

Symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) als diagnostischer  
Parameter für Nierenerkrankungen bei Griechischen  
Landschildkröten (*Testudo hermanni*)

von Verena Lehmann

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

Symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) als diagnostischer  
Parameter für Nierenerkrankungen bei Griechischen  
Landschildkröten (*Testudo hermanni*)

von Verena Lehmann

aus Mönchengladbach

München 2023



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

Lehrstuhl für Innere Medizin

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: PD Dr. Petra Kölle



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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.  
Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Petra Kölle  
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Herbert Kaltner

Tag der Promotion: 11. Februar 2023



Meiner Familie





## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>PUBLIKATION 1: REVIEW ARTIKEL .....</b>	<b>2</b>
<b>III.</b>	<b>PUBLIKATION 2: ORIGINAL PUBLIKATION .....</b>	<b>20</b>
<b>IV.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>29</b>
<b>1.</b>	<b>Pretests .....</b>	<b>29</b>
<b>2.</b>	<b>Probanden .....</b>	<b>29</b>
<b>3.</b>	<b>Blutentnahme.....</b>	<b>31</b>
<b>4.</b>	<b>Weitere Verarbeitung und Lagerung der Proben.....</b>	<b>32</b>
<b>5.</b>	<b>Analysen im Labor .....</b>	<b>32</b>
<b>6.</b>	<b>Eignung von SDMA als diagnostischer Parameter in der Diagnostik von Nephropathien.....</b>	<b>33</b>
<b>7.</b>	<b>Weitere Parameter zur Diagnostik von Nephropathien und deren Korrelation zu SDMA .....</b>	<b>35</b>
<b>8.</b>	<b>Einfluss der Fütterung .....</b>	<b>38</b>
<b>9.</b>	<b>Limitationen der vorliegenden Studie .....</b>	<b>39</b>
<b>10.</b>	<b>Fazit .....</b>	<b>40</b>
<b>V.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>41</b>
<b>VI.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>43</b>
<b>VII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>44</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>52</b>
<b>IX.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>55</b>

---

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
ALP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
et al.	et alii (und andere)
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
IRIS	International Renal Interest Society
LC-MS	Liquid chromatography mass spectrometry
PRMT	Protein Arginin Methyltransferase
SDMA	Symmetrisches Dimethylarginin

## I. EINLEITUNG

Die Reptilienhaltung in Deutschland hat in den letzten Jahren zugenommen, was sich in der Verdopplung der Anzahl an Terrarien (MÜLLER 2020) und in Ergebnissen einer Umfrage der Exopetstudie unter Haltern und Züchtern bezüglich gehaltener Reptilienarten (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2018) zeigt. Innerhalb einer weiteren Umfrage der selben Studie steht dabei die Griechische Landschildkröte auf Platz 1 der aktuell von Tierhaltern gehaltenen Reptilienarten (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2018).

Mangelhafte Kenntnis in Bezug auf Haltung und Ernährung können potenziell zu Mangelerscheinungen und Erkrankungen führen. Insbesondere im Hinblick auf die Ernährung kann durch die Verwendung ungeeigneter Futtermittel eine irreversible Schädigung des Tieres eintreten. Proteinreiche Fütterungen durch inadäquate Futterpflanzen können dauerhaft zu Nierenerkrankungen führen, welche nicht heilbar, sondern nur therapierbar sind (KÖLLE 2000). Durch Laborkontrollen bestimmter Parameter, wie beispielsweise Harnsäure oder Kalzium-Phosphat-Verhältnis, können bedingt Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand der Nieren bei Schildkröten gezogen werden (KRAFT und DÜRR 2005, REAVILL und SCHMIDT 2010). Allerdings werden beide Parameter durch nicht renale Faktoren beeinflusst (J. M. MAIXNER, E. C. RAMSAY AND L. H. ARP 1987, SMELLER et al. 1978, LEINWEBER et al. 2019, ANDREANI et al. 2014) und reagieren bei einer Schädigung der Nieren erst sehr spät mit einem Anstieg der Werte, weswegen die Frühdiagnostik erschwert ist (KÖLLE 2009). Im Bereich der Labordiagnostik für Hund und Katze wurde der biochemische Parameter Symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) für die Nierendiagnostik etabliert, der sich zur Früherkennung von Nierenerkrankungen eignet und somit einen früheren Start der Therapie ermöglicht (NATHER 2017, HALL et al. 2014, NABITY et al. 2015). Bisher wurden keine Studien über die Anwendbarkeit von SDMA als diagnostischem Parameter bei Reptilien durchgeführt.

Ziel dieser Studie war es, die Anwendbarkeit von SDMA als diagnostischer Parameter zu überprüfen und SDMA Referenzwerte für Griechische Landschildkröten zu erstellen, um zukünftig einen weiteren Nierenparameter zur Diagnostik von Nierenerkrankungen etablieren zu können.

## **II. PUBLIKATION 1: REVIEW ARTIKEL**

Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Europäischen Landschildkröten (*Testudo spp.*)

**Verena Lehmann**

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

**Petra Kölle**

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

**Akzeptiert in der „Tierärztlichen Praxis“ am 20.06.2022**

- 
- 1 Übersichtsartikel
  - 2 **Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Europäischen Landschildkröten (*Testudo***
  - 3 **spp.)**
  - 4 **Diagnosis of kidney diseases in European tortoises (*Testudo* spp.)**
  - 5
  - 6 Autoren
  - 7 Verena Lehmann, Petra Kölle
  - 8 Institut
  - 9 Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-
  - 10 Universität München
  - 11
  - 12 Schlüsselwörter
  - 13 Reptilien, Chelonia, Harntrakt, Gicht, Nephropathie
  - 14 Key words
  - 15 Reptile, chelonia, urinary tract, gout, renal disease
  - 16
  - 17 eingereicht 20.01.2022
  - 18 akzeptiert 20.06.2022
  - 19
  - 20 Korrespondenzadresse
  - 21 Verena Lehmann
  - 22 Medizinische Kleintierklinik
  - 23 Zentrum für klinische Tiermedizin
  - 24 Ludwig-Maximilians-Universität München
  - 25 Veterinärstrasse 13
  - 26 80539 München
  - 27 Deutschland
  - 28 paper@verena-lehmann.de

**29 Zusammenfassung**

30 Die Diagnostik einer Nierenerkrankung bei Landschildkröten ist nur anhand der klinischen  
31 Allgemeinuntersuchung durch die Ausbildung von unspezifischen Krankheitssymptomen nur  
32 sehr eingeschränkt möglich und es bedarf umfangreicher zusätzlicher Untersuchungen, um  
33 die Diagnose abzusichern. Neben Blut- und Urinuntersuchung eignen sich bildgebende  
34 Verfahren wie Röntgen, Computertomographie und MRT zur Darstellung des Skelett- und  
35 Organsystems, während im Rahmen einer endoskopischen Untersuchung zusätzlich Proben  
36 entnommen werden können. Es zeigen sich artspezifisch deutliche Unterschiede in Bezug auf  
37 die Referenzwerte der Laborparameter, die teils erheblich durch Umwelteinflüsse, die  
38 Jahreszeiten oder auch das Geschlecht beeinflusst werden. Auch lässt sich feststellen, dass  
39 beispielsweise Nierenerkrankungen bei in Menschenobhut gehaltenen Landschildkröten bei  
40 Diagnosestellung meist sehr weit fortgeschrittenen sind, da diese Tiere, wie Reptilien generell,  
41 erst sehr spät im Krankheitsverlauf klinische Symptome zeigen. Jährliche Kontrollen bei einem  
42 auf Reptilien spezialisierten Tierarzt können dazu beitragen, Erkrankungen frühzeitig zu  
43 erkennen.

44

**45 Abstract**

46 The diagnosis of kidney diseases in tortoises is only possible to a very limited extent on the  
47 basis of the general examination due to the development of unspecific disease symptoms.  
48 Extensive additional examinations are required to confirm the diagnosis. In addition to blood  
49 and urine tests, imaging techniques such as X-ray, computed tomography and MRI are suitable  
50 for visualizing the skeletal and organ systems, while additional samples can be taken during  
51 an endoscopic examination. There are clear species-specific differences with regard to the  
52 reference values of the laboratory parameters, which are in part significantly influenced by  
53 environmental influences, the seasons or even gender. It can also be seen that kidney  
54 diseases in tortoises kept in captivity are usually very advanced at the time of diagnosis, since  
55 these animals, like reptiles in general, show a pronounced lack of symptoms. Annual checks  
56 by a veterinarian specialized in reptiles can help to detect diseases at an early stage.

57

58

**59 Einleitung**

60 Eine Datenerhebung der European Pet Food Industry in 2020 ergab, dass in 88 Millionen  
61 Haushalten in Europa mindestens ein Haustier gehalten wird, darunter 9 Millionen (2,94 %)   
62 Reptilien in privater Haltung (1, 2). Laut Zentralverband Zoologischer Fachhändler (ZZF) ist  
63 2020 in Deutschland die Zahl der Terrarien im Vergleich zum Vorjahr um 8 % auf 1,3 Millionen  
64 gestiegen (3). Eine durch die tierärztliche Fakultät in Leipzig durchgeführte Exopet-Studie  
65 konnte ebenfalls die Zunahme der Haltung von Reptilien in deutschen Haushalten bestätigen



66 [5]. Neben der Bartagame (*Pogona vitticeps*) zählt die Griechische Landschildkröte (*Testudo*  
67 *hermanni*) zu einer der beliebtesten und am häufigsten gehaltenen Reptilienspezies (4, 5). Die  
68 Griechische Landschildkröte war unter Haltern und Züchtern eine der am häufigsten  
69 genannten Art, die privat gehalten wird (n = 822 Nennungen) (5). Des Weiteren hat die  
70 Auffangstation für Reptilien München e.V., die zu einer der größten Auffangstationen in  
71 Deutschland zählt, im Zeitraum von 2005 bis Ende 2015 insgesamt 10.175 Reptilien  
72 aufgenommen, davon 43,8 % Schildkröten.

