben entnommen. Parallel wurde in der Arbeitsphase die Herzfrequenz kontinuierlich aufgezeichnet.

Mittels Radioimmunoassay wurde im Serum und Speichel Cortisol bestimmt, während die übrigen o.g. Parameter mit photometrischen Verfahren jeweils in Serum oder Plasma und Speichel analysiert wurden.

Es konnte festgestellt werden, dass die Zugarbeit am Berg die Pferde nicht überlastet; sie stellt eine submaximale Belastung im aeroben Bereich dar. Während der Bergfahrt wird eine mittlere Herzfrequenz von 122 bpm erreicht. Der Maximalwert der Blutparameter liegt bei Serumcortisol (252,5 nmol/l) und -Harnstoff (36 mg/dl) in der Arbeitsphase. Die anderen Blutwerte haben ihr Maximum jeweils am Nachmittag

im Stall, steigen aber mit einem Plasmalaktat von $1,55 \pm 0,11$ mg/dl, einer CK-Aktivität von 96 ± 7 IU/l und einer LDH-Aktivität von 380 ± 33 IU/l nicht über die Referenzwerte.

Da es sich bei den untersuchten Werten um Belastungsparameter handelt, zeigen diese zum Teil auch Korrelationen untereinander, jedoch fällt auf, dass die Parameter im Speichel häufiger korrelieren als im Blut.

Im Bezug auf die Auswertbarkeit von Speichelproben sind die Korrelationen zwischen Blut- und Speichelwerten derselben Parameter von Bedeutung. Kreatinin, LDH und CK zeigen dabei keine signifikante Korrelation zwischen Blut und Speichel. Für Glucose sind Speichelproben ebenfalls nicht aussagekräftig, da Glucose auch direkt aus dem Futter in den Speichel gelangen kann. Cortisol, Harnstoff und Laktat dagegen sind im Speichel sicher auszuwerten.

Die genannten Parameter unterscheiden sich bezüglich der Reaktion auf Belastung und des zeitlichen Verlaufs der Speichelwerte im Vergleich zu denen im Blut; so korreliert der Harnstoff im Speichel sowohl in Ruhe ($p < 0,001$; $r = 0,409$) als auch in der Arbeitsphase ($p < 0,001$; $r = 0,517$) deutlich mit dem gleichzeitig im Serum gemessenen. Dagegen gelangt Laktat möglicherweise mit einer Verzögerung von mindestens 10 Minuten in den Speichel, da mehr Messwerte im Speichel mit den vorangegangenen Plasmawerten korrelieren als mit den gleichzeitigen.

Serum- und Speichelcortisol zeigen insgesamt eine signifikante Korrelation ($p < 0,001$; $r = 0,341$), stimmen aber in den Ruhewerten besser überein als unter Belastung. Sowohl im Serum als auch im Speichel existiert für Cortisol ein deutlicher Tagesrhythmus.

Obwohl die Ergebnisse zeigen, dass es nicht bei allen Parametern möglich ist, Blutentnahmen durch Speichelproben zu ersetzen, erscheinen doch einige Werte wie Cortisol, LDH, Harnstoff und Laktat vielversprechend, insbesondere bei weiterer Untersuchung der Transportmechanismen verschiedener Stoffe in den Speichel und von deren Halbwertszeiten. Da es sich bei Speichelproben um eine für das Tier schonende und auch von Laien durchführbare Methode handelt, ist weitere Forschung in dieser Richtung sinnvoll und wünschenswert.

7 Summary

Blood and saliva parameters in the Coldblood horse at rest and during draft work

To both equestrian sports and animal welfare, being able to judge workload and fitness of horses is of great interest. Up to now, monitoring of training progress in the horse by means of parameters as cortisol, lactate, glucose, urea, creatinine, lactate dehydrogenase and creatine phosphokinase has required frequent blood sampling. The aim of this study therefore was to investigate the usefulness of saliva testing as an easy and non-invasive alternative to blood sampling, to point out the changes in the above-mentioned parameters through exercise, which is represented by heart rate, and time of day, and to determine how these parameters respond to uphill draft work at a walk.

In this study, pairs of professionally used Southern German Coldblood draft horses (n=20) were pulling equal coaches (weighing 500 kg empty) at a walk. These coaches carried 14 people uphill and 3 downhill. Distance was about 1.4 km, covering a difference of about 140 m in altitude, which results in an average inclination of 10 %. The ascent took the carriage-and-pairs 15-20 minutes, the descent 12-15 minutes. Blood and saliva samples were taken during draft work and at rest before and after exercise. Additionally, heart rate was continuously recorded during the work phase. Cortisol was determined by radioimmunoassay in serum and saliva, the remaining parameters were measured by photometry in serum or plasma and saliva.

It can be established that the horses are not overloaded by this kind of uphill draft work, which actually means submaximal aerobic exercise to them. During the ascent, heart rate averages at 122 bpm. In cortisol (252.5 nmol/l) and urea (36 mg/dl), the peak serum values are measured in the working phase. The rest of the blood parameters reach a maximum at rest in the afternoon, but do not, with a plasma lactate of 1.55 ± 0.11 mg/dl, serum CK of 96 ± 7 IU/l, and LDH of 380 ± 33 IU/l, rise above reference values.

As all of the the analyzed values are exercise parameters, some of them correlate among each other; however, there are more correlations among the parameters in saliva than in blood.

Concerning the evaluation of saliva samples, correlations between the same parameters in blood and saliva are important. Creatinine, LDH and CK show no significant correlations between blood and saliva values. Saliva sampling for glucose is pointless, as glucose from feed can get into saliva. On the other hand, cortisol, urea and lactate can be well evaluated in saliva.

However, the parameters differ in their responses to exercise and the temporal pattern of saliva values in comparison to blood values. Urea in saliva, for example, correlates well with the simultaneously taken samples of serum urea, at rest ($p < 0.001$; $r = 0.409$) as well as during exercise ($p < 0.001$; $r = 0.517$). Yet lactate seems to get into saliva with a delay of at least ten minutes, as in saliva there are more correlations with the preceding plasma values than with the simultaneous ones. Cortisol in serum and saliva shows a good regression altogether ($p < 0.001$; $r = 0.341$), but correlate better at rest than during exercise. Serum as well as saliva shows a distinct circadian cortisol pattern.

Even as the results show that it is not possible for all parameters to replace blood sampling with saliva testing, several values, as cortisol, LDH, urea and lactate, look promising; especially with further investigation of transport mechanisms and half-life of different parameters in saliva. As saliva sampling is sparing for the animal and easy to handle, further research into this matter is justified and desirable.

8 Literaturverzeichnis

Aguera EI, Rubio MD, Vivo R, Santisteban R, Munoz A, Castejon F (1995).
Blood parameter and heart rate response to training in Andalusian horses.
Rev Esp Fisiol 51: 55-64

Akai T, Naka K, Yoshikawa C, Okuda K, Okamoto T, Yamagami S, Inoue T, Yamao Y, Yamada S (1983).
Salivary urea nitrogen as an index to renal function: a test-strip method.
Clin Chem 10: 1825-1827

Alexander, F (1966).
A study of parotid salivation in the horse.
J Physiol 184: 646-656

Alexander SL, Irvine CH, Ellis MJ, Donald RA (1991).
The effect of acute exercise on the secretion of corticotropin-releasing factor, arginine vasopressin, and adrenocorticotropin as measured in pituitary venous blood in the horse.
Endocrinology 128: 65-72

Alexander SL, Irvine CHG (1998).
The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid- binding globulin capacity.
J Endocrin 157: 425-432

Alonso de la Pena V, Diz Dios P, Lojo Rocamonde S, Tojo Sierra R, Rodriguez-Segade S (2004).
A standardised protocol for the quantification of lactate dehydrogenase activity in saliva.
Arch Oral Biol 49: 23-27

Anderson, MG (1975).
The effect of exercise on blood metabolite levels in the horse.
Equine Vet J 7: 27-33

Anderson MG (1975).
The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse.
Equine Vet J 7: 160-165

Andrews FM, Geiser DR, White SL, Williamson LH, Maykuth PL, Green EM (1995).
Haematological and biochemical changes in horses competing in a 3 Star horse trial and 3-day-event.
Equine Vet J Suppl 20: 57-63

- Arai T, Inoue A, Uematsu Y, Sako T, Kimura N (2003).
Activities of enzymes in the malate-aspartate shuttle and the isoenzyme pattern of lactate dehydrogenase in plasma and peripheral leucocytes of lactating Holstein cows and riding horses.
Res Vet Sci 75: 15-19
- Argiroudis SA, Kent JE, Blackmore DJ (1982).
Observations on the isoenzymes of creatine kinase in equine serum and tissues.
Equine Vet J 14: 317-321
- Art T, Amory H, Desmecht D, Lekeux P (1990).
Effect of show jumping on heart rate, blood lactate and other plasma biochemical values.
Equine Vet J Suppl 9: 78-82
- Art T, Desmecht D, Amory H, Delogne O, Buchet M, Leroy P, Lekeux P (1990).
A Field study of post-exercise values of blood biochemical constituents in jumping horses: relationship with score, individual and event.
J Vet Med A 37: 231-239
- Bamberg E (1987).
Endokrinium.
In: Wittke G. (Hrsg.). Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7. Auflage. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 437-477. ISBN 3-489-66216-4
- Bayer, A (1970).
Die Brauchbarkeit der Arbeitspulsfrequenz als Leistungskriterium bei Trabrennpferden.
Berl Münch Tierarztl Wschr 21: 414-418
- Beerda B, Schilder MB, Jansen NS, Mol JA (1996).
The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress response in dogs.
Horm Behav 30: 272- 279
- Belazi MA, Galli- Tsinopoulou A, Drakoulakos D, Fleva A, Papanayiotou PH (1998).
Salivary alterations in insulin- dependent diabetes mellitus.
Int J Paediatr Dent 8: 29-33
- Ben-Aryeh H, Roll N, Lahav M, Hanne-Paparo N, Szargel R, Shein-Orr C, Laufer D (1989).
Effect of exercise on salivary composition and cortisol in serum and saliva in man.
J Dent Res 68: 1495-1497
- Blackshaw JK, Blackshaw AW (1989).
Limitations of salivary and blood cortisol determinations in pigs.
Vet Res Comm 13: 265-271

- Boivin R, Bost J (1977).
Saliva ammonia und urea in the sheep. Effects of alimentary nitrogen additives.
Ann Rech Vet 8: 143-152
- Bottoms GD, Roesel OF, Rausch FD, Akins EL (1971).
Circadian variation in plasma cortisol and corticosterone in pigs and mares.
Am J Vet Res 33: 785- 790
- Brandenberger G, Follenius M (1975).
Influence of timing and intensity of muscular exercise on temporal patterns of plasma cortisol levels.
J Clin Endocrinol Metabol 40: 845-849
- Brock A (1992).
Veränderungen der Laktat-, Glucose-, und Biopterinspiegel im jugularvenösen Blut von Trabrennpferden bei unterschiedlicher Belastung.
Diss med vet, LMU München
- Brooks FS, Brooks RV (1984).
Cortisol and cortisone in saliva.
In: Read GF, Riad-Fahmy D, Walker RF (Hrsg.). Immunoassays of steroids in saliva.
Alpha Omega, Cardiff. 322-326
- Butler PJ, Woakes AJ, Smale K, Roberts CA, Hillidge CJ, Snow DH, Marlin DJ (1993).
Respiratory and cardiovascular adjustments during exercise of increasing intensity and during recovery in thoroughbred racehorses.
Exp Biol 179; 159-180
- Christley RM, Hodgson DR, Evans DL, Rose RJ (1997).
Effects of training on the development of exercise- induced hypoxemia in horses.
Am J Vet Res 58: 653-657
- Chiou WL, Hsu FH, Westenfelder C, Kurtzman NA (1977).
Correlation of creatinine levels in saliva and plasma in normal subjects and renal patients.
Res Commun Chem Pathol Pharmacol 16: 549-556
- Chiou WL, Pu FS (1979).
Creatinine VIII: saliva levels of endogenous "true" creatinine in normal subjects.
Clin Pharmacol Ther 25: 777-782
- Chu FW, Ekins RP (1988).
Detection of corticosteroid binding globulin in parotid fluids: evidence for the presence of both protein-bound and non-protein-bound (free) steroids in uncontaminated saliva.
Acta Endocrinologica 119: 56-60

- Cirio A, Meot F, Delignette- Muller ML, Boivin R (2000).
Determination of parotid urea secretion in sheep by means of ultrasonic flow probes and a multifactorial regression analysis.
J Anim Sci 78: 471-476
- Cook NJ, Ng A, Read GF, Harris B, Riad- Fahmy D (1987).
Salivary cortisol for monitoring adrenal activity during marathon runs.
Horm Res 25: 18-23
- Couroucé A, Chatard JC, Auvinet B (1997).
Estimation of performance potential of Standardbred trotters from blood lactate concentration measured in field conditions.
Equine vet J 29: 365-369
- Couroucé A (1999).
Field exercise testing for assessing fitness in French standardbred trotters.
Vet J 157: 112-122
- Couroucé A, Geffroy O, Barrey E, Auvinet B, Rose RJ (1999).
Comparison of exercise tests in French trotters under training track, racetrack and treadmill conditions.
Equine Vet J Suppl 30: 528-532
- Couroucé A, Chretien M, Valette JP (2002).
Physiological variables measured under field conditions according to age and state of training in French trotters.
Equine Vet J 34: 91-97
- Covalesky ME, Russoniello CR, Malinowski K (1992).
Effects of show-jumping performance stress on plasma cortisol and lactate concentrations and heart rate and behaviour in horses.
J Equine Vet Sci 12: 244-251
- Darwazeh AM, MacFarlane TW, McCuish A, Lamey PJ (1991).
Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus.
J Oral Pathol Med 20: 280-283
- Davie AJ, Priddle TL, Evans DL(2002).
Metabolic responses to submaximal field exercise tests and relationships with racing performance in pacing standardbreds.
Equine Vet J Suppl 34: 112-115
- Desmecht D, Linden A, Amory H, Art T, Lekeux P(1996).
Relationship of plasma lactate production to cortisol release following completion of different types of sporting events in horses.
Vet Res Comm 20: 371-379
- Eckersall PD (1984).
Equine whole saliva: A sample collection system and biochemical analysis.
Vet Rec 115: 437-438

Eckersall, PD, Aitchison T, Colquhoun KM (1985).
Equine whole saliva: Variability of some major constituents.
Equine Vet J 17: 391-393

Elsässer F, Klobasa F, Ellendorff F (2001).
ACTH Stimulationstest und Bestimmung von Cortisol in Blut und Speichel zur
Bewertung des Trainingszustands / der Kondition beim Warmblutpferd.
Dtsch Tierarztl Wochenschr 108: 31-36

Essen-Gustavsson B, Karlstrom K, Lindholm A (1984).
Fibre types, enzyme activities and substrate utilisation in skeletal muscles of horses
competing in endurance rides.
Equine Vet J 16: 197-202

Essen-Gustavsson B, McMiken D, Karlstrom K, Lindholm A, Persson S, Thornton J
(1989).
Muscular adaptation of horses during intensive training and detraining.
Equine Vet J 21: 27-33

Essen-Gustavsson B, Roneus N, Pösö AR (1997).
Metabolic response in skeletal muscle fibres of Standardbred trotters after racing.
Comp Biochem Physiol 117 B: 431-436

Essen-Gustavsson B, Gottlieb-Vedi M, Lindholm A (1999).
Muscle adenine nucleotide degradation during submaximal treadmill exercise to
fatigue.
Equine Vet J Suppl 30: 298-302

Evans DL, Harris RC, Snow DH (1993).
Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in
Thoroughbred horses.
Equine Vet J 25: 441-445

Evans PJ, Peters JR, Dyas J, Walker RF, Riad-Fahmy D, Hall R (1984).
Salivary cortisol levels in true and apparent hypercortisolism.
Clin Endocrin 20: 709-715

Frauenfelder HC, Rosedale PD, Ricketts SW, Allen WR (1986).
Changes in serum muscle enzyme levels associated with training schedules and the
stage of oestrous cycle in thoroughbred racehorses.
Equine Vet J 18: 371-374

Furr MO, Tyler RD (1990).
Cerebrospinal fluid creatine kinase activity in horses with central nervous system
disease: 69 cases (1984-1989).
J Am Vet Med Assoc 197: 245-248

- Gäbel G (1998).
Das Pferd als Leistungssportler.
In: Gropp J (Hrsg.). Kongressband Leipziger Tierärztekongress 14-18. Oktober 1998, 35-39.
- Gansen S, Lindner A, Marx S, Mosen H (1996).
Relationship between lactate concentration in blood, saliva and sweat of exercising horses.
J Sports Sci 14: 347-370
- Gansen S, Lindner A, Marx S, Mosen H, Sallmann HP (1999).
Effects of conditioning horses with lactate-guided exercise on muscle glycogen content.
Equine Vet J Suppl 30: 329-331
- Gayotto MV, Galletta VP, Cossermelli W, de Campos AC (1989).
Lactic dehydrogenase in the serum and saliva of clinically normal subjects.
Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo 44: 303-306
- Geor RJ, McCutcheon LJ (2005).
Cardiovascular and respiratory function in the performance horse.
In: Kobluk LN, Ames TR, Geor RJ (eds.).The Horse: Diseases and Clinical Management. Iowa State University Press, Ames, IA, USA. 1285-1292. ISBN 0813825717
- Golland LC, Evans DL, Stone GM, Tyler-McGowan CM, Hogdson DR, Rose RJ (1999).
Plasma cortisol and beta-endorphin concentrations in trained and over-trained standardbred racehorses.
Pflugers Arch 439: 11-17
- Gottlieb M (1989).
Muscle glycogen depletion patterns during draught work in Standardbred horses.
Equine Vet J 21: 110-115
- Gottlieb M, Essen-Gustavsson B, Lindholm A, Persson SG (1988).
Circulatory and muscle metabolic responses to draught work compared to increasing trotting velocities.
Equine Vet J 20: 430-434
- Gottlieb M, Essen-Gustavsson B, Lindholm A, Persson SG (1989).
Effects of a draft- loaded interval –training program on skeletal muscle in the horse.
J Appl Physiol 67: 570-577
- Gottlieb M, Essen-Gustavsson B, Skoglund- Wallberg H (1989).
Blood and muscle metabolic responses to draught work of varyind intensity and duration in horses.
Res Vet Sci 47: 102-109

- Gottlieb-Vedi M, Essen-Gustavsson B, Lindholm A (1996).
Cardio- respiratory and plasma lactate responses to exercise with low draught resistances in standardbred trotters.
Zbl Vet Med A 10; 635-641
- Gottlieb-Vedi M, Essen-Gustavsson B, Thornell LE, Lindholm A (1999).
A comparison of the ultrastructure and metabolic response of the skeletal muscle of horses performing intense treadmill exercise at 20 and 35 degrees C.
Zbl Vet Med A 46: 209-218
- Gottlieb-Vedi M, Lindholm A (1997).
Comparison of standardbred trotters exercising on a treadmill and a race track with identical draught resistances.
Vet Rec 140: 525-528
- Gottlieb-Vedi M, Persson S, Erickson H, Korbutiak E (1995).
Cardiovascular, respiratory and metabolic effects of interval training at VLA4.
Zbl Vet Med A 42: 165-175
- Gough H, Luke GA, Beeley JA, Geddes DA (1996).
Human salivary glucose analysis by high- performance ion- exchange chromatography and pulsed amperometric detection.
Arch Oral Biol 41: 141-145
- Grimminger-Heigl G (1993).
Referenzbereiche in der Labordiagnostik beim Pferd (Blutglucose, Gesamteiweiss, CK, AST, AP, LDH, α - HBDH, G-GT, GLDH).
Diss med vet, LMU München
- Guechot J, Fiet J, Passa P, Villette JM, Gourmel B, Tabuteau F, Cathelineau G, Dreux C(1982).
Physiological and pathological variations in saliva cortisol.
Hormone Res 16: 357-364
- Guhl A, Lindner A, von Wittke P(1996).
Reproducibility of the blood lactate- running speed curve in horses under field conditions.
Am J Vet Res 57: 1059-1062
- Guhl A, Lindner A, von Wittke P(1996).
Use of the relationship between blood lactate and running speed to determine the exercise intensity of horses.
Vet Rec 139: 108-110
- Guy PS, Snow DH (1977).
The effect of training and detraining on muscle composition in the horse.
Physiol 269: 33-51