73 Auch wenn sich die Haltung in den letzten Jahren verbessert hat, treten immer noch  
74 Erkrankungen durch Haltungsfehler auf (6, 7). Grundsätzlich werden die meisten  
75 Erkrankungen bei Reptilien erst in einem fortgeschrittenen Zustand erkannt, da die Tiere erst  
76 sehr spät unspezifische Symptome zeigen. Eine frühe Diagnose von Krankheiten durch  
77 Tierarzt und/oder Besitzer wird durch diesen Fakt erschwert (8–10). In der Studie von Seybold  
78 (11) zeigte sich, dass in der pathologischen Untersuchung bei 65 % der untersuchten Reptilien  
79 eine Nierenerkrankung diagnostiziert werden konnte. Bei 22,1 % dieser Fälle stellte dies durch  
80 die Schwere der Erkrankung die vermutete Todesursache dar (11, 12). Insbesondere bei  
81 Landschildkrötenarten treten Nierenerkrankungen sehr häufig auf, wobei die erkrankten Tiere  
82 meistens erst in einem fortgeschrittenen Stadium dem Tierarzt vorgestellt werden (13, 14).  
83 Daher lassen engagierte Landschildkrötenhalter den Gesundheitszustand ihrer Tiere durch  
84 jährliche Kontrolltermine inklusive Laboruntersuchungen beim Tierarzt überprüfen, um den  
85 Gesundheitszustand vor der Hibernation zu bestimmen und gegebenenfalls eine adäquate  
86 und frühzeitige Therapie von Nierenerkrankungen durchführen zu können (9).

87

### 88 **Anatomie, Physiologie und Pathologie des Urogenitalsystems der** 89 **Landschildkröten**

90 Die Nieren liegen in der kaudalen Zölonhöhle hochdorsal und stellen sich im Querschnitt als  
91 dreieckige Gebilde (Abb. 1) dar (15, 16). Im Gegensatz zu den Nieren der Säugetiere gibt es  
92 bei Reptilien keine Untergliederung in Nierenrinde und Nierenmark. Das Nephron der  
93 Landschildkröten ist prinzipiell wie auch beim Säuger aus Glomerulus und Tubulus aufgebaut,  
94 es fehlt jedoch die Henle-Schleife (11). Die Sammelrohre gehen direkt in die Ureteren über  
95 und münden mittels der Papille dorsomedial im Proctodeum der Kloake, im sogenannten  
96 Urodeum. Über die Kloake gelangt der Urin dann retrograd in die Harnblase. Bei  
97 Landschildkröten aus ariden Regionen wird hauptsächlich die wasserunlösliche Harnsäure  
98 über die Nieren als Endprodukt des Stickstoffwechsels ausgeschieden (Uricothelie). Analog  
99 zum Vogel besitzen Reptilien ein renales Pfortadersystem. Landschildkröten besitzen eine  
100 zweizipflige Harnblase, die auch als Wasserreservoir dient, da hier Wasser rückresorbiert  
101 werden kann. Die Blase mündet im Bereich des Urodeum der Kloake (7, 17). In der Studie von  
102 Kölle (14) wurde die Nierengröße in Abhängigkeit der Karapaxlänge bei Landschildkröten

103 bestimmt. Dabei stellte sich heraus, dass während die absolute Nierenlänge mit steigender  
104 Karapaxlänge zunimmt, die relative Nierenlänge sinkt. Die durchschnittliche Nierenlänge  
105 wurde mit 11,9 % +/- 4,0 % der Karapaxlänge ermittelt (14).



106  
107 Abb. 1 Makroskopisch unauffällige Nieren einer Landschildkröte. Quelle: P. Koelle.  
108 Fig. 1 Macroscopically normal kidneys of a tortoise. Source: P. Koelle.

109  
110 Renale Erkrankungen können nicht nur primär die Nieren betreffen, sondern auch sekundär  
111 durch andere Faktoren entstehen. Als Ursprung für Nephropathien kommen bei  
112 Landschildkröten verschiedene Ursachen infrage: Haltungsverfehler, wie mittel- und langfristig zu  
113 niedrige Haltungstemperaturen, Wassermangel und übermäßige Proteinzufuhr, Infektionen  
114 durch Bakterien, Viren, Pilze und Parasiten sowie nephrotoxische Substanzen wie z.B.  
115 Gentamicin (18–20). Nephropathien lassen sich dabei anhand der Lokalisation der  
116 Veränderung in 2 Gruppen unterteilen: Glomerulopathie und Tubulopathie (11, 15). In der  
117 Studie von Kölle (14) wurden 1086 Landschildkrötenpatienten untersucht und bei 26,3 % der  
118 Tiere Nephropathien klinisch diagnostiziert, die entweder als Hauptbefund oder als  
119 Nebenbefund auftraten. Dabei konnte festgestellt werden, dass Nephropathien als  
120 Hauptbefund eine Art- und Geschlechtsprädisposition aufwiesen, sodass Maurische  
121 Landschildkröte und männliche Tiere stärker betroffen waren (14). Auch in der Studie von  
122 Seybold (11) wurde gezeigt, dass von 538 Reptilien 65,6 % einen oder mehrere Nierenbefunde

123 in der pathologischen Untersuchung inklusive Histopathologie aufwiesen. Dabei wurden vor  
124 allem Tubulopathien nachgewiesen (11). Zu demselben Schluss kam auch Sinn (12) in seiner  
125 retrospektiven Studie, bei der 64 % der Reptilien Krankheiten des Harnapparats zeigten und  
126 die Nieren bei der Gruppe der Landschildkröten das am häufigsten betroffene Organ waren.  
127 Bei 68,6 % der untersuchten Landschildkröten war laut Sinn (12) die interstitielle Nephritis die  
128 häufigste Form der Nierenerkrankungen (12).

129

## 130 **Diagnostik von Nierenerkrankungen**

### 131 **Anamnese**

132 Neben der klinischen Untersuchung spielt eine ausführliche Anamnese eine sehr wichtige  
133 Rolle, da dort Informationen über Haltung, Haltungsbedingungen,  
134 Gruppenszusammensetzung, Fütterung sowie über die Überwinterung erfragt werden können  
135 (21). Dies vereinfacht die spätere Diagnostik, da Fehler in der Haltung Hinweise auf  
136 Nierenerkrankungen geben können, wenn beispielsweise proteinreiche Futtermittel verfüttert  
137 werden, zu trockener Bodengrund verwendet wird oder kein adäquater Zugang zu  
138 Trinkwasser zur Verfügung steht. Ebenso können Beobachtungen der Besitzer, wie  
139 verändertes Aussehen des Urins, schon Hinweise auf eine Nierenerkrankung geben.

140

### 141 **Allgemeine Untersuchung**

142 In Bezug auf Nierenerkrankungen ist bei der klinischen Allgemeinuntersuchung besonders auf  
143 die Augen und die Bemuskelung als mögliche Anzeichen von generalisierten Erkrankungen zu  
144 achten (22). Exemplarisch dazu können zum Beispiel Lidödeme auf eine Nierenerkrankung  
145 hindeuten (23). Generell kann Ödematisierung auf eine Harnstasis hinweisen. Ein weiteres  
146 Symptom kann urämischer Geruch aus der Maulhöhle sein. Gelegentlich zeigt sich auch eine  
147 Hinterhandlähmung oder eine Obstipation durch stark geschwollene Nieren. Zusätzlich sollte  
148 bei in Menschenobhut gehaltenen Reptilien das Gewicht durch den Besitzer regelmäßig  
149 überprüft werden (10), da gerade bei chronisch verlaufenden Nierenerkrankungen eine  
150 Abnahme des Körpergewichts feststellbar ist (24). In seltenen Fällen wird der Gewichtsverlust  
151 durch große Mengen an Urin bei Harnstasis oder durch Kotmassen bei Obstipation kaschiert.  
152 Klinische Symptome, die festzustellen sind oder vom Besitzer berichtet werden, sind häufig  
153 unspezifisch, wie Futterselektion bis hin zur Inappetenz und verminderter Aktivität. Teilweise  
154 sind auch veränderter (oft schleimiger oder gallertartiger) Urin oder auch sistierender  
155 Urinabsatz, sowie geschwollene Gelenke festzustellen (21, 25).

156

### 157 **Labordiagnostik**

#### 158 **Blutuntersuchung**

159 Die Blutentnahme bei Landschildkröten wird aufgrund der kernhaltigen Erythrozyten mit einer  
160 großvolumigen Kanüle durchgeführt (26–28) und bei einem gesunden Tier kann eine  
161 Maximalmenge von 0,4 ml je 100 g Körpergewicht entnommen werden (28, 29).  
162 Referenzbereiche der jeweiligen Parameter für eine Vielzahl von Reptilienarten wurden in  
163 verschiedenen Quellen bereits publiziert (25, 27, 28, 30, 31).

164 Als Punktionsstelle bei Landschildkröten ist die dorsale Schwanzvene (Vena coccygealis  
165 dorsalis) zu präferieren, jedoch kann es durch anatomische Besonderheiten, wie der kurze  
166 Schwanz bei weiblichen Griechischen Landschildkröten, nötig sein, auch die Jugularvene  
167 (Vena jugularis) oder den subcarapaxialen Venenplexus zu verwenden (29).

168 Die Ergebnisse der Laboruntersuchung können durch die Entnahmestelle der Blutprobe sowie  
169 durch Beimischung von Lymphe beeinflusst werden (32, 33). Für die Diagnostik von  
170 Nierenerkrankungen bei Landschildkröten eignen sich folgende biochemische Parameter:  
171 Harnsäure (UA), Harnstoff (BUN), Natrium (Na), Kalium (K), Kalzium (Ca), Phosphor (P),  
172 Kalzium-Phosphat-Verhältnis (Ca:P-Verhältnis), Magnesium (Mg) und Chlorid (Cl) (7, 18, 28,  
173 34, 35). Neben der Punktionsstelle hat außerdem das Geschlecht und insbesondere die  
174 Jahreszeit einen großen Einfluss auf die biochemischen Parameter UA, BUN, Ca, Na und K  
175 bei Landschildkröten (30, 36, 37). So wirken sich die Fütterung oder hormonelle Einflüsse auf  
176 die Konzentration von Kalzium und Phosphat aus, während der Dehydratationsgrad,  
177 Proteingehalt der Futtermittel sowie die Saisonalität beispielsweise Einfluss auf die  
178 Konzentration der Harnsäure und des Harnstoffes haben (28, 30, 38, 39). Der Parameter  
179 SDMA (Symmetrisches Dimethylarginin) ist zur Früherkennung bei Hunden und Katzen  
180 etabliert, bei Reptilien liegt bisher nur eine Studie für die Griechische Landschildkröte vor (40).

181 Als relevantester Parameter zur Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Schildkröten haben  
182 sich Harnsäure, Harnstoff, Natrium und Kalium sowie das Kalzium-Phosphat-Verhältnis  
183 bewährt (31, 35). Allerdings konnte nachgewiesen werden, dass eine Fütterung von  
184 Landschildkröten mit einem proteinreichen Futter bereits zu einem Anstieg der Harnsäure im  
185 Blut in den ersten 8 Tagen führt (14). Ansonsten steigen Harnsäurewerte erst bei einer schweren  
186 Schädigung der Nieren an (24). Nichtsdestotrotz ist die Harnsäure ein wichtiger Parameter zur  
187 Bestimmung von Nierenerkrankungen. In der Studie von Hernandez-Divers (41) wurden im  
188 Rahmen der endoskopischen Untersuchungen auch biochemische Parameter bestimmt.  
189 Dabei stellte sich heraus, dass bei persistierender Urikämie immer eine Nephropathie vorlag,  
190 während aber im Umkehrschluss nicht jede Nephropathie von einer Urikämie begleitet wurde  
191 (41).