Hacklechner B (1993).
Referenzbereiche in der Labordiagnostik beim Pferd (Natrium, Kalium, anorganisches Phosphat, Chlorid, Creatinin und Harnstoff).
Diss med vet, LMU München

Hagemeister H, Unshelm J (1967).
Individuelle, tages-und tageszeitabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind. 2. Mitteilung: Das Verhalten der Enzymaktivität von GOT, GPT, LDH, MDH, GLDH und alkalische Phosphatase.
Zbl Vet Med A 15: 499-509

Hagemeister H, Unshelm J (1969).
Individuelle, tages-und tageszeitabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind. 8. Mitteilung: Das Verhalten der Milchsäure (Laktat), der Brenztraubensäure (Pyruvat), des Harnstoffs und des Blutzuckers.
Zbl Vet Med A 17: 13-26

Hamlin MJ, Shearman JP, Hopkins WG (2002).
Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses.
Equine Vet J 34: 383-388

Harkins JD, Beadle RE, Kamerling SG (1993).
The correlation of running ability and physiological variables in Thoroughbred racehorses.
Equine Vet J 25: 53-60

Harris DB, Harris RC, Wilson AM Goodship A (1997).
ATP loss with exercise in muscle fibres of the gluteus medius in the thoroughbred horse.
Res Vet Sci 63: 231-237

Harris PA, Marlin DJ, Gray J (1998).
Plasma aspartate aminotransferase and creatinine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training.
Vet J 155: 295-304

Harris PA, Pagan JD, Crandell KG, Davidson N (1999).
Effect of feeding thoroughbred horses a high unsaturated or saturated vegetable oil supplemented diet for 6 months following a 10 month fat acclimation.
Equine Vet J Suppl 30: 468-474

Hata M (1941).
Der Gehalt der Verdauungssäfte des Hundes an Zucker und Milchsäure und der Einfluss des Pikrotoxins sowie Adrenalins auf denselben.
Ber Über die ges Physiol 123 : 201

Hatzipanagiotou A, Lindner A, Sommer H (1991).
LDH and CK isoenzyme patterns in the blood plasma of horses with elevated CK, LDH and AST activities.
Dtsch Tierarztl Wochenschr 98: 284-286

Herold G (Hrsg)(2005).
Innere Medizin. Eine vorlesungsorientierte Darstellung.
Eigenverlag, Köln. ISBN 1111114317

Hierholzer K, Fromm M (1987).
Wasser- und Elektrolythaushalt; Physiologie der Niere.
In: Wittke G. (Hrsg.). Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7.Auflage.
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg. 359-436. ISBN 3-489-66216-4

Hinchcliff KW, Lauderdale MA, Dutson J, Geor RJ, Lacombe VA, Taylor LE (2002).
High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses.
Equine Vet J 34: 9-16

Hodgson DR, Rose RJ, DiMauro J, Allen JR (1985).
Effects of a submaximal treadmill training programme on histochemical properties,
enzyme activities and glycogen utilisation of skeletal muscle in the horse.
Equine Vet J 17: 300-305

Hubbell JAE, Hinchcliff KW, Muir WW, Robertson JT, Sams RA, Schmall LM(1997).
Cardiorespiratory and metabolic effects of walking, standing, and standing with a
splint during the recuperative period from maximal exercise in horses.
Am J Vet Res 58: 1003-1009

Huber H (1996).
Bestimmung von Pterinen, Glucose, LDH- und CK-Aktivitäten in Plasma und
Speichel von männlichen Saugferkeln unterschiedlichen Halothantyps nach
Kastration mit oder ohne CO₂-Narkose.
Diss med vet, LMU München

Hyypä S, Rasanen LA, Poso AR (1997).
Resynthesis of glycogen in skeletal muscle from standardbred trotters after repeated
bouts of exercise.
Am J Vet Res 58: 162-166

Hyypä S, Saastamoinen M, Reeta Poso A (1999).
Effect of a fat- supplemented diet on muscle glycogen repletion.
Equine Vet J suppl 30: 493-498

Ihara H, Shino Y, Morita Y, Kawaguchi E, Hashizume N, Yoshida M (2001).
Is skeletal muscle damaged by the oxidative stress following anaerobic exercise?
J Clin Lab Anal 15: 239-243

Irvine CHG, Alexander SL (1994).
Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse.
Domest. Anim Endocrinol 11: 227-238

Jacks DE, Sowash J, Anning J, McGloughlin T, Andres F (2002).
Effect of exercise at three exercise intensities on salivary cortisol.
J Strength Cond Res 16: 286-289

- Jimenez M, Hinchcliff KW, Farris JW (1998).
Catecholamine and cortisol response of horses to incremental exertion.
Vet Res Comm 22: 107-118
- Kallweit E, Dodenhoff J, Steinhardt M, Thielscher HH, Müller C, Henning M, Ladewig J (1996).
Bewertungskriterien für den Trainingszustand von Pferden.
Züchtungskunde 68: 246-257
- Kirschbaum C (1991).
Cortisolmessung im Speichel- eine Methode der biologischen Psychologie.
Hans Huber Verlag, Bern. 19-107. ISBN 3-456-82098-4.
- Klingelhöfer K (1998).
Muskelenzymaktivitäten (AST,CK,LDH) und Laktatgehalte beim Islandpferd. Ein Beitrag zur Referenzbereichsdiskussion.
Diss med vet, LMU München
- Knob M, Seidl I (1980).
Creatine kinase and its isoenzymes in dog sera.
Clin Chem Acta 106: 287-293
- Kobayashi M, Kuribara K, Amada A (1999).
Application of V200 values for evaluation of training effects in the young thoroughbred under field conditions.
Equine Vet J Suppl 30: 159-162
- Koho NM, Vaihkonen LK, Poso AR (2002).
Lactate transport in red blood cells by monocarboxylate transporters.
Equine Vet J Suppl 34: 555-559
- Kolb E (Hrsg.) (1989).
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 185-195. ISBN 3334002314
- Kraft W, Dürr UM (2005).
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 6. Auflage.
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York. ISBN 3794523083
- Kriz NG, Hodgson DR, Rose RJ (2000).
Changes in cardiac dimensions and indices of cardiac function during deconditioning in horses.
Am J Vet Res 61: 1553-1560
- Krzywanek H, Mohr E, Mill J, Scharpenack M (1996).
Veränderungen von Serumenzymen, Lactat-, und Hämoglobinkonzentrationen im Blut junger Trabrennpferde durch Trainingsbelastung.
J Vet Med A 43: 345-352

Lacombe V, Hinchcliff KW, Geor RJ, Baskin CR (2001).
Muscle glycogen depletion and subsequent replenishment affect anaerobic capacity of horses.
J Appl Physiol 91: 1782-1790

Lacombe V, Hinchcliff KW, Geor RJ, Lauderdale MA (1999).
Exercise that induces muscle glycogen depletion impairs subsequent anaerobic capacity.
Equine Vet J Suppl 30: 293-297

Lafortuna CL, Reinach E, Saibene F (1996).
The effects of locomotor-respiratory coupling on the pattern of breathing in horses.
J Physiol 15: 587-596

Langley LL, Gunthorpe CH, Beall WA (1958).
Salivary glucose threshold.
Am J Physiol 192: 482-484

Lebelt D (1996).
Verhaltensphysiologische Untersuchungen zum Koppen des Pferdes.
Diss med vet, LMU München

Lebelt, D, Schönreiter S, Zanella AJ (1996).
Salivary cortisol in stallions: the relationship with plasma levels, daytime profile and changes in response to semen collection.
Pferdeheilkunde 12: 411-414

Licht A (2000).
Nicht-invasive Stressparameter beim Trabrennpferd.
Diss med vet, LMU München

Liebich HG 1990.
Funktionelle Histologie.
Verlag Schattauer, Stuttgart, New York. ISBN 3-7945-1283-9

Lindner, A (1991).
Comparison of clinical chemical variables in blood plasma and serum of horses.
Eur J Clin Chem Biochem 29: 837-840

Lindner A (1991).
The effect of storage time, temperature and initial test material on clinico- chemical blood variables.
Zbl Vet Med A 38: 433-440

Lindner A, Hatzipanagiotou A (1993).
Effect of the storage temperature and time and the test sample materials on the LDH isoenzyme activity and protein fraction of horse blood.
Zbl Vet Med A 40: 128-133

- Lindner, A (1994).
Effect of the time of sample collection after exertion and the specimen handling on the lactate content in the blood of horses.
Tierärztl Prax 22: 58-62
- Lindner A (1997).
Laktat und Leistung beim Pferd.
ISBN 3-00-001346-6
- Lindner A (1998).
Leistungsdiagnostik beim gesunden Sportpferd.
GrosstierVet 11/98: 40-42
- Littlejohn A, Blackmore DJ (1978).
Blood and tissue content of the iso-enzymes of lactate dehydrogenase in the thoroughbred.
Res Vet Sci 25: 118-119
- Liu ZJ, Wang W, He CS (2000).
Comparison of serum and plasma lactate dehydrogenase in postburn patients.
Burns 26: 46-48
- Lloyd JE, Broughton A, Selby C (1996).
Salivary creatinine assays as a potential screen for renal disease.
Ann Clin Biochem 33: 428-431
- Lopez ME, Colloca ME, Paez RG, Schallmach JN, Koss MA, Chervonagura A (2003).
Salivary characteristics of diabetic children.
Braz Dent J 14: 26-31
- Lopez-Rivero JL, Morales-Lopez JL, Galisteo AM, Aguera E (1991).
Muscle fibre type composition in untrained and endurance trained andalusian and arab horses.
Equine Vet J 23: 91-93
- Marlin DJ, Scott CM, Schroter RC, Harris RC, Harris PA, Roberts CA, Mills PC (1999).
Physiological responses of horses to a treadmill simulated speed and endurance test in high heat and humidity before and after humid heat acclimation.
Equine Vet J 31: 31-42
- Marlin DJ, Schroter RC, White SL, Maykuth P, Matthesen G, Mills PC, Waran N, Harris P (2001).
Recovery from transport and acclimatisation of competition horses in a hot humid environment.
Equine Vet J 33: 371-379

Marlin DJ, Fenn K, Smith N, Deaton CD, Roberts CA, Harris PA, Dunster C, Kelly FJ (2002).

Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise.
J Nutr 132: 1622-1627

Marr CM, Bright JM, Marlin DJ, Harris PA, Roberts CA (1999).

Pre- and post exercise echocardiography in horses performing treadmill exercise in cool and hot/humid conditions.

Equine Vet J Suppl 30: 131-136

Mattern CO, Gutilla MJ, Bright DL, Kirby TE, Hinchcliff KW, Devor ST (2003).

Maximal lactate steady state declines during the aging process.

J Appl Physiol 95: 2576-2582

McGowan CM, Golland LC, Evans DL, Hodgson DR, Rose RJ (2002).

Effects of prolonged training, overtraining and detraining on skeletal muscle metabolites and enzymes.

Equine Vet J Suppl 34: 257-263

McKeever KH, Hinchcliff KW, Schmall LM, Muir WW 3rd (1991).

Renal tubular function in horses during submaximal exercise.

Am J Physiol 261: 553-560

McKeever KH, Malinowski K (1997).

Exercise capacity in young and old mares.

Am J Vet Res 12: 1468-1472

Meinecke B (2000).

Endokrinologie.

In: v. Engelhardt W, Breves G (Hrsg.). Physiologie der Haustiere.

Enke/ Hippokrates Verlag Stuttgart.490-509. ISBN 3-7773-1429-3

Meller M (1970).

Milchsäure und pH-Wert im menschlichen Speichel bei erschöpfender körperlicher Belastung.

Diss med dent, Universität Köln

Mendez J, Franklin B, Kollias J (1976).

Relationship of blood and saliva lactate and pyruvate concentrations.

Biomedicine 25: 313-314

Miller PA, Lawrence LM (1988).

The effect of dietary protein level on exercising horses.

J Anim Sci 66: 2185-2192

Miller WG, Crane PD, Cryer C (1986).

Interlaboratory standardization of enzyme results: the Richmond project.

Clin Chem 32: 1525-1531

- Möllmann F (1935).
Die Milchsäure im menschlichen Speichel und ihre Herkunft.
Diss med, Frankfurt
- Morris EA, Seeherman HJ (2005).
Sports medicine programs and performance evaluations.
In: Kobluk LN, Ames TR, Geor RJ (eds.). The Horse: Diseases and Clinical Management.
Iowa State University Press, Ames, IA, USA. 1275-1283. ISBN 0813825717
- Munoz A, Riber C, Santisteban R, Rubio MD, Aguera EI, Castejon FM (1999).
Cardiovascular and metabolic adaptations in horses competing in cross-country events.
J Vet Med Sci 61: 13-20
- Munoz A, Santisteban R, Rubio MD, Riber C, Aguera EI, Castejon FM (1999).
Locomotor response to exercise in relation to plasma lactate accumulation and heart rate in andalusian and anglo-arabian horses.
Vet Res Comm 23: 369-384
- Munoz A, Riber C, Santisteban R, Lucas RG, Castejon FM (2002).
Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in andalusian, anglo-arabian and arabian breeds.
Equine Vet J Suppl 34: 245-251
- Nagata S, Takeda F, Kurosawa M, Mima K, Hiraga A, Kai M, Taya K (1999).
Plasma adrenocorticotropin, cortisol and catecholamines response to various exercises.
Equine Vet J Suppl 30: 570-574
- Nagler RM, Lischinsky S, Diamond E, Klein I, Reznick AZ (2001).
New insights into salivary lactate dehydrogenase of human subjects.
J Lab Clin Med 137: 363-369
- Nickel R, Schummer A, Seiferle E, (1987).
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band II, 6.Auflage.
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg. ISBN 3-489-50316-3
- Ohkuwa T, Itoh H, Yamazaki Y, Sato Y (1995).
Salivary and blood lactate after supramaximal exercise in sprinters and long-distance runners.
Scand J Med Sci Sports 5: 285-290
- Perez R, Recabarren SE, Mora G, Jara C, Quijada G, Hetz E (1992).
Cardiorespiratory parameters in draught horses before and after short term draught work pulling loads.
Zbl Vet Med A 39: 215-222

- Perez R, Recabarren SE, Valdes P, Hetz E (1992).
Biochemical and physiological parameters and estimated work output in draught horses pulling loads for long periods.
Vet Res Comm 16: 231-246
- Perez R, Valenzuela S, Merino V, Cabezas I, García M, Bou R, Ortiz P (1996).
Energetic requirements and physiological adaptations of draught horses to ploughing work.
Animal science 63: 343-351
- Persson SG, Larsson M, Lindholm A (1980).
Effects of training on adreno-cortical function and red-cell volume in trotters.
Zbl Vet Med A 27: 261-268
- Petrovich IuA, Podorozhnaia RP, Genesina TI, Beloklitskaia GF (1996).
Activity of glutamate dehydrogenase, gamma-glutamyltranspeptidase and creatine kinase in saliva in gingivitis.
Patol Fiziol Ter 1996 (4): 28-30
- Pfeffer E (1987).
Verdauung.
In: Wittke, G. (Hrsg.). Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7. Auflage.
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 29-30. ISBN 3-489-66216-4
- Pinkowski W, Mohr E, Krzywanek H (1998).
Selected blood parameters during recovery from strenuous running exertion in trotters.
Zbl Vet Med A 45: 279-286
- Port K (1991).
Serum and saliva cortisol responses and blood lactate accumulation during incremental exercise testing.
Int J Sports Med 12: 490-494
- Potard US, Leith DE, Fedde MR (1998).
Force, speed, and oxygen consumption in thoroughbred and draft horses.
J Appl Physiol 84: 2052-2059
- Rainger JE, Evans DL, Hogdson DR, Rose RJ (1994).
Blood lactate disappearance after maximal exercise in trained and detrained horses.
Res Vet Sci 57: 325-331
- Rasanen LA, Myllymaki T, Hyyppa S, Maisi P, Poso AR (1993).
Accumulation of allantoin and uric acid in plasma of exercising trotters.
Am J Vet Res 54: 1923- 1928
- Rasanen LA, Lampinen KJ, Poso AR (1995).
Responses of blood and plasma lactate and plasma purine concentrations to maximal exercise and their relation to performance in standardbred trotters.
Am J Vet Res 56: 1651-1656

Rehak NN, Cecco SA, Csako G (2000). Biochemical composition and electrolyte balance of "unstimulated" whole human saliva.
Clin Chem Lab Med 38: 335-343

Reuterving CO, Reuterving G, Haegg E, Ericson T (1987).
Salivary flow rate and salivary glucose concentration in patients with diabetes mellitus. Influence of severity of diabetes.
Diabete Metab 13: 457-462

Rivero JL, Galisteo AM, Aguera E, Miro F (1993).
Skeletal muscle histochemistry in male and female andalusian and arabian horses of different ages.
Res Vet Sci 54: 160-169

Rivero JL, Serrano AL, Henckel P, Aguera E (1993).
Muscle fiber composition and fiber size in successfully and unsuccessfully endurance-raced horses.

J Appl Physiol 75: 1758-1766
Rivero JL, Serrano AL (1999).
Skeletal myosin heavy chain composition and carriage training.
Equine Vet J Suppl 30: 318-323

Rivero JL, Sporleder HP, Quiroz- Rothe E, Vervuert I, Coenen M, Harmeyer J (2002). Oral L-carnitine combined with training promotes changes in skeletal muscle.
Equine Vet J Suppl 34: 269-274

Roberts CA, Marlin DJ, Lekeux P (1999).
The effects of training on ventilation and blood gases in exercising thoroughbreds.
Equine Vet J Suppl 30: 57-61

Roneus N, Essen- Gustavsson B, Lindholm A, Eriksson Y (1994).
Plasma Lactate response to submaximal and maximal exercise tests with training, and its relationship to performance and muscle characteristics in standardbred trotters.
Equine Vet J 26: 117-121

Roneus N, Essen- Gustavsson B (1997).
Skeletal muscle characteristics and metabolic response to exercise in young standardbreds.
Am J Vet Res 58: 167-170

Roneus N, Essen- Gustavsson B, Lindholm A, Persson S (1999).
Muscle characteristics and plasma lactate and ammonia response after racing in standardbred trotters: relation to performance.
Equine Vet J 31: 170-173

Rose RJ, Ilkiw JE, Arnold KS, Backhouse JW, Sampson D (1980).
Plasma biochemistry in the horse during 3- day event competition.
Equine Vet J 12: 132-136

Rose RJ, Hodgson DR (1982).
Haematological and plasma biochemical parameters in endurance horses during training.
Equine Vet J 14: 144-148

Rose RJ, Sampson D (1982).
Changes in certain metabolic parameters in horses associated with food deprivation and endurance exercise.
Res Vet Sci 32: 198-202

Rose RJ, Hodgson DR, Sampson D, Chan W (1983).
Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160-km endurance ride.
Aust Vet J 60: 101-105

Rose RJ, Hodgson DR (1984).
Structural considerations in equine sports medicine: Hematology and biochemistry.
In: The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine.
W B Saunders Company, Philadelphia, Pa, USA. 73-75. ISBN 0-7216-3759-0