192 Das Kalzium Phosphat-Verhältnis ändert sich im Gegensatz zur Harnsäure früher (24, 28). Als  
193 Referenzwert wird in der Literatur ein Ca:P-Verhältnis von 2-3:1 angegeben. Sinkt der Quotient  
194 unter 1 wird von einer Nierenerkrankung ausgegangen (28). Weibchen weisen in der Phase



195 der Eianbildung einen physiologisch höheren Kalziumwert und damit auch ein verändertes  
196 Ca:P-Verhältnis auf (24, 36, 37, 42–44).

197 Aspartat-Aminotransferase ist unter anderem im proximalen Nierentubulus in den Epithelzellen  
198 vorhanden, was zu einem Anstieg dieses Wertes bei Veränderungen in diesem Bereich der  
199 Niere führt. Allerdings ist AST auch in anderen Geweben, wie Leber- und Muskelzellen,  
200 vorhanden und deswegen kein nierenspezifischer Parameter (24, 28).

201 Die Ergebnisse der Laboruntersuchungen können durch die Benutzung verschiedener  
202 Blutanalysegeräte variieren (32).

203

#### 204 **Urinuntersuchung**

205 Die Griechische Landschildkröten zählen zu den uricothelen Reptilien, das heißt sie scheiden  
206 fast ausschließlich Harnsäure als Endprodukt des Stickstoffstoffwechsels aus. Diese wird über  
207 die proximalen Tubuli der Nieren sezerniert und über den Urin ausgeschieden. Da die  
208 Landschildkröten im Gegensatz zu Schlangen und vielen Echsen eine Harnblase (Abb. 2)  
209 besitzen, ist es möglich, Urinproben zu gewinnen. Je nach Füllungsgrad kann diese bis zur  
210 Herzbasis reichen. Bei Griechischen Landschildkröten kann über die ultraschallgestützte  
211 Punktion der Blase oder über die Katheterisierung direkt aus der Harnblase Urin entnommen  
212 werden (13, 45, 46). Da die Ureteren in die Kloake und nicht in die Harnblase münden und der  
213 Urin somit sekundär in die Harnblase gelangt, kann der Urin postrenal durch  
214 Resorptionsprozesse in der Harnblase, in Colon oder in der Kloake bei Ausscheidung noch  
215 nachträglich verändert und z.B. mit Pflanzenbestandteilen aus dem Darm kontaminiert werden  
216 (24, 47). Neben den bereits genannten Resorptionsprozessen findet auch beim Baden der  
217 Landschildkröten eine Wasseraufnahme retrograd über die Harnblase statt, weswegen das  
218 spezifische Gewicht nur wenig Aussagekraft hat (16, 19). Mögliche Indikationen zur  
219 Urinuntersuchung sind neben Nieren- oder Harnblasenerkrankungen auch Leberkrankungen  
220 und die Untersuchung auf Parasiten im Urin, wie zum Beispiel Hexamiten (Abb. 3 und Abb. 4).  
221 Dazu kann sowohl die flüssige Phase des Spontanurins als auch Zystozenteseharn verwendet  
222 werden. Letzteres kann über die Ultraschallgestützte Punktion kranial der Hintergliedmaße  
223 entnommen werden (28). Trotz der anatomischen und physiologischen Besonderheiten ist  
224 eine Untersuchung von Zystozentese- oder Katheterharn möglich (45, 46, 48). Es ist jedoch  
225 zu beachten, dass praktisch immer Verunreinigungen durch die Passage des Kloakenbereichs  
226 vorhanden sind, die eine Interpretation erschweren. Es kann Farbe, Konsistenz und  
227 spezifisches Gewicht des Urins bestimmt werden sowie mittels Teststreifen Hämoglobin,  
228 Leukozyten, Nitrit, pH-Wert, Protein, Ketonkörper, Urobilinogen, Bilirubin und Glukose analog  
229 zum Säugetier. Eine mikroskopische Untersuchung gibt Rückschlüsse auf Kristalle, Zylinder,  
230 Erythrozyten und Parasiten (14, 49–52). Während amorphe Urate und Ammoniumbiurate  
231 physiologischerweise bei Landschildkröten vorkommen können, kann das Vorhandensein

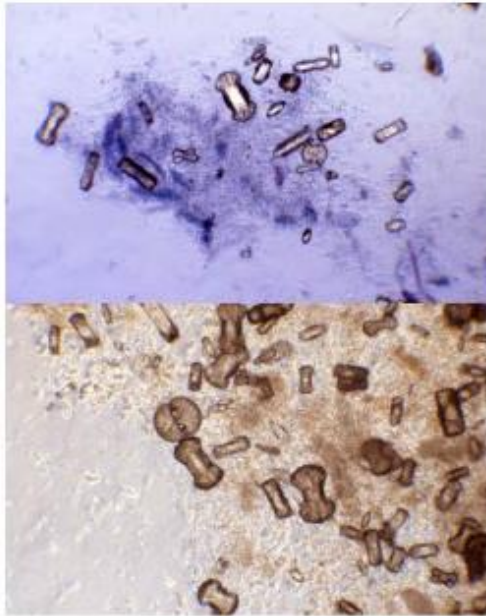
232 von Harnsäure- oder Kalziumoxalatkristallen ein Hinweis für eine Nierenerkrankung sein (14,  
233 18, 28, 35).  
234



235  
236  
237  
238  
239

Abb. 2 Lage der zweizipfligen Harnblase. Quelle: P. Koelle.

Fig. 2 Location of the bicuspid urinary bladder. Source: P. Koelle.



240

241

242 Abb. 3 Harnsäurekristalle bei einer an Gicht erkrankten Landschildkröte. Quelle: P. Koelle.

243 Fig. 3 Uric acid crystals in a tortoise suffering from gout. Source: P. Koelle.

244

245



246

247

248 Abb. 4 Gallertartige Urin bei einer Schildkröte mit Hexamitiasis. Quelle: P. Koelle.

249 Fig. 4 Jelly-like urine in a tortoise with hexamitiasis. Source: P. Koelle.

250

251

252 Prinzipiell ist auch eine Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) zur Evaluierung  
 253 der Nierenfunktion möglich, was die Studie von Divers und Mitarbeiter (53) mit 23 Grünen  
 254 Leguanen (*Iguana iguana*) zeigte. Dort wurde diese Untersuchung zusätzlich zur  
 255 endoskopischen Untersuchung der Nieren inklusive Biopsien und Laboruntersuchung  
 256 biochemischer Parameter durchgeführt (53).

257

258 **Tab. 1** Übersicht über Parameter der Urinuntersuchung bei gesunden Europäischen  
 259 Landschildkröten nach Kölle (14).

260 **Table 1** Overview of parameters of urine examination in healthy European tortoises according  
 261 to Kölle (14).

Parameter	Wert
Spezifisches Gewicht	1.0003-1.014 g/l (95%-Perzentil)
pH-Wert	7,0-9,0 (95%-Perzentil)
Farbe	farblos
Viskosität	wässrig
Farbe des Präzipitats	weiß
Protein (Harmteststreifen)	0 g/dl
Glukose (Harmteststreifen)	0 mg/dl

262

263

#### 264 **Bildgebende Diagnostik**

##### 265 **Röntgen**

266 Als eine nichtinvasive Art der Diagnostik ohne erforderliche Narkose kann das Röntgen genutzt  
 267 werden (54, 55). Bei Landschildkröten werden mindestens 2, besser 3 Projektionsebenen zur  
 268 vollständigen Beurteilung angefertigt (25, 54, 56). Im Normalzustand können die Nieren nicht  
 269 dargestellt werden (54), jedoch können sich sekundäre Anzeichen, wie die Demineralisierung  
 270 der Knochen, zeigen. Insbesondere bei Vitamin-D-Hypervitaminose bzw. Nephrokalzinose  
 271 sind die Nieren in den meisten Fällen erkennbar (24). Beim latero-lateralen Strahlengang kann  
 272 Magendarmtrakt, Lunge, aber auch ggf. die Nieren und auch die Harnblase dargestellt werden.  
 273 Zur Unterstützung der Diagnostik können Kontrastmittel verwendet werden (14, 54).

274

##### 275 **Urographie und Zystographie**

276 Bei Reptilien werden weder die Urographie noch die Zystographie standardmäßig bei der  
 277 Diagnostik eingesetzt, da bisher nur wenige Studien dazu bei Reptilien vorliegen. Dabei bietet  
 278 diese Technik den Vorteil, eine krankhaft veränderter Nierengröße durch eine  
 279 Röntgenaufnahme mittels Kontrastmittel darzustellen. Bei der Studie von Kölle et al. (57)



280 wurden an zehn gesunden Landschildkröten sowie an drei Tieren mit hohen Harnsäurewerten  
281 (>15 mg/dl) eine Urographie beziehungsweise Zystographie durchgeführt. Dabei wurde über  
282 die dorsale Schwanzvene ein Kontrastmittel (Iopamidol) injiziert und im Anschluss nach  
283 definierten Zeitabständen Röntgenbilder angefertigt. Die besten Ergebnisse konnten nach  
284 einer Dauer von 30 Sekunden post injectionem erzielt werden. Außerdem konnte gezeigt  
285 werden, dass bei den erkrankten Tieren eine Veränderung der Größe der Niere dargestellt  
286 werden konnte (57).

287

### 288 **Ultraschall**

289 Bei Landschildkröten eignet sich die Untersuchung mittels Ultraschall zur Diagnostik der  
290 inneren Organe inklusive der Nieren (21, 25, 55). Analog zum Kleintier eignen sich Scanner  
291 mit 7,5 bis 10 MHz (24, 25). Allerdings gestaltet sich diese Untersuchung bei Landschildkröten  
292 schwieriger als bei anderen Tieren, da aufgrund der anatomischen Besonderheiten nur an  
293 wenigen Stellen eine Ankopplung des Ultraschallkopfes möglich ist. Idealerweise werden  
294 Landschildkröten vor der Untersuchung gebadet, da sich dies positiv auf die Ankopplung  
295 auswirkt. Das Tier wird entweder in die rechte Seitenlage oder in die Bauchlage mit  
296 freischwebenden Gliedmaßen verbracht. Als Scanner kann in Abhängigkeit des Tieres ein  
297 Mikrokonvexscanner oder ein Linearscanner verwendet werden. Bei kleinen Arten und bei  
298 Jungtieren ist es auch mit einem kleinen Schallkopf nicht möglich, in den Spalt zwischen  
299 Panzer und Gliedmaßen zu gelangen (21). Allerdings ist bei Schlüpflingen eine Untersuchung  
300 durch den Panzer aufgrund der geringen Mineralisation möglich (42). Das präfemorale Fenster  
301 eignet sich zur Beurteilung der Gonaden, Leber, Niere, Blase und Darm (21, 25).