Rubio MD, Escribano BM, Aguera EI, Munoz A, Castejon FM (1998).
Auswirkungen auf Plasma und Blut im andalusischen Pferd nach maximalem Training.
Tierärztl Umschau 53: 269-274

Rueca F, Conti MB, Porciello F, Spaterna A, Antognoni MT, Mangilio A, Fruganti G, Avellini G (1999).
Relationship between running speed, isoenzymes of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase and left ventricular function in stallions.
Equine Vet J Suppl. 30: 163-165

Saibene F, Cortilli G, Gavazzi P, Sala A, Faina M, Sardella F (1985).
Maximal anaerobic (lactic) capacity and power of the horse.
Equine Vet J 17: 130-132

Schmidt KH(1979).
Untersuchungen über das Verhalten der Serumenzyme Aspartat- Aminotransferase, Creatin- Kinase, Laktat- Dehydrogenase bei Warmblutpferden unter dem Einfluss von Tageszeit, Transport, Turnierteilnahme und Longieren.
Diss med vet, Justus-von-Liebig-Universität Giessen

Schmidt B, Schmidt KH (1980).
Untersuchungen über das Verhalten der Serumenzyme AST, CK, LDH, AP, und des Serumbilirubins bei Warmblutpferden unter dem Einfluss von Transport, Turnierteilnahme, Longieren und Tageszeit.
Berl Münch Tierärztl Wschr 93: 244-246

- Schönreiter S (1996).
Bestimmung der Kortisolkonzentration im Speichel als tierschutzrelevante Alternative zur Messung des Kortisolspiegels aus dem Blut von Saugferkeln.
Diss med vet, LMU München
- Schuback K, Essen-Gustavsson B (1998).
Muscle anaerobic response to a maximal treadmill exercise test in standardbred trotters.
Equine Vet J 30: 504-510
- Schuback K, Essen-Gustavsson B, Persson SG (1999).
Incremental treadmill exercise until onset of fatigue and its relationship to metabolic response and locomotion pattern.
Equine Vet J Suppl 30: 337-341
- Schuback K, Essen-Gustavsson B, Persson SG (2000).
Effect of creatine supplementation on muscle metabolic response to a maximal treadmill exercise test in Standardbred horses.
Equine Vet J 32: 533-540
- Schuback K, Essen-Gustavsson B, Persson SG (2002).
Effect of sodium bicarbonate administration on metabolic responses to maximal exercise.
Equine Vet J Suppl 34: 539-544
- Segera R, Javierre C, Ventura JL, Lizarraga MA, Campos B, Garrido E (1996).
A new approach to the assessment of anaerobic metabolism: measurement of lactate in saliva.
Br J Sports Med 30: 305-309
- Serrano AL, Quiroz- Rothe E, Rivero JL (2000).
Early and long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining.
Pflugers Arch 441: 263-274
- Serrano AL, Rivero JL (2000).
Myosin heavy chain profile of equine gluteus medius muscle following prolonged draught-exercise training and detraining.
J Muscle Cell Motil 21: 235- 245
- Siciliano PD, Parker AL, Lawrence LM (1997).
Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses.
J Anim Sci 75: 1553-1560
- Silbernagl S, Despopoulos A (1991).
Taschenatlas der Physiologie, 4. Auflage.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart. ISBN 3-13-567704-0

Sinha AK, Ray SP, Rose RJ (1993).
Effect of constant load training on skeletal muscle histochemistry of thoroughbred horses.
Res Vet Sci 54: 147-159

Snow DH, Mackenzie G (1977).
Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training.
Equine Vet J 9: 134-140

Snow DH, Mackenzie G (1977).
Effect of training on some metabolic changes associated with submaximal endurance exercise in the horse.
Equine Vet J 9: 226-230

Snow DH, Baxter P, Rose RJ (1981).
Muscle fibre composition and glycogen depletion in horses competing in an endurance ride.
Vet Rec 108: 374-378

Snow DH, Rose RJ (1981).
Hormonal changes associated with long distance exercise.
Equine Vet J 13: 195-197

Spörri H (1987).
Blutkreislauf.
In: Wittke G (Hrsg.). Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7. Auflage.
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 209-301. ISBN 3-489-66216-4

Spörri H, Wittke G (1987).
Atmung.
In: Wittke, G. (Hrsg.). Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7. Auflage.
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 302-358. ISBN 3-489-66216-4

Stahl F, Dorner G (1982).
Responses of salivary cortisol levels to stress situations.
Endokrinologie 80: 158-162

Steinhardt M, Thielscher HH (2000).
Reactions of dairy cows to ACTH administration and ingestion of liquid feed at different age points before and in the course of rearing with automatic milk feeding-plasma cortisol, saliva cortisol, hematologic, metabolic variables and heart rate.
Dtsch Tierarztl Wochenschr 107: 180-187

Stick JA, Robinson NE, Krehbiel JD (1981).
Acid-base and electrolyte alterations associated with salivary loss in the pony.
Am J Vet Res 42: 733-737

Stryer L (1991).
Biochemie, 3. Auflage.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York. ISBN 3-86025-005-1

Thornton JR, Lohni MD (1979).
Tissue and plasma activity of lactate dehydrogenase and creatine kinase in the horse.
Equine Vet J 11: 235-238

Thornton JR (1985).
Hormonal responses to exercise and training.
Vet Clin North Am Equine Pract 1: 477-496

Toutain PL, Oukessou M, Autefage A, Alvinerie M (1988).
Diurnal and episodic variations of plasma hydrocortisone concentrations in horses.
Domest Anim Endocrinol 5: 55-59

Trilk JL, Lindner AJ, Greene HM, Alberghina D, Wickler SJ (2002).
A lactate-guided conditioning programme to improve performance.
Equine Vet J Suppl 34: 122-125

Tyler CM, Golland LC, Evans DL, Hogdson DR, Rose RJ (1996).
Changes in maximum oxygen uptake during prolonged training, overtraining and detraining in horses.
J Appl Physiol 81: 2244-2249

Tyler CM, Golland LC, Evans DL, Hogdson DR, Rose RJ (1998).
Skeletal muscle adaptations to prolonged training, overtraining and detraining in horses.
Pflugers Arch 436: 391-397

Vaihkonen LK, Hyypä S, Reeta Poso A (1999).
Factors affecting accumulation of lactate in red blood cells.
Equine Vet J Suppl 30: 443-447

Vaihkonen LK, Heinonen OJ, Hyypä S, Nieminen M, Poso AR (2001).
Lactate-transport activity in RBCs of trained and untrained individuals from four racing species.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 281: 19-24

Vaihkonen LK, Ojala M, Poso AR (2002).
Age-related changes and inheritance of lactate transport activity in red blood cells.
Equine Vet J Suppl 34: 568-572

Valberg, S (1986).
Glycogen depletion patterns in the muscle of standardbred trotters after exercise of varying intensities and durations.
Equine Vet J 18: 479-484

- Valberg S, Essen-Gustavsson B, Lindholm A, Persson SGB (1989).
Blood chemistry and skeletal muscle metabolic responses during and after different speeds and durations of trotting.
Equine Vet J 21: 91-95
- Valberg S, Häggendal J, Lindholm A (1993).
Blood chemistry and skeletal muscle metabolic responses to exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis.
Equine Vet J 25: 17-22
- Valberg S, Jonsson L, Lindholm A, Holmgren N (1993).
Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatine kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis.
Equine Vet J 25: 11-16
- Valette JP, Heiles PH, Wolter R (1996).
Multivariate analysis of exercise parameters measured during the training of Thoroughbred racehorses.
Pferdeheilkunde 12: 470-473
- Van den Hoven R (1983).
Various aspects of lactate production and disappearance in trotters during exertion.
Tijdschr Diergeneeskd 108: 760-765
- Van den Hoven R, Meijer AE, Wensing T, Breukink HJ (1985).
Enzyme histochemical features of equine gluteus muscle fibers.
Am J Vet Res 46: 1755-1761
- Van den Hoven R, Wensing T, Breukink HJ, Meijer AE, Kruip TA (1985).
Variation of fiber types in the triceps brachii, longissimus dorsi, gluteus medius, and biceps femoris of the horse.
Am J Vet Res 46: 939-941
- Van Heerden J, Dauth J, Dreyer MJ, Nichas E, Marshall C, De Waal DT (1990).
Selected laboratory parameters of thoroughbreds.
J S Afr Vet Assoc 61: 155-158
- Varady J, Tashenov KT, Boda K, Fejes J, Kosta K (1979).
Endogenous urea secretion into the sheep gastrointestinal tract.
Physiol Bohemoslov. 28: 551-559
- Vining RF, McGinley RA, Maksvytis JJ, Ho KY (1983).
Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol.
Ann Clin Biochem 20: 329-335
- Vining RF, McGinley RA, Symons RG (1983).
Hormones in saliva: Mode of Entry and consequent implications for clinical interpretation.
Clin Chem 29: 1752-1756

Vining RF, McGinley RA (1987).

The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls.
J Steroid Biochem 27: 81-94

Volfinger L, Lassourd V, Michaux JM, Braun JP, Toutain PL (1994).

Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released.
Am J Physiol 266: 434-441

von Engelhardt W (2005).

Arbeitsphysiologie unter besonderer Berücksichtigung des Pferdeleistungssportes.
In: v. Engelhardt W, Breves G (Hrsg.). Physiologie der Haustiere.
Enke/ Hippokrates Verlag Stuttgart.482-489. ISBN 3-8304-1039-5

Wachter H, Hausen A (1989).

Chemie für Mediziner, 6. Auflage.
Walter de Gruyter Verlag Berlin, New York. ISBN 3-11-011976-5

Walker RF (1989).

Salivary corticosteroids: Clinical and research applications.
J Clin Chem Clin Biochem 27: 234-235

Watanabe J, Mizuno S, Masuda N, Hayashi Y, Iwamoto K, Hirate J, Ozeki S (1984).

Salivary excretion of urea in dogs.
J Pharmacobiodyn 7: 294-303

Weber, C (1989).