302 Im Querschnitt zeigt die gesunde Niere eine dreieckige Form mit echoreicher, körniger Struktur  
303 (24). Eine Ultraschalluntersuchung erlaubt die Identifizierung von Nierenschwellungen sowie  
304 tumorösen Veränderungen, die meist mit einer homogenen Größenänderung einhergehen und  
305 die Darstellung von Gichttophi, welche sich als echoreiche Areale präsentieren (21, 23).

306

### 307 **Magnetresonanztomographie (MRT) und Computertomographie (CT)**

308 Neben Ultraschall und Röntgen stellen MRT und CT weitere Möglichkeiten zur bildgebenden  
309 Diagnostik dar (54, 55, 58–63). Bei der Diagnosestellung kann das CT gegenüber dem  
310 Röntgen von Vorteil sein, was die Studie von Keller et al. (46) belegt. Dort wurden bei 4 Tieren  
311 mit Urolithiasis beide Verfahren eingesetzt und bei der Hälfte konnten durch das CT weitere  
312 Informationen erhalten werden (46). Während das CT sich besonders eignet, um knöcherne  
313 Strukturen darzustellen, wird das MRT besonders bei Weichteilgewebe eingesetzt (60–62).  
314 Die Benutzung eines jodhaltigen Kontrastmittels kann bei der Darstellung der Niere und der  
315 Ureteren zur Hilfe genommen werden (63). In der Studie von Gerster et al. (64) wird der Vorteil  
316 von CT Untersuchung beim Menschen gegenüber MRT und Farbdopplerultraschall dargelegt

317 (64). Auch in der Reptilienmedizin gibt es einige Studien bei diversen Arten, die verschiedene  
318 Fragestellungen unter Nutzung von CT und/oder MRT untersuchten (59, 63, 65–67). Auch  
319 Mathes und Fehr (68) zeigten mit Fallberichten die Nützlichkeit des CT bei bestimmten  
320 Erkrankungen und deren großen Vorteil in der Diagnostik bei Reptilien (68). In der Studie von  
321 Mathes et al. (61) wurden Richtlinien zur Messung der inneren Organe, inklusive der Nieren  
322 erarbeitet, die helfen sollen, Referenzwerte für einzelne Arten zu erstellen (61).

323

#### 324 Endoskopie

325 Die Zölioskopie eignet sich als wichtiges diagnostisches Mittel zur dreidimensionalen  
326 Beurteilung der inneren Organe inklusive der Nieren mit gleichzeitiger Möglichkeit der  
327 Biopsieentnahme (24, 54, 69, 70). Letztere können zur histologischen, mikrobiologischen oder  
328 parasitologischen Untersuchung verwendet werden (21, 24, 41, 71).

329 Für die Untersuchung sollten die Tiere gefastet haben, um so einen übermäßig gefüllten  
330 Magen-Darmtrakt zu vermeiden und das Sichtfeld zu vergrößern. Der Patient wird in die rechte  
331 Seitenlage mit nach kaudal ausgestreckter Extremität gelagert. Der Zugang erfolgt über den  
332 kranialen Schenkelspalt (24, 41, 71).

333 Per Endoskopie können sowohl Nierengicht als auch Abszesse oder Granulome  
334 makroskopisch diagnostiziert werden. Während sich Abszesse und Granulome über das  
335 Oberflächenniveau erhaben darstellen, zeigen sich bei Nierengicht Ablagerungen in den  
336 Nieren (Abb. 5). Bei schwerem Krankheitsverlauf sind auch andere Organe, wie Leber, Lunge,  
337 Herz und Magen-Darm-Trakt betroffen (21). Für die Entnahme von Biopsien der Nieren eignet  
338 sich der retroperitoneale Zugang (41). Nachteilig ist die erforderliche Narkose, die relativ tief  
339 sein und Analgesie beinhalten muss, was bei schwer erkrankten Schildkröten ein erhöhtes  
340 Risiko für Narkosezwischenfälle mit sich bringt.

341



342

343 Abb. 5 Anschnitt einer Gichtniere mit makroskopisch erkennbaren weißlich-gelblichen  
344 Uratablagerungen. Quelle: P. Koelle.

345 Fig. 5 Section of a gouty kidney with macroscopically recognizable whitish-yellowish urate  
346 deposits. Source: P. Koelle.

347

### 348 **Fazit für die Praxis**

349 Nierenerkrankungen stellen eine häufige Diagnose bei Landschildkröten dar. Die  
350 Diagnosestellung ist komplex und stellt im Praxisalltag eine Herausforderung dar. Der Einsatz  
351 mehrerer diagnostischer Methoden ist erforderlich. Eine Therapie wird durch eine meist sehr  
352 späte Diagnose erschwert. Eine jährliche Kontrolle bei einem auf Reptilien spezialisierten  
353 Tierarzt, welche Laboruntersuchungen, Urinuntersuchung sowie bildgebende Verfahren  
354 beinhalten sollte, kann zur Früherkennung einer möglichen Nierenpathologie beitragen.

355

### 356 **Interessenkonflikt**

357 Die Autoren bestätigen, dass kein Interessenkonflikt besteht.

358

359

360

361

362

363



## 365 Literatur

- 366 1. The European Pet Food Industry. FEDIAF The European Pet Food Industry: Facts &  
367 Figures 2019. Im Internet:  
368 [http://www.fediaf.org/images/FEDIAF\\_facts\\_and\\_figs\\_2019\\_cor-35-48.pdf](http://www.fediaf.org/images/FEDIAF_facts_and_figs_2019_cor-35-48.pdf); Stand:  
369 05.10.2020
- 370 2. The European Pet Food Industry. FEDIAF Facts and Figures 2020. Im Internet:  
371 [https://fediaf.org/images/FEDIAF\\_Facts\\_and\\_Figures\\_2020.pdf](https://fediaf.org/images/FEDIAF_Facts_and_Figures_2020.pdf); Stand: 12.10.2021
- 372 3. Müller M. Der deutsche Heimtiermarkt. Im Internet:  
373 [https://www.zzf.de/fileadmin/files/ZZF/Marktdaten/ZZF\\_IVH\\_Folder\\_Der\\_deutsche\\_Heimtiermarkt\\_2020\\_und\\_Anzahl\\_der\\_Heimtiere\\_in\\_Deutschland.pdf](https://www.zzf.de/fileadmin/files/ZZF/Marktdaten/ZZF_IVH_Folder_Der_deutsche_Heimtiermarkt_2020_und_Anzahl_der_Heimtiere_in_Deutschland.pdf); Stand: 12.10.2021
- 374 4. Pees M, Müller K, Mathes K, et al. Evaluierung der Haltungsbedingungen häufig  
375 gehaltener Reptilienspezies in Deutschland. *Kleintierpraxis* 2014 (59(9)): 477–491.  
376 doi:10.2377/0023-2076-59-477
- 377 5. Krautwald-Junghanns M-E. Haltung exotischer Tiere und Wildtiere in Privathand:  
378 Situationsanalyse, Bewertung und Handlungsbedarf insbesondere unter  
379 Tierschutzaspekten (Exopet). Im Internet:  
380 [https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail\\_id=57204&site\\_key=141&stichw=15HS001&zeilenzahl\\_zaeher=2#newContent](https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail_id=57204&site_key=141&stichw=15HS001&zeilenzahl_zaeher=2#newContent); Stand: 30.11.2020
- 381 6. Bauer T. Analyse der Ernährung und der Haltungsbedingungen von in Deutschland  
382 gehaltenen paläarktischen Landschildkröten (*Testudo* spp.) [Dissertation]. München:  
383 Ludwig-Maximilians-Universität München; 2018
- 384 7. Divers SJ, Innis CJ. Urology. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's reptile and*  
385 *amphibian medicine and surgery*. Philadelphia: Saunders; 2019: 626–648
- 386 8. Kölle P. Inappetenz bei Reptilien - Wann ist eine Zwangsfütterung geboten? *kleintier*  
387 *konkret* 2011; 14 (01): 30–33. doi:10.1055/s-0030-1248854
- 388 9. Miller HA. Urinary diseases of reptiles: Pathophysiology and diagnosis. *Seminars in*  
389 *Avian and Exotic Pet Medicine* 1998; 7 (2): 93–103. doi:10.1016/S1055-  
390 937X(98)80048-0
- 391 10. Paré JA, Lentini AM. Reptile geriatrics. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2010; 13  
392 (1): 15–25. doi:10.1016/j.cvex.2009.09.003
- 393 11. Seybold J. Ein Beitrag zur Nierenpathologie bei Reptilien [Dissertation,]. München:  
394 Ludwig-Maximilians-Universität München; 1993
- 395 12. Sinn AD. Pathologie der Reptilien - eine retrospektive Studie [Dissertation,]. München:  
396 Ludwig-Maximilians-Universität München; 2004
- 397 13. Kölle P. Nierenerkrankungen bei der Schildkröte – Blut- und Hamndiagnostik. *kleintier*  
398 *konkret* 2009; 12 (01): 23–28. doi:10.1055/s-0029-1213441
- 399 14. Kölle P. Krankheiten des Hamtraktes bei europäischen Landschildkröten  
400 [Habilitationsschrift,]. Ludwig-Maximilians-Universität München; 2000
- 401 15. Zwart P. Renal pathology in reptiles. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2006; 9 (1):  
402 129–159. doi:10.1016/j.cvex.2005.10.005
- 403 16. Boyer, Thomas H., Innis, Charles J. Chelonian Taxonomy, Anatomy, and Physiology. In:  
404 Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery*.  
405 Philadelphia: Saunders; 2019: 31–49
- 406 17. Salomon F-V, Hrsg. *Anatomie für die Tiermedizin*. 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 2008
- 407 18. Kölle P, Pees M, Hrsg. *Die Schildkröte*. Heimtier und Patient ; 44 Tabellen. Stuttgart:  
408 Enke; 2009
- 409 19. Jacobson ER, Garner MM. *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles*. CRC Press;  
410 2020. doi:10.1201/9780429155567
- 411
- 412

- 413 20. Marschang RE. Virology. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. Mader's reptile and amphibian  
414 medicine and surgery. Philadelphia: Saunders; 2019: 248–269
- 415 21. Gabrisch K, Baumgartner R, Bleich A, Dorrestein GM, Fehr M. Krankheiten der  
416 Heimtiere. Vet S. 8. Aufl. Hannover: Schlüter; 2015
- 417 22. Meredith A, Redrobe S, eds. Manual of exotic pets. BSAVA manuals series. 4th ed.  
418 Quedgeley: BSAVA; 2002
- 419 23. Isenbügel E, Frank W. Heimtierkrankheiten. UTB für Wissenschaft Große Reihe.  
420 Stuttgart: Ulmer; 1985
- 421 24. Selleri P, Hernandez-Divers SJ. Renal diseases of reptiles. Vet Clin North Am Exot Anim  
422 Pract 2006; 9 (1): 161–174. doi:10.1016/j.cvex.2005.10.008
- 423 25. Pantchev N, Zych J. Tierarztpraxis Schildkröten. Diagnose, Therapie, Pflege,  
424 Prävention. Frankfurt, M.: Ed. Chimaira; 2011
- 425 26. Aldrich KJ, Saunders DK, Sievert LM, et al. Comparison of erythrocyte osmotic  
426 fragility among amphibians, reptiles, birds and mammals. Transactions of the Kansas  
427 Academy of Science 2006; 109 (3): 149–158. doi:10.1660/0022-  
428 8443(2006)109[149:COEFA]2.0.CO;2
- 429 27. Heatley JJ, Russell Karen E. Clinical Chemistry. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. Mader's  
430 reptile and amphibian medicine and surgery. Philadelphia: Saunders; 2019: 319–332
- 431 28. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Aufl.  
432 Stuttgart: Schattauer; 2005
- 433 29. Kölle P. Blutentnahme bei Schildkröten. kleintier konkret 2016; 19 (S 01): 32–35.  
434 doi:10.1055/s-0042-102387
- 435 30. Leineweber C, Stöhr AC, Öfner S, et al. Changes in Plasma Chemistry Parameters in  
436 Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni*) Influenced by Season and Sex. Journal of  
437 Herpetological Medicine and Surgery 2019; 29 (3–4): 113. doi:10.5818/18-07-159.1
- 438 31. Mathes KA, Holz A, Fehr M. Blutreferenzwerte in Deutschland gehaltener europäischer  
439 Landschildkröten (*Testudo* spp.). Tierärztl Prax Ausg K 2006; 34 (04): 268–274.  
440 doi:10.1055/s-0037-1622540
- 441 32. Krause D. Vergleich von trocken- und nasschemischen Blutanalysen bei europäischen  
442 Landschildkröten [Dissertation,]. Ludwig-Maximilians-Universität München; 2001
- 443 33. Gottdenker NL, Jacobson ER. Effect of venipuncture sites on hematologic and clinical  
444 biochemical values in desert tortoises (*Gopherus agassizii*). American journal of  
445 veterinary research 1995; 56 (1): 19–21
- 446 34. Kölle P, Hoffmann R. Blutparameter als Hilfe in der Diagnostik von  
447 Reptilienkrankheiten. Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere 1996 (4):  
448 402–406
- 449 35. Girling S. Veterinary nursing of exotic pets. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell a  
450 John Wiley & Sons Ltd. Publication; 2013. doi:10.1002/9781118782941
- 451 36. Andreani G, Carpenè E, Cannavacciuolo A, et al. Reference values for hematology and  
452 plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's  
453 tortoises (*Testudo hermanni* spp.). Vet Clin Pathol 2014; 43 (4): 573–583.  
454 doi:10.1111/vcp.12203
- 455 37. Scope A, Schwendenwein I, Schaubberger G. Characterization and quantification of the  
456 influence of season and gender on plasma chemistries of Hermann's tortoises (*Testudo*  
457 *hermanni*, Gmelin 1789). Res Vet Sci 2013; 95 (1): 59–68.  
458 doi:10.1016/j.rvsc.2013.02.017
- 459 38. Holz A. Bestimmung hämatologischer und biochemischer Parameter bei der gesunden  
460 Europäischen Landschildkröte; 2007
- 461 39. Erler M. Saisonale Veränderungen hämatologischer und blutbiochemischer Werte bei  
462 europäischen Landschildkröten (*Testudo graeca*, *Testudo hermanni*, *Testudo marginata*)

- 463 [Dissertation]. Ludwig-Maximilians-Universität München; 2003.  
464 doi:10.5282/EDOC.1306
- 465 40. Lehmann V, Altherr B, Pantchev N, et al. Symmetrical Dimethylarginine as a Diagnostic  
466 Parameter in Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni*). *Front. Vet. Sci.* 2022; 9: 149.  
467 doi:10.3389/fvets.2022.824748
- 468 41. Hernandez-Divers SJ. Endoscopic renal evaluation and biopsy of *Chelonia*. *Vet Rec*  
469 2004; 154 (3): 73–80. doi:10.1136/vr.154.3.73
- 470 42. Stahl SJ, DeNardo DF. Theriogenology. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's reptile*  
471 *and amphibian medicine and surgery*. Philadelphia: Saunders; 2019: 849–893
- 472 43. Anderson ET, Minter LJ, Clarke EO, et al. The Effects of Feeding on Hematological and  
473 Plasma Biochemical Profiles in Green (*Chelonia mydas*) and Kemp's Ridley  
474 (*Lepidochelys kempii*) Sea Turtles. *Vet Med Int* 2011; 2011: 890829.  
475 doi:10.4061/2011/890829
- 476 44. Eatwell K. Calcium and phosphorus values and their derivatives in captive tortoises  
477 (*Testudo* species). *J Small Anim Pract* 2010; 51 (9): 472–475. doi:10.1111/j.1748-  
478 5827.2010.00963.x
- 479 45. Spengler E. *Harnuntersuchung bei Landschildkröten* [Dissertationsschrift]. München;  
480 1999
- 481 46. Keller KA, Hawkins MG, Weber EPS, et al. Diagnosis and treatment of urolithiasis in  
482 client-owned chelonians: 40 cases (1987–2012). *J Am Vet Med Assoc* 2015; 247 (6):  
483 650–658. doi:10.2460/javma.247.6.650
- 484 47. Dantzler WH, Schmidt-Nielsen B. Excretion in fresh-water turtle (*Pseudemys scripta*)  
485 and desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Am J Physiol* 1966; 210 (1): 198–210.  
486 doi:10.1152/ajplegacy.1966.210.1.198
- 487 48. Divers SJ. Diagnostic Techniques and Sample Collection. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg.  
488 *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery*. Philadelphia: Saunders; 2019: 405–  
489 421
- 490 49. Innis CJ. Observations on urinalyses of clinically normal captive tortoises. In:  
491 *Proceedings. Assoc Reptile Amphib Vet*
- 492 50. Gibbons PM, Horton SJ, Brandl SR. Urinalysis in box turtles, *Terrapene* spp. In: *Proc*  
493 *Annu Conf Assoc Rept Amph Vet*: 161–168
- 494 51. Carpenter JW, Marion CJ, eds. *Exotic animal formulary*. St. Louis, Missouri: Elsevier;  
495 2018
- 496 52. Ackerman L, Schmidt D, Ackerman LJ, Hrsg. *Atlas der Reptilienkrankheiten*.  
497 *Ruhmannsfelden: bede-Verl.*; 2000
- 498 53. Hernandez-Divers SJ, Stahl SJ, Stedman NL, et al. Renal evaluation in the healthy green  
499 iguana (*Iguana iguana*): assessment of plasma biochemistry, glomerular filtration rate,  
500 and endoscopic biopsy. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2005; 36 (2): 155–168.  
501 doi:10.1638/03-120.1
- 502 54. Schmidt L, Di Girolamo N, Selleri P. Diagnostic Imaging of the Reptile Urinary System.  
503 *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 2020; 23 (1): 131–149.  
504 doi:10.1016/j.cvex.2019.08.007
- 505 55. Michaela Gumpfenberger. *Wie knacke ich die Box? Yes, we can! Einführung in die*  
506 *Bildgebende Diagnostik (RX, US, CT, MRT) bei Schildkröten*. AG Ark 56.  
507 *Frühjahrstagung "Warane"; 2022*
- 508 56. Holmes SP, Divers SJ. Radiography-Chelonians. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's*  
509 *reptile and amphibian medicine and surgery*. Philadelphia: Saunders; 2019: 515–528
- 510 57. Kölle P, Reese S, Hoffmann R. Urographie und Zystographie bei Landschildkröten.  
511 *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere* 2000; 28 (5): 339–344



- 512 58. Wyneken J. Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging. In: Mader DR,  
513 ed. Current therapy in reptile medicine & surgery. St. Louis, Mo.: Elsevier; 2014: 93–  
514 106
- 515 59. Abou-Madi N, Scrivani PV, Kollias GV, et al. Diagnosis of skeletal injuries in  
516 Chelonians using computed tomography. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2004; 35  
517 (2): 226–231. doi:10.1638/03-024
- 518 60. Mader DR, ed. Current therapy in reptile medicine & surgery. St. Louis, Mo.: Elsevier;  
519 2014
- 520 61. Mathes KA, Schnack M, Rohn K, et al. Magnetic resonance imaging measurements of  
521 organs within the coelomic cavity of red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*),  
522 yellow-bellied sliders (*Trachemys scripta scripta*), Coastal plain cooters (*Pseudemys*  
523 *concinna floridana*), and hieroglyphic river cooters (*Pseudemys concinna hieroglyphica*).  
524 *American journal of veterinary research* 2017; 78 (12): 1387–1399.  
525 doi:10.2460/ajvr.78.12.1387
- 526 62. Gumpenberger M, Henninger W. The use of computed tomography in avian and reptile  
527 medicine. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 2001; 10 (4): 174–180.  
528 doi:10.1053/saep.2001.24674
- 529 63. Sochorcova V, Proks P, Cermakova E, et al. Contrast-enhanced computed tomography of  
530 the liver, gall bladder and urogenital tract in female red-eared terrapins (*Trachemys*  
531 *scripta elegans*). *Veterinarni Medicina* 2017; 62 (No. 12): 674–680.  
532 doi:10.17221/73/2017-VETMED
- 533 64. Gerster JC, Landry M, Dufresne L, et al. Imaging of tophaceous gout: computed  
534 tomography provides specific images compared with magnetic resonance imaging and  
535 ultrasonography. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 (1): 52–54. doi:10.1136/ard.61.1.52
- 536 65. Witmer LM, Ridgely RC, Dufeu DL, Semones MC. Using CT to Peer into the Past: 3D  
537 Visualization of the Brain and Ear Regions of Birds, Crocodiles, and Nonavian  
538 Dinosaurs. In: Endo H, Frey R, Hrsg. *Anatomical imaging. Towards a new morphology*.  
539 Tokyo: Springer; 2008: 67–87. doi:10.1007/978-4-431-76933-0\_6
- 540 66. Raiti P, Haramati N. Magnetic resonance imaging and computerized tomography of a  
541 gravid leopard tortoise (*Geochelone pardalis pardalis*) with metabolic bone disease.  
542 *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1997; 28 (2): 189–197
- 543 67. C. Mans, R. Drees, K.K. Sladky. Effect of body position, leg and neck extension, and  
544 sedation on lung volume in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*); 2011
- 545 68. Mathes K, Fehr M. The use of computed tomography as a diagnostic tool in reptile  
546 practice: selected cases. *Proceed. 10th Annual Conference ARAV, Minneapolis* 2003; 10:  
547 24–28
- 548 69. Divers SJ, Stahl SJ, Camus A. Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and  
549 kidney biopsy in freshwater turtles (*Trachemys scripta*). *Journal of Zoo and Wildlife*  
550 *Medicine* 2010; 41 (4): 677–687. doi:10.1638/2010-0080.1
- 551 70. Di Girolamo N, Selleri P. Clinical Applications of Cystoscopy in Chelonians. *Veterinary*  
552 *Clinics of North America Exotic Animal Practice* 2015; 18 (3): 507–526.  
553 doi:10.1016/j.cvex.2015.04.008
- 554 71. Taylor M, Schildger B, Murray MJ. *Endoscopy in birds, reptiles, amphibians and fish*.  
555 Tuttligen: Endo Press; 1999
- 556