Salivary concentrations of Glucose, urate, cholesterol and triacylglycerols.
J Clin Chem Clin Biochem 27: 234-235

Wels A (1987).

Physiologie der Bewegung.
In: Wittke G. (Hrsg.). Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7.Auflage.
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg. 656-674. ISBN 3-489-66216-4

Werkmann J, Lindner A, Sasse HHL (1996).

Conditioning effects of exercise of 5, 15 or 25 minutes´ duration at two blood lactate concentrations.
Pferdeheilkunde 12: 474-479

Williams CA, Kronfeldt DS, Hess TM, Saker KE, Waldron JN, Crandell KM, Hoffman RM, Harris PA (2004).

Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race.
Anim Sci 82: 588-594

Williamson LH, Andrews FM, Maykuth PL, White SL, Green EM (1996).

Biochemical changes in three-day-event horses at the beginning, middle and end of Phase C and after Phase D.
Equine Vet J Suppl 22: 92-98

9 Tabellarischer Anhang

Tabelle 28: Herzfrequenz in Herzschläge/Minute

Pferd	T	B	AB	AB7	AB15
Babsi	37	143	86	54	46
Conny	35	109	87	70	65
Diana	46	135	104	54	45
Dixi	37	119	70	48	43
Elvira	34	100	80	48	41
Fanny I	44	126	105	69	56
Fanny II	38	119	87	46	42
Hedi	42	119	98	61	45
Lady	56	119	94	63	48
Lotti	32	121	84	50	39
Nora I	38	110	84	49	42
Nora II	42	130	99	69	63
Petra	31	129	85	47	39
Ramsa	37	127	94	54	41
Sissi	39	129	89	63	51
Alfi	32	114	94	47	41
Maxi	38	123	119	61	55
Moritz	32	116	85	47	42
Schorsch	31	135	101	49	38
Wiggerl	36	125	108	49	38
Mittelwert	37,9	122,4	92,7	54,9	46
SEM	6	10,1	11,3	8,3	8

Tabelle 29: Laktat im Plasma in mmol/l

Pferd	0	T1	AB	AB7	AB15	S30	S60
Babsi	1,47	1,125	1,145	1,03	1,11	1,35	1,235
Conny	1,065	1,185	1,34	1,15	1,145	1,4	1,67
Diana	1,085	0,73	0,78	1,135	1,035	1,31	2,04
Dixi	0,985	0,645	0,77	0,545	0,595	0,9	1,02
Elvira	1,815	1,35	1,155	1,11	1		
Fanny I	1,595	1,055	1,245	1,86	2,065	2,29	2,485
Fanny II	1,805	0,765	0,84	0,87	1,14	1,41	1,58
Hedi	1,6	0,485	0,46	0,535	0,645	1,01	1,17
Lady	1,445	0,935	1,265	1,575	1,625	1,565	2,01
Lotti	1,165	1,035	1	0,735	0,935	1,13	1,535
Nora I	1,7	0,95	0,825	1,12	0,925		
Nora II	1,56	1,14	1,39	1,245	1,195	1,49	1,915
Petra	1,32	0,605	0,77	0,9	1,315	1,705	1,89
Ramsa	1,685	1,37	1,39	1,49	2,09	1,735	2,075
Sissi	1,105	0,82	0,655	0,775	0,835	1,055	0,82
Alfi	1,12	1,04	1,11	1,075	1,375	1,05	0,975
Maxi	1,155	0,88	1,315	1,395	1,19	1,425	1,255
Moritz	1,4		0,94	1,305	1,295	1,1	1,59
Schorsch	0,95	0,865	1,485	1,255	1,335	1,18	1,24
Wiggerl	1,21	1,13	0,8	0,785	0,895	1,235	1,35
Mittelwert	1,36	0,95	1,03	1,09	1,19	1,35	1,55
SEM	0,06	0,06	0,06	0,08	0,09	0,08	0,1

Tabelle 30: Laktat im Speichel in mmol/l

Pferd	0	T1	AB	AB15	T2	S30	S45	S60
Babsi	0,835	0,48	0,415	0,48	0,395	0,85	0,525	0,315
Conny	0,395	0,475	0,455	0,49	0,46	0,61	0,5	0,66
Diana	0,96	1,155	0,555	0,665	0,71	0,565	1,04	1,04
Dixi	0,395	0,435	0,295	0,36	0,57	0,555	0,93	0,845
Elvira	0,89	1,265	0,91	0,97	1,075			
Fanny I	1,525	3,085	2,27	1,54	1,425	1,565	1,44	1,47
Fanny II	0,495	3,555	1,66	0,58	0,51	0,635	0,505	0,56
Hedi	0,77	0,3	0,18	0,18	0,195	0,335	0,52	0,645
Lady	0,65	0,975	0,465	0,565	0,49	0,4	0,675	1,14
Lotti	0,73	2,12	3,465	1,21	0,585	0,8	0,83	
Nora I	0,45	1,47	0,915	0,44	0,59			
Nora II	2,195	1,325	1,21	1,31	1,16	0,89	0,81	0,68
Petra	0,55	0,405	0,475	0,46	0,495	0,625	0,565	0,655
Ramsa	2,735	1,24	4,945	1,63	0,835	0,795	0,995	0,8
Sissi	0,72	0,48	0,3	0,3	0,25	0,635	0,88	0,36
Alfi	0,56	0,315	0,36	0,33	0,3	0,385	0,655	0,47
Maxi	0,675	0,9	0,575	0,425	1,41	0,49	0,165	0,32
Moritz	1,48	0,765	0,615	0,64	0,645	0,715	0,81	0,72
Schorsch	1,12	0,55	0,785	0,475	0,39	0,725	0,635	0,78
Wiggerl	1,81		0,755	0,72	0,555	1,415		0,67
Mittelwert	1	1,12	1,08	0,69	0,65	0,72	0,73	0,71
SEM	0,14	0,21	0,27	0,09	0,08	0,08	0,07	0,07

Tabelle 31: Glucose im Plasma in mg/dl

Pferd	0	T1	AB	AB7	AB15	S30	S60
Babsi	95	83,9	57,2	75,35	79,95	89,8	83,8
Conny	77,4	76,8	60,1	71,45	74	85,8	96,85
Diana	82,8	82,4	41,9	57,9	67,85	91,9	87,05
Dixi	81,05	83,95	71,3	77,55	72,95	98,15	88,35
Elvira	72,75	81,5	50,35	66,95	77,8		
Fanny I	76,9	63,8	66,35	63,6	60,2	85,4	82,6
Fanny II	94,5	78,15	61,6	80,4	84,2	94,35	98,35
Hedi	77,15	67,2	48,6	52	54,05	81,4	84,95
Lady	79,5	68,95	55,25	60,1	54,65	76,75	89,4
Lotti	95,2	79,75	48,8	51,6	72,55	87,75	96,45
Nora I	52	85,4	54,9	62,25	67		
Nora II	72,95	69,45	60,6	66,15	68,15	78,8	85,25
Petra	68,15	62,1	52,5	55	60,4	77,5	87,25
Ramsa	87,9	97,45	46,6	62,5	76,25	102,8	96,9
Sissi	89,35	77,1	59,9	83,75	88,25	105,5	83,55
Alfi	77,75	73,15	56,25	67,5	63,6	80,85	94,95
Maxi	84,2	78,6	62,95	70,95	66,05	91,25	94,55
Moritz	105,75		53,2	68,9	73,7	90	91,75
Schorsch	81,75	65,55	47,25	74,7	69,35	83,7	78,25
Wiggerl	74,25	84,55	46,25	58,75	79,15	84,2	90,7
Mittelwert	81,3	76,8	55,1	66,4	70,5	88,1	89,5
SEM	2,6	2,1	1,7	2	2,1	1,9	1,4

Tabelle 32: Glucose im Speichel in mg/dl

Pferd	0	T1	AB	AB15	T2	S30	S45	S60
Babsi	20,35	1,9	0,8	1,75	0,75	323,95	26,3	68,05
Conny	15,2	2,1	1,4	1,35	1,45	46,8	66,75	31,95
Diana	112,8	6	1,7	0,7	0,85	39,3	96,15	69,15
Dixi	40,4	0,4	1,2	0,4	1,75	102,3	273,95	60,85
Elvira	43,05	5,9	2,8	0,5	1			
Fanny I	21	97,75	34	2,7	2,4	276,95	39,8	21,6
Fanny II	112,4	52,65	3,3	2	1,15	19,65	18,05	23,05
Hedi	73,3	1,5	0,65	0,65	0,65	40,4	53,3	81,7
Lady	207,2	23,45	2,1	5,1	0,9	60,8	120	24,7
Lotti	54,1	22	4,45	1,25	1,6	129,75	101,4	
Nora I	29,65	8,9	2	0,85	0,85			
Nora II	11,75	1,15	0,7	0,6	1,2	355,05	155,85	92,15
Petra	54,3	0,65	0,75	0,6	0,65	25,7	50,4	10,35
Ramsa	14,55	2,8	68,7	4,25	1,8	76,3	137,9	138,5
Sissi	85,55	4,55	0,95	0,95	0,7	166,65	41,6	109,85
Alfi	37,55	0,85	1,3	0,95	0,55	23,9	35,9	62,7
Maxi	68,4	2,25	2,6	1,2		240	42,05	80,75
Moritz	30,3	1,35	0,75	0,55	0,65	15,45	17,75	21,15
Schorsch	10,35	1,05	1,3	1,25	0,85	150,55	51,3	94,4
Wiggerl	65,65		4,6	1,05	2,1	33,2		30,1
Mittelwert	55,4	12,5	6,8	1,4	1,2	118,2	78,1	60,1
SEM	10,6	5,6	3,6	0,3	0,1	26,2	15,9	8,9