### **III. PUBLIKATION 2: ORIGINAL PUBLIKATION**

#### **Symmetrical Dimethylarginine as a Diagnostic Parameter in Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni*)**

**Verena Lehmann**

Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig-Maximilians-University Munich, Bavaria,  
Germany

**Petra Kölle**

Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig-Maximilians-University Munich, Bavaria,  
Germany

**Yury Zablotski**

Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig-Maximilians-University Munich, Bavaria,  
Germany

**Barblin Altherr**

IDEXX Med Labor GmbH, Kornwestheim, Germany

**Nikola Pantchev**

IDEXX Med Labor GmbH, Kornwestheim, Germany

**Michael Coyne**

IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, United States

**Rachel Murphy**

IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, United States

**Sabine Öfner**

Reptiles Rescue Center Munich, Germany

**Online veröffentlicht in „frontiers Veterinay Science“ am 22.02.2022**





# Symmetrical Dimethylarginine as a Diagnostic Parameter in Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni*)

Verena Lehmann<sup>1\*</sup>, Barblin Altherr<sup>2</sup>, Nikola Pantchev<sup>2</sup>, Sabine Öfner<sup>3</sup>, Yury Zablotki<sup>1</sup>, Rachel Murphy<sup>4</sup>, Michael Coyne<sup>4</sup> and Petra Kölle<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, Munich, Germany, <sup>2</sup> IDEXX Med Labor GmbH, Kornwestheim, Germany, <sup>3</sup> Reptile Rescue Center Munich, Munich, Germany, <sup>4</sup> IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME, United States

**Background:** Despite improvements in habitational conditions, kidney disease is relatively common in tortoises.

**Objectives:** Purpose of this study was the establishment of Symmetrical dimethylarginine (SDMA) reference values for clinically healthy Hermann's Tortoises.

**Animals:** Clinically healthy Hermann's Tortoises ( $n = 131$ ) were included in the period from October 2017 to September 2019.

**Methods:** Creatinine and other biomarkers were tested at IDEXX Laboratories, Germany using residual blood samples from Hermann's tortoises. SDMA was measured with the IDEXX test and verified by liquid chromatography-mass spectrometry at IDEXX Laboratories, USA.

**Results:** SDMA values ranged from 1 to 21  $\mu\text{g/dl}$  ( $n = 131$ ) for the IDEXX SDMA Test and SDMA values ranged from 1 to 17  $\mu\text{g/dl}$  ( $n = 82$ ) for LC-MS. For the comparison of the two measuring systems, the following results were obtained  $R^2 = 0.75$  ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion and Clinical Importance:** SDMA can be measured in Hermann's Tortoises and the reference values range in clinically healthy animals is comparable to that of dogs and cats.

**Keywords:** kidney disease, renal disease, chelonian, reptile, uric acid

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Micaela Sgorbini,  
University of Pisa, Italy

### Reviewed by:

Valentina Meucci,  
University of Pisa, Italy  
Paola Badino,  
University of Turin, Italy

### \*Correspondence:

Verena Lehmann  
paper@verena-lehmann.de

### Specialty section:

This article was submitted to  
Comparative and Clinical Medicine,  
a section of the journal  
Frontiers in Veterinary Science

**Received:** 29 November 2021

**Accepted:** 28 January 2022

**Published:** 22 February 2022

### Citation:

Lehmann V, Altherr B, Pantchev N,  
Öfner S, Zablotki Y, Murphy R,  
Coyne M and Kölle P (2022)  
Symmetrical Dimethylarginine as a  
Diagnostic Parameter in Hermann's  
Tortoises (*Testudo hermanni*).  
Front. Vet. Sci. 9:824748.  
doi: 10.3389/fvets.2022.824748

## INTRODUCTION

With the growing numbers in reptiles kept as pets, veterinarians will be increasingly challenged with the treatment of these exotic animals. Among the most popular reptiles kept by private owners in Germany are *Testudo* spp., especially the Hermann's Tortoise (*Testudo hermanni*) (1–3), comprising two subspecies, *Testudo hermanni hermanni* and *Testudo hermanni boettgeri*. Tortoises are particularly prone to kidney diseases (4). At necropsy, it was found that 64.30% of the animals showed kidney disease as a primary or secondary cause of death (5–7). It was revealed that the Greek tortoise and the Spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*) have a higher incidence of renal disease in clinical examination as well as in necropsy compared to the Afghan tortoise (*Agrionemys horsfieldii*) and the Marginated tortoise (*Testudo marginata*) (5). Non-specific clinical signs often leads to diagnosis of reduced kidney function at more advanced stages of a chronic disease, resulting a negative outlook for survivability (2, 8, 9). Furthermore, with few biomarkers specifically relating

to the kidney, such as dietary influenced uric acid, detection of decline in renal function is more challenging (10). Feeding tortoises mainly with protein-rich food usually causes an increase in uric acid levels (9). Continual feeding of protein-rich diets may cause serious diseases, such as kidney and liver disease, bladder stones, and gout (9). The availability of an earlier diagnosis with a specific and targeted diagnostic test could positively affect prevention and a better long-term management for reptiles (8).

Even in humans studies have also used SDMA as a research marker for indirect determination of glomerular filtration rate and thus for the assessment of kidney function (11, 12). In 2015, the new endogenous biomarker SDMA was established for both dogs and cats to identify renal disorders (13–15). As a result of posttranslational processes in nucleated cells, methyl residues are attached to arginine residues by the enzyme protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) and, after proteolysis, SDMA and asymmetric dimethylarginine are released into the circulatory system (16). In contrast to ADMA, SDMA is not degraded enzymatically but mainly excreted *via* the kidneys. Therefore, it is a suitable parameter for the early detection of kidney disease (17, 18). In contrast to serum creatinine, SDMA is much less affected by non-renal influence like muscle mass and diet (13, 14). Moreover, SDMA often increases earlier in the event of chronic kidney disease than creatinine, and can therefore be used as an early indicator of disease (13, 15, 17).

The purpose of the present study is to evaluate the measurability of SDMA in reptiles and to establish reference values of SDMA in clinically healthy Hermann's Tortoises.

## MATERIALS AND METHODS

### Study Design

The data were collected from October 2017 to September 2019. Only clinically healthy tortoises that weighed more than 0.45 kg were included. A total of 131 tortoises (98 male and 33 female specimens) were examined. The average weight was  $1.1 \pm 0.60$  kg. The majority of animals belonged to the Reptile Rescue Center Munich, Germany, which shelters abandoned animals. A total of 14 tortoises were contributed by the Zoo Neumuenster, Germany and an additional seven tortoises of two private owners. All tortoises were kept in outdoor enclosures or terrariums with species-appropriate husbandry conditions. Hibernation was performed from end of October to March.

Due to the hygiene protocol at the Reptile Rescue Center Munich every new tortoise must undergo blood tests on herpesvirus infection and routine biochemical profiles are also performed. The present study used these residual blood samples for measurement of serum biomarkers, of renal functions [UA, urea, calcium, phosphate, alanine-aminotransferase (ALT), aspartate-aminotransferase (AST)], and SDMA. With only a few exceptions, blood was drawn from the dorsal tail vein (*Vena coccygealis dorsalis*) of the tortoises without sedation, which is considered an established technique for blood collection (2, 9). The recommended maximum amount of whole blood is 0.80% of the bodyweight of an animal in good general condition (2, 19, 20). In this study, this was equivalent to an average amount of 1.5–2.5 ml. Thereafter, the sample was centrifuged at 3,000

rpm (Hettich Eba 3S) and the serum was pipetted into a sample tube for sending to IDEXX. Within the laboratory control of the Reptile Rescue Center, Munich, alkaline phosphatase [ALP], glutamate-dehydrogenase [GLDH], ALT, AST, creatine kinase [CK], total protein [TP], Blood urea nitrogen (BUN), uric acid [UA], inorganic phosphorus [P], total calcium [Ca], sodium [Na], and potassium [K] were analyzed with a Beckman Coulter Olympus AU5800 chemistry analyzer (Beckman Coulter GmbH, 47807 Krefeld, Germany).

For the analysis of SDMA in serum and plasma, a novel high throughput homogenous competitive immunoassay by IDEXX Laboratory was used, which based on a glucose-6-phosphate dehydrogenase conjugate and anti-SDMA monoclonal antibodies.

To verify the immunoassay results, samples were retested with LC-MS at IDEXX Laboratories, Westbrook, ME, USA. A total amount of 100  $\mu$ l of the sample were used for the LC-MS method and 17  $\mu$ l for the IDEXX SDMA test. The SDMA concentration was measured in each individual tortoise sample using LC-MS/MS following previously described methods (17).