Tabelle 33: Laktatdehydrogenase im Plasma in IU/l

Pferd	0	T1	AB	AB7	AB15	S30	S60
Babsi	273	309,5	287	276	265,5	268,5	283,5
Conny	402	494,5	505	532	372	615,5	555
Diana	353	326,5	366,5	345,5	340	350,5	332,5
Dixi	505,5	325	368	362,5	355	378	366
Elvira	302	258	277,5	286,5	242,5		
Fanny I	250,5	209	224,5	217,5	217	244,5	218
Fanny II	385	366	333,5	385	357	366	398,5
Hedi	341,5	371	382	384,5	372	380,5	363
Lady	706,5	663	688,5	650	639,5	677,5	716,5
Lotti	272	300	287,5	277	262,5	325,5	373,5
Nora I	450	240,5	234,5	280,5	248,5		
Nora II	267,5	286	290,5	275	293	305	278
Petra	309	232	294	251,5	244,5	282	289
Ramsa	337	317,5	349,5	320	314	307	330
Sissi	244	229,5	266	263	279,5	273,5	268,5
Alfi	325,5	280	287	279,5	292,5	312,5	307
Maxi	585,5	493	599	484	480,5	637,5	653,5
Moritz	360		338	327	315,5	338	508
Schorsch	211	222,5	289,5	209,5	175	272	263
Wiggerl	289	297	300,5	304	287,5	327,5	335
Mittelwert	358	327	348	336	318	370	380
SEM	27	26	27	24	23	31	33

Tabelle 34: Laktatdehydrogenase im Speichel in IU/l

Pferd	0	T1	AB	AB15	T2	S30	S45	S60
Babsi	39	110,5	115	75,5	133	14,5	29,5	28,5
Conny	116,5	35,5	97,5	49,5	132,5	21,5	11	10,5
Diana	26	215	157,5	42	111,5	36	33,5	67
Dixi	52,5	84	210,5	59	197	61,5	40,5	66,5
Elvira	34,5	107,5	325	146	270			
Fanny I	7	266,5	796	155	422	53,5	5	6,5
Fanny II	7,5	129,5	123	83	101,5	53	24,5	16,5
Hedi	16	77	154,5	78,5	137	28,5	22,5	43
Lady	24	190,5	232	230,5	189	52,5	48,5	46
Lotti	58	123	321	131,5	309,5	49	47,5	
Nora I	15	142	621,5	172,5	399			
Nora II	107	157,5	156,5	155,5	148,5	73	24	22,5
Petra	27	41	69,5	47	98,5	98,5	33,5	54,5
Ramsa	14,5	112,5	180,5	107	147,5	34,5	49	41
Sissi	30,5	68,5	128	59,5	90,5	29	44	34,5
Alfi	11,5	63	113	74	160	14	26,5	15,5
Maxi	44,5	135,5	647,5	226,5		58,5	30	54,5
Moritz	67,5	171,5	168,5	133,5	285	31,5	24,5	23,5
Schorsch	144,5	283	639	313,5	424	57,5	43,5	66
Wiggerl	151,5		58,5	92,5	149,5	157,5		51,5
Mittelwert	50	132	266	122	206	51	32	38
SEM	10	16	50	16	26	8	3	5

Tabelle 35: Kreatinin im Serum in mg/dl

Pferd	0	T1	AB	AB7	AB15	S30	S60
Babsi	1,225	1,285	1,415	1,38	1,33	1,4	1,37
Conny	1,065	1,105	1,165	1,115	1,1	1,175	1,115
Diana	1,06	0,995	1,035	0,975	0,95	1,005	1,1
Dixi	1,26	1,315	1,32	1,31	1,34	1,56	1,38
Elvira	1,235	1,1	1,17	1,12	1,05		
Fanny I	1,32	1,39	1,425	1,465	1,47	1,405	1,525
Fanny II	1,035	0,97	0,98	0,955	0,975	1,015	1,025
Hedi	1,015	0,98	1,07	1,14	1,095	1,165	1,155
Lady	1,445	1,49	1,54		1,615	1,595	1,52
Lotti	1,46	1,415	1,475	1,46	1,47	1,56	1,52
Nora I	1,325	1,355	1,44	1,54	1,445		
Nora II	1,455	1,345	1,42	1,4	1,505	1,725	1,64
Petra	0,99	1,21	1,265	1,305	1,335	1,405	1,365
Ramsa	1,055	1,195	1,26	1,3	1,235	1,225	1,215
Sissi	1,11	1,065	1,085	1,095	1,19	1,14	1,15
Alfi	1,375	1,465	1,56	1,555	1,53	1,635	1,63
Maxi	1,04	1,14	1,11	1,125	1,02	1,15	1,125
Moritz	1,14		1,125	1,16	1,225	1,225	1,2
Schorsch	1,13	1,195	1,28	1,205	1,27	1,425	1,445
Wiggerl	1,315	1,52	1,535	1,45	1,42	1,56	0,74
Mittelwert	1,2	1,24	1,28	1,27	1,28	1,35	1,29
SEM	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,06

Tabelle 36: Kreatinin im Speichel in mg/dl

Pferd	0	T1	AB	AB15	T2	S30	S45	S60
Babsi	0,255	0,21	0,325	0,185	0,16	1,64		0,165
Conny	0,155	0,105	0,105	0,11	0,13	0,175	0,255	0,3
Diana	0,595	0,27	0,295	0,12	0,13	0,375	0,53	0,58
Dixi	0,42	0,16	1,165	0,175	0,25	0,36	1,47	0,38
Elvira		0,125	0,31	0,065	0,075			
Fanny I	0	0,59	0,57	0,17	0,335	0,9	0,365	0,01
Fanny II	0,355	0,54	0,255	0,15	0,135	0,105	0,12	0,125
Hedi	0,525	0,18	0,235	0,175	0,155	0,36	0,4	0,605
Lady	0,85	0,435	0,43	0,285	0,38	0,53	0,44	0,155
Lotti	0,66	0,71	0,87	0,165	0,2	0,47	0,145	
Nora I	0,87	0,24	0,33	0,14	0,23			
Nora II	0,155	0,14	0,15	0,155	0,14	0,495	0,33	0,46
Petra	0,365	0,065	0,095	0,085	0,07	0,3	0,34	0,14
Ramsa	0,145	0,23	0,455	0,255	0,18	0,355	0,235	0,075
Sissi	0,54	0,17	0,15	0,11	0,105	0,75	0,44	0,345
Alfi	0,115	0,105	0,15	0,115	0,135	0,26	0,385	0,53
Maxi	0,33	0,16	0,48	0,14		1,11	0,21	0
Moritz	0,41	0,155	0,2	0,145	0,145	0,2	0,21	0,195
Schorsch	0,835	0,205		0,27	0,27	0,465	0,365	0,455
Wiggerl	0,31		0,225	0,155	0,18	0,195		0,245
Mittelwert	0,42	0,25	0,36	0,16	0,18	0,5	0,39	0,28
SEM	0,06	0,04	0,06	0,01	0,02	0,09	0,08	0,05

Tabelle 37: Harnstoff im Serum in mg/dl

Pferd	0	T	AB	AB7	AB15	S30	S60
Babsi	33	31	33	28	34	34,5	30
Conny	25,5	28	30	26,5	25,5	28	28
Diana	30	36,5	37,5	34,5	32	36,5	40,5
Dixi	37	37	35	37	35,5	37,5	37,5
Elvira	20,5	26	27,5	25	29		
Fanny I	38	42	47	52,5	41	41,5	43
Fanny II	26	37	36,5	35	37,5	37,5	39,5
Hedi	23,5	33,5	37	35	36,5	34	31,5
Lady	38,5	36,5	42		36	42	39,5
Lotti	29	29	34	31	27,5	28,5	35
Nora I	26,5	32,5	30,5	33	34		
Nora II	36,5	40	41	35,5	37	38	41,5
Petra	23,5	29	25	25	25	31,5	32,5
Ramsa	31,5	28,5	29	28,5	25	31,5	33
Sissi	35,5	37,5	37	36,5	35,5	32,5	37
Alfi	33	31	30	35	33,5	36	36
Maxi	35	34	36	34	37,5	38,5	33,5
Moritz	36		30	23,5	31	29,5	35
Schorsch	27	29,5	69	32	28,5	33	31
Wiggerl	39,5	39	36	35	42,5	46	42
Mittelwert	31	34	36	33	33	35	36
SEM	1,3	1,1	2,1	1,5	1,1	1,1	1,1

Tabelle 38: Harnstoff im Speichel in mg/dl

Pferd	0	T1	AB	AB15	T2	S30	S45	S60
Babsi	32,5	34	51	24,5	23	18		29
Conny	13,5	24	30	26	32	6	10,5	8,5
Diana	11	37	60,5	14,5	28,5	25	22	28
Dixi	34,5	27	70,5	25,5	33	39,5	24,5	23,5
Elvira		26,5	44,5	23	30			
Fanny I	30,5	85	124	31,5	60,5	34	24	22,5
Fanny II	8,5	37	38	29,5	34,5	14	12	9
Hedi	16,5	31	46,5	32	45	24,5	23	26
Lady	35,5	53,5	65,5	53,5	47	22	33	27,5
Lotti	22	40	46	20	34,5	24	25	
Nora I	23,5	31,5	57,5	25	39,5			
Nora II	14	31	40	34	34,5	24,5	21	26,5
Petra	13	5	19	15	20,5	18	14,5	15,5
Ramsa	6,5	26	26	22	20	18	26	27
Sissi	24,5	24	28,5	21,5	30	25,5	29,5	17,5
Alfi	8	21,5	37,5	16	24,5	18	19,5	18
Maxi	34	35,5	95	24,5		21	24	22
Moritz	21	18,5	25	22,5	21,5	16,5	8,5	6
Schorsch	27	25,5		32,5	24,5	24	17	18,5
Wiggerl	30,5		51	26	33,5	40		33
Mittelwert	21	32	50	26	32	23	21	21
SEM	2,3	3,7	5,9	1,9	2,3	2	1,7	1,9