### Statistics

Statistical analyses were performed using R 4.0.3 (2020-10-10, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) (21). Results with a  $P < 0.05$  were considered statistically significant, while results with a  $P$ -values between 0.1 and 0.05 were considered suggestive. The normality of SDMA and UA distribution was assessed both with the Shapiro–Wilk normality tests and visually using Quantile–Quantile plots. Due to a non-normal distribution, data were further analyzed using a non-parametric two sample Mann–Whitney test (22). Due to its reliability in empirical work, the Spearman correlation was selected to determine correlations between SDMA and UA and Ca/P ratio. For further analysis of the SDMA value, the total number of tortoises was divided into two groups based on a cut-off value of UA ( $>5.20$  mg/dl) (19).

Verification by LC-MS measurement was performed on 82 tortoises. Due to repeated measures on several animals and highly unbalanced design, we initially fitted a linear mixed-effects-model (estimated using REML and nloptwrap optimizer) to predict “sdma\_immunoassay\_mg\_dl\_0\_14” with “sdma\_lc\_ms\_messung” with a random effect of the “animal.” However, due to (1) singular fit, (2) zero explained variance by the random effect and (3) due to the absence of significant difference between variances of a model with and a model without random effect (estimated by AIC), we fitted a simple linear model. The following model assumptions were checked: (1) the normality of residuals was checked by the Shapiro–Wilk normality test, (2) the independence of residuals (autocorrelation of error terms) was checked by the Durbin–Watson-Test, the heteroscedasticity (constancy of error variance) was checked with Breusch–Pagan test. Due to (1) the violation of some assumptions and (2) the inability to relax those assumptions by data transformation (log- and square root transformations were tested), we fitted a robust linear regression with the Design Adaptive Scale estimate as proposed in Koller and Stahel (23). The choice of the model resulted in the significant improvement of model fit from the  $R^2$

of 0.27 for the simple linear regression to the  $R^2$  of 0.75 for the robust regression.

**RESULTS**

SDMA values showed a range from 1 to 21  $\mu\text{g/dl}$  (95 % CI: 3-16  $\mu\text{g/dl}$ ,  $n = 131$ ; **Table 1**).

Since 14 of the 33 females belonged to the same population, it was investigated whether this had an effect on the analysis of the SDMA values. For this purpose, this group was not included in the calculation of the statistical differences with regard to sex for the final analysis. Consequently, the results showed that there were no significant differences ( $p = 0.40$ ) in sex for SDMA, which would be in agreement with other studies in which no difference by sex was found (24) (**Figure 1**).

For an evaluation of a potential correlation between SDMA and the commonly used kidney parameter UA (for reptiles), the data of the clinically healthy animals were divided into two groups. The differentiation between tortoises with normal UA concentrations and tortoises with elevated UA concentrations was based on the reference interval of 0-5.2 mg/dl UA (19). Out of 131 tortoises, 103 animals showed normal UA levels with SDMA 95% CI: 3-16  $\mu\text{g/dl}$ , while 28 animals had elevated levels with SDMA 95 % CI: 4-18  $\mu\text{g/dl}$  (**Figure 2**). Mann-Whitney  $U$ -Test confirmed it as a significant difference ( $p < 0.001$ ). Spearman correlation coefficient confirmed a correlation between SDMA and UA of  $\rho_s = 0.32$  ( $p < 0.001$ ) (**Figure 3**) and between SDMA and Ca/P ratio of  $\rho_s = -0.39$  ( $p < 0.001$ ) (**Figure 4**). No significant correlation was found with other parameters measured in this study (urea, aspartate aminotransferase, and phosphate).

The results from the LC-MS measurement show a high correlation between the gold standard method and the IDEXX SDMA test with a value of  $R^2 = 0.75$  ( $p < 0.001$ ; **Figure 5**).

**DISCUSSION**

Several studies in dogs and cats demonstrated that SDMA, unlike creatinine, is rarely influenced by extra kidney factors like lean body mass or diet (17, 24, 25) and can be used as an early diagnostic parameter for the indication of a kidney disease in the future (13, 14, 17). To date, no study has been performed on the measurability and applicability of SDMA in tortoises or other reptile groups. It can be assumed that SDMA in reptiles is also unaffected by the diet, which needs to be investigated further by future studies.

In tortoises, general and thorough examination has certain limitations due to the specific physiology and anatomy compared to common pets such as dogs and cats. Reptiles generally show few and very unspecific symptoms. Due to the shell of the tortoise, a comparable examination for abdominal palpation is only possible to a very limited extent. Therefore, further diagnostics, such as laboratory tests play a particularly important role (26). In tortoises, blood samples can be taken without sedation at several locations, such as the dorsal tail vein (*Vena coccygealis dorsalis*) or the supravertebral venous plexus (*Venus subcarapacialis*) (2). Through the analysis of the blood samples, relevant blood parameters can be determined which could fill the gap left by the limitations of the general examination, allowing a thorough and timely diagnosis to be achieved. However, it is important to note that reference ranges may vary greatly between different tortoise species (26, 27) and also depending on the site of blood collection (28).

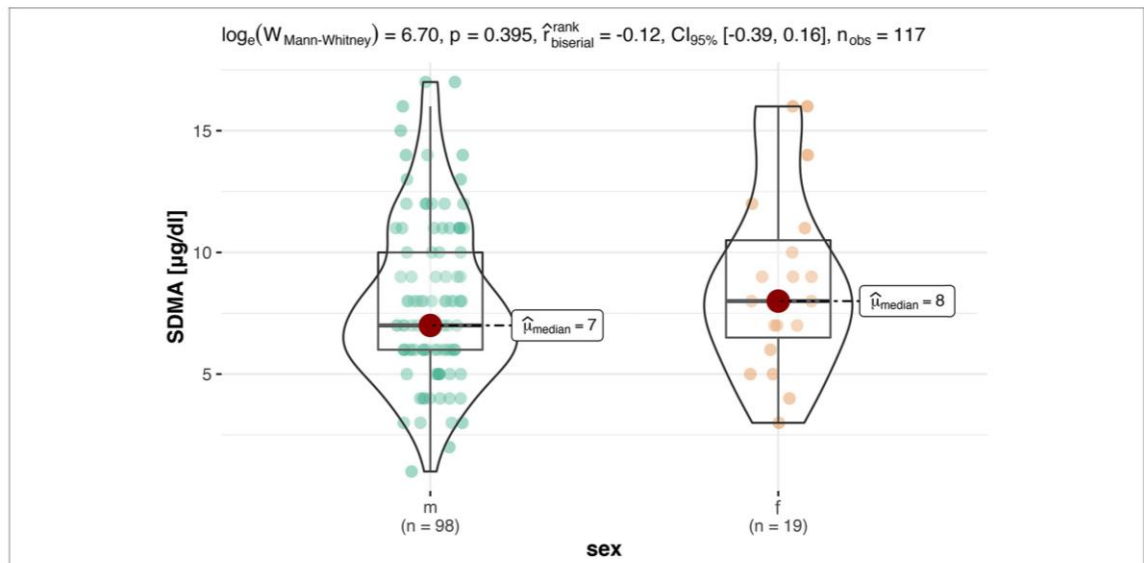
Depending on the tortoise species, the end products of protein, nitrogen, and purine metabolites are excreted in different ways. This makes a significant difference in diagnosing kidney disease. As Hermann's Tortoises are uricotelic, UA can be used as a diagnostic parameter in contrast to mammals for which urea and creatinine are the most important parameters for the diagnosis of kidney disease (29). However, UA is not an ideal kidney function parameter for reptiles, as several studies confirmed that this parameter increases at a late stage of kidney disease. Therefore, it is not considered appropriate for an early treatment of potential kidney disease (9, 30). Given the viability of SDMA as an early indicator, the present study also evaluated a potential correlation between SDMA and UA.

A number of studies with tortoises indicated an influence of a protein-rich diet on kidney biomarkers. The study by Kölle (5) showed that the diet of European tortoises has a significant influence on UA. After feeding a diet with high protein content, UA increased significantly within 24 h and decreased gradually within 7-11 days. Thus, the UA level has only limited reliability for the diagnosis of kidney diseases in tortoises (5). Another study in snakes ( $n = 10$ ) also confirmed that UA values fluctuated by the time point of feeding. Increased levels were observed at day 2-3 which are comparable to those of animals suffering from kidney diseases or gout (31).

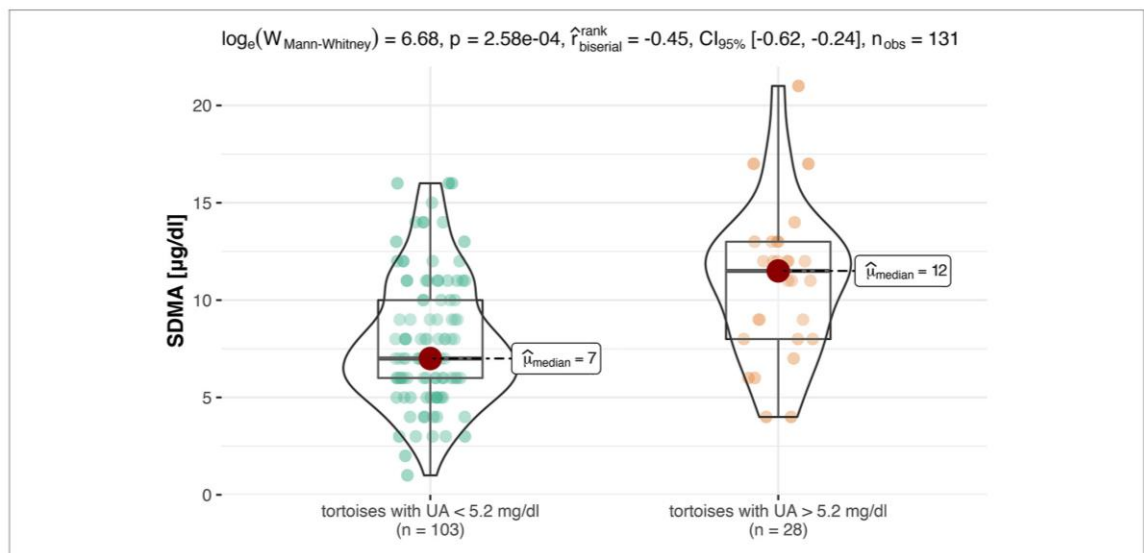
In contrast to the increase of UA at a late stage of kidney disease, the calcium/phosphate ratio already changes at an earlier stage (9). However, this ratio is also influenced by non-kidney factors. In female reptiles, calcium increases during vitellogenesis, especially after hibernation, as there are increased requirements for yolk formation. In comparison, male tortoises have low calcium levels (19, 32, 33). The study of Andreani et al. (19) also indicated that sex and season have a major impact on several blood parameters in *Testudo hermanni*. The study was based on 34 animals (14 males, 20 females), some of which were tested in September and July of the following year. Andreani et al. (19) also detected that female tortoises had a lower concentration for UA and a higher concentration for calcium compared to male tortoises while the concentration of UA was higher in July compared to September for a mixed-sex group. All animals in this study were raised in captivity and therefore