Tabelle 39: Kreatinkinase im Serum in IU/l

Pferd	0	T1	AB	AB7	AB15	S30	S60
Babsi	90,5	205,5	97,5	83,5	79	96	101
Conny	101,5	111	125,5	127,5	105	145,5	130,5
Diana	88	87	87,5	84	79	150	100
Dixi	71,5	66	97	60	62,5	72	68,5
Elvira	165	78,5	124	137	97		
Fanny I	53,5	51	56,5	55	52,5	72	81
Fanny II	38	48,5	72	69,5	39,5	44	93,5
Hedi	74,5	54,5	65	112,5	57,5	80,5	86
Lady	104,5	103	107,5		110	122	143
Lotti	44,5	81	55,5	44,5	69,5	60	58
Nora I	53	55,5	61	54,5	56		
Nora II	69,5	70,5	81,5	81,5	74,5	117	116
Petra	118	142,5	81,5	83	79	86,5	152,5
Ramsa	57	84,5	82,5	77	72,5	33	60,5
Sissi	59	83	70	70,5	64	79,5	85
Alfi	113,5	89	120	111,5	109,5	111,5	121,5
Maxi	54,5	56	52,5	60	56	83,5	95
Moritz	85		50,5	49,5	50	54,5	69,5
Schorsch	97	76	92	81	126	95	95,5
Wiggerl	57,5	86,5	69,5	63	61	73	65,5
Mittelwert	80	86	82	79	75	88	96
SEM	7	8	5	6	5	8	7

Tabelle 40: Kreatinkinase im Speichel in IU/l

Pferd	0	T1	AB	AB15	T2	S30	S45	S60
Babsi	3	1	2,5	1	0,5	7,5		3
Conny	2,5	1	0,5	0,5	2	1	1	2
Diana	4	3	2,5	0,5	1,5	2,5	4	2
Dixi	2	1	2,5	1	3,5	1	0	0,5
Elvira		1	2,5	2	3			
Fanny I	0	1,5	8	2,5	4,5	1,5	0	0
Fanny II	6	4	0	0,5	1	2	2	1,5
Hedi	0	1	2	0,5	1	1	0,5	2
Lady	2,5	3,5	3	1,5	0,5	0,5	3,5	0
Lotti	2,5	2	2	1,5	2,5	1	1	
Nora I	0,5	1	4,5	2	4			
Nora II	3	2	1,5	2,5	1,5	4	6,5	2,5
Petra	0	1,5	1,5	1,5	2,5	2	0,5	1
Ramsa	2	2,5	2,5	1	2	2,5	1,5	1
Sissi	2	1	2	2	1,5	0,5	0	2
Alfi	4	1	1,5	0,5	2,5	3	4	1
Maxi	5	1,5	9,5	1,5		3	2	3,5
Moritz	1,5	1,5	3,5	2,5	4	0,5	0,5	0,5
Schorsch	2,5	2,5		3	3	1,5	2	2,5
Wiggerl	4		0,5	0,5	2	5		1
Mittelwert	2,5	1,8	2,8	1,4	2,3	2,2	1,8	1,5
SEM	0,38	0,21	0,54	0,18	0,27	0,43	0,46	0,25

Tabelle 41: Cortisol im Serum in nmol/l

Pferd	0	T1	AB	AB7	AB15	S30	S60
Babsi	222,18	199,755	197,961	277,932	295,527	186,783	148,971
Conny	287,04	190,578	164,151	196,305	212,313	129,306	120,336
Diana	289,524	350,865	338,445	317,883	333,822	161,253	160,839
Dixi	219,903	151,524	177,606	189,957	225,699	181,332	124,545
Elvira	287,592	247,848	314,847	292,077	353,142		
Fanny I	183,885	196,995	186,3	214,038	213,417	181,884	158,01
Fanny II	178,158	209,829	183,954	163,944	184,23	135,102	100,74
Hedi	202,653	244,122	275,379	267,651	247,779	122,682	145,383
Lady	374,256	332,787	350,589		299,115	247,503	188,853
Lotti	177,606	147,246	162,771		265,719	264,408	173,121
Nora I	228,804	273,378	215,487	258,336	248,4		
Nora II	253,437	308,637	271,446	282,969	251,091	113,919	86,664
Petra	229,977	211,554	174,363	227,838	280,692	223,146	208,311
Ramsa	246,261	187,197	223,974	283,452	330,027	198,03	165,255
Sissi	199,962	264,063	219,282	264,27	229,218	207,621	168,429
Alfi	243,915	235,773	215,97	250,263	336,789	193,545	162,012
Maxi	286,971	160,494	190,44	204,93	174,432	152,007	139,035
Moritz	110,124		139,38	155,25	146,694	62,859	47,955
Schorsch	181,125	242,811	243,225	269,652	240,879	136,62	106,467
Wiggerl	187,749	154,974	219,834	181,056	180,159	128,685	106,053
Mittelwert	229,6	226,9	223,3	238,8	252,5	168,1	139,5
SEM	12,9	13,7	13,3	11,4	13,2	12	9,3

Tabelle 42: Cortisol im Speichel in nmol/l

Pferd	0	T1	AB	AB15	T2	S30	S45	S60
Babsi	0,9522	1,3248	1,0902	1,1316	1,5456	0,69	0,828	0,483
Conny	1,9872	0,7314	0,9936	0,5934	1,2558	0,1932	0,1656	0,0552
Diana	0,552	1,8354	1,6698	0,1794	0,621	0,4554	0,3312	0,4554
Dixi	1,3524	0,897	1,8768	1,4352	1,0626	1,4628	0,7038	0,8556
Elvira	2,001	1,3524	2,1252	0,9384	1,8492			
Fanny I	0,6348	1,5732	3,0912	0,897	2,6496	2,1114	0,9798	1,2834
Fanny II	0,4416	0,8556	1,0074	0,759	0,9384	0,552	0,2484	0,207
Hedi	0,8418	1,4076	1,0488	1,5456	1,0212	0,4002	0,2622	0,3588
Lady	1,9872	1,725	2,001	3,0084	3,2154	1,4904	1,6008	1,3386
Lotti	1,1316	1,6008	4,0296	1,5456	3,381	1,7802	1,2006	
Nora I	1,9458	2,0976	3,3534	1,0074	2,0838			
Nora II	0,7866	0,9384	0,897	0,966	1,4904	0,414	0,4692	0,1794
Petra	0,828	2,4702	1,0074	0,5244	1,5732	1,4904	0,4278	1,0212
Ramsa	0,1518	1,6974	1,794	0,8556	2,7462	1,518	0,8142	0,5934
Sissi	0,5796	0,5934	0,8004	0,7866	0,897	0,9384	0,7866	0,1104
Alfi		1,2006	1,4352	0,8418	2,484	0,4968	0,4416	0,3588
Maxi	2,0976	0,7866	1,6974	0,8556	1,2006	0,9108	0,5934	0,4692
Moritz	1,035	0,9798	0,9246	2,1252	2,415	0,2484	0,1518	0,0966
Schorsch	1,3386	1,7802	3,0084	0,3864	0,1932	0,9108	0,4002	0,4416
Wiggerl	1,1868		3,1464	2,9946	2,3736	0,5106		0,3864
Mittelwert	1,15	1,36	1,85	1,17	1,75	0,92	0,61	0,51
SEM	0,14	0,12	0,22	0,17	0,2	0,14	0,1	0,1

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Unshelm gilt mein Dank für die Überlassung des Themas und die Hilfe bei der Planung des Dissertationsprojektes.

Herrn Prof. Dr. Erhard danke ich herzlich für die freundliche Weiterbetreuung und konstruktive Kritik bis zur Fertigstellung der Arbeit.

Frau Dr. S. Schönreiter möchte ich für die Beratung während des experimentellen Teils und die Einarbeitung in das RIA-Verfahren danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. C. Wöhr für ihre freundliche und kompetente Betreuung, die viele Arbeit bei der Korrektur und die Beantwortung von unzähligen Fragen.

Für die Beratung in Statistikfragen gebührt mein Dank Herrn Prof. Dr. Osterkorn, Herrn H. Stanglmeier und besonders Herrn Dr. F. Ahrens.

Herrn Prof. Dr. Rambeck danke ich herzlich für die Beantwortung meiner Fragen zum Thema Tierernährung.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene möchte ich für ihre Hilfsbereitschaft und das gute Arbeitsklima danken, insbesondere Herrn Dr. S. Platz für viele gute Tipps, sowie Herrn H. Kuchler, Herrn L. Matschull und Frau N. Bucher für ihre Hilfe bei der Arbeit im Labor.

Für wertvolle Ratschläge bezüglich der Cortisolbestimmung danke ich Angelika Licht. Den Pferdebesitzern Fam. Köpf, Fam. Kotz, Fam. Müller und Fam. Vogtmann, Schwangau, gebührt mein Dank für ihr freundliches Entgegenkommen und die Bereitstellung der „Probanden“.

Monika Schmidt möchte ich für die gute Zusammenarbeit bei der Probenentnahme danken, sowie der Fam. Müller, Hohenschwangau, für die Überlassung eines Kellerraumes in ihrem Hotel zur Probenaufbereitung.

Meinen lieben Eltern bin ich zutiefst dankbar für ihre Geduld, Unterstützung, Motivation und die Beantwortung von chemischen Fragen.

Für humanmedizinische Beratung danke ich meiner Schwester Dr. Antje Kroner.

Meinem Lebensgefährten Volker Lordick möchte ich dafür danken, dass er mich immer moralisch unterstützt und mir viel andere Arbeit abgenommen hat, sowie für die Behebung von zahlreichen Computernotfällen.

Und last, but not least, gilt mein Dank den Pferden, die die vielen Probenentnahmen gelassen über sich ergehen liessen.

Lebenslauf

Kirstin Kroner

02.03.1973 geboren in München
Eltern: Dr. Jürgen Kroner, Chemiker
Dr. Elisabeth Kroner, geb. Küsters, Chemikerin
1979-1983 Grundschule in Egling
1983-1992 Gymnasium in Geretsried
08.07.1992 Allgemeine Hochschulreife
1992-1998 Studium der Tiermedizin an der LMU München
28.04.1998 Approbation als Tierärztin
2000-2003 Betrieb einer Reitanlage in Adelshofen
seit 2003 Betrieb einer Reitanlage in Valwigerberg