**TABLE 1** | SDMA levels of female and male Hermann's Tortoises ( $n = 131$ ).

SDMA ( $\mu\text{g/dl}$ )	Mean	Minimum	Maximum	Q 0.025	Q 0.975
Total amount ( $n = 131$ )	9	1	21	3	16
Females ( $n = 33$ )	10	3	21	9	12
Males ( $n = 98$ )	8	1	17	7	9



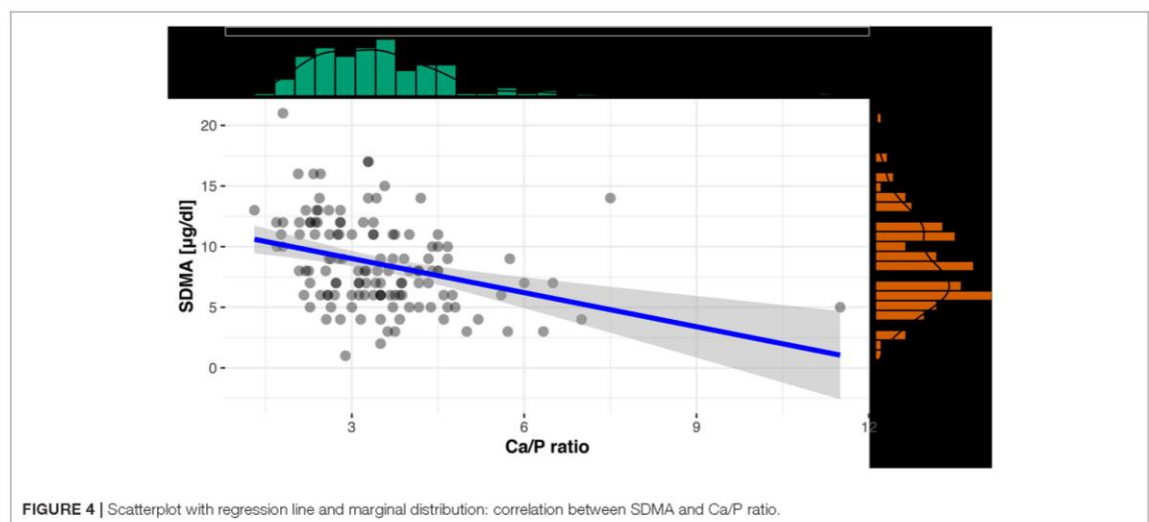
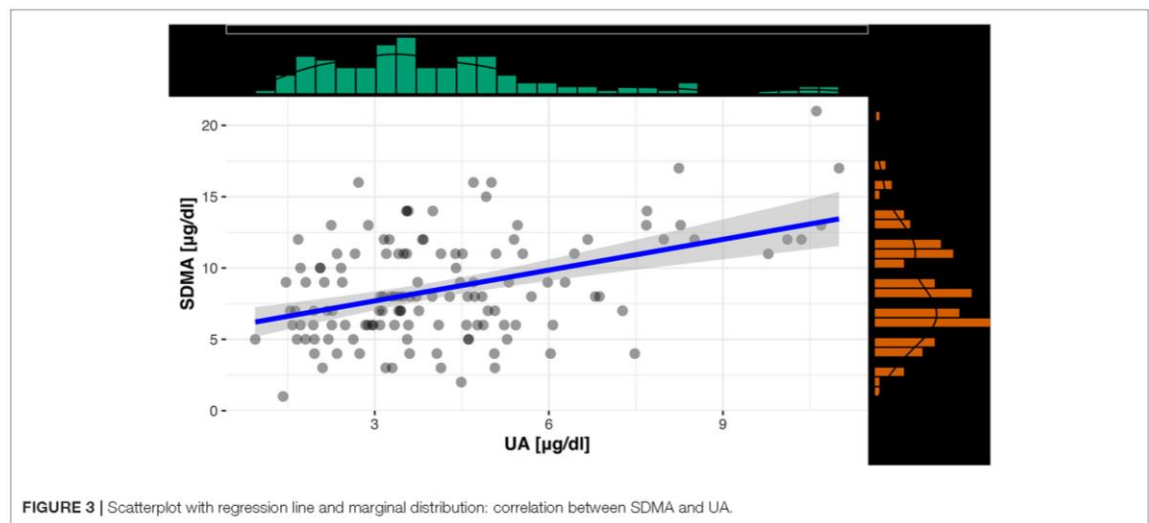
**FIGURE 1** | This box-violin-plot shows the distribution of SDMA levels in both sexes without animals from Neumeunster Zoo. The colored dots represent each individual data point, while the shape of the bean plot represents its density. In addition, the minimum and maximum values as well as the median are shown as boxplots.



**FIGURE 2** | This box-violin-plot shows the distribution of SDMA values after creating two groups based on UA values. The colored dots represent each individual data point, while the shape of the bean plot represents its density. In addition, the minimum and maximum values as well as the median are shown as boxplots.

provide reliable information regarding age. Furthermore, the husbandry was under natural sunlight and the animals had the same plants available as nutrition. Physical examination was carried out before each blood sample was taken, which included

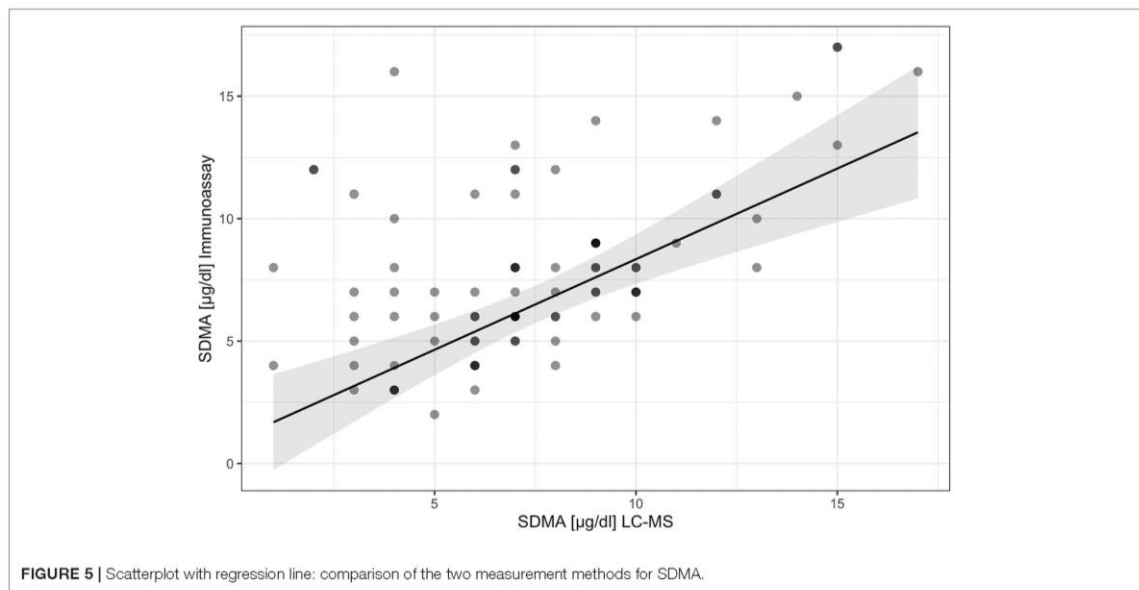
assessment of eyes, nares, oral cavity, skin, and carapace. Due to the comparability of similar model type of analyzer, this study was suitable as a reference source for the UA values in the current study, as the study of Andreani et al. (19) used an



Olympus AU5400 automated biochemical analyzer to measure the samples. Therefore, a cut-off value ( $>5.20$  mg/dl) for the evaluation of the UA value was set, and at which point UA values are considered to be elevated. Another recent study surfaced similar results regarding the influence of sex and seasonality on most biochemical parameters. The study design consisted of a total of 256 samples (148 males, 108 females), which were assigned to the three different seasons (spring, summer, autumn) based on the date of sampling. In contrast to the study by Adreani et al. (19), the females showed an increase in UA value in autumn compared to summer. However, male tortoises were also shown to have higher UA values (27). Both studies indicate that it

is particularly difficult to establish reference values in reptiles compared to endothermic animals, as not only the species but also the seasonality and the associated physiology are decisive. Therefore, future studies need to investigate whether SDMA is affected by collection at different times of the year.

The present study also analyzed the influence of the sex on SDMA. Results of the full study population indicated that females allegedly had significantly higher SDMA levels than male tortoises. A possible explanation is that the specific group of females ( $n = 14$ ) in this study were kept together and probably all specimens showed elevated UA and SDMA levels due to keeping conditions. However, in other studies (5), it could be shown that



males are more susceptible to kidney disease which should result in higher average SDMA levels in the male population.

Seasonal influences were not considered in the present study. Many blood parameters are known to show seasonal variations, i.e., UA is higher in spring (32). As seasonality does not apply to cats and dogs, no clear conclusion about a potential influence of the seasons to SDMA can be drawn yet.

In addition to the blood samples of the 131 tortoises used in the study, 11 samples were available from third-party veterinarians and were excluded from the study due to unclear health conditions. Samples were sent to IDEXX for routine diagnosis mostly. For all cases in which enough residual blood from the sample was available, IDEXX tested these additionally for SDMA to extend the available data for the measurability and applicability of SDMA in Hermann's Tortoises. From that additional number of Hermann's Tortoises, four specimens had high SDMA levels ( $>20 \mu\text{g/dl}$ ) in combination with elevated UA levels ( $>7 \text{ mg/dl}$ ). Two of these samples were sent in because of anorexia, for the other two, no additional information on health status had been provided. Contrary to the elevated SDMA and UA findings, one sample showed increased UA ( $7.33 \text{ mg/dl}$ ) but low SDMA ( $3 \mu\text{g/dl}$ ) levels. Several sources in literature confirmed that such a finding could be explained by dehydration as this would lead to increased UA levels in reptiles (34). Furthermore, a protein-rich nutrition could not be entirely excluded due to a lack of the patients' history.

The results of this study revealed that SDMA can be measured in blood samples of tortoises and that reference values could be generated. A potential limitation of this study is the lack of diversity in the ownership of the study population as over 85% of the animals were provided by the Reptile Rescue Center

Munich. Especially because those tortoises had been kept there for an extended duration and had been exposed to similar habitat conditions and nutrition. As no diseased tortoises or wild populations were included in this study, this aspect should be further investigated in future research. Additional research is required to determine whether a correlation between seasonal influences on SDMA in tortoises can be detected as in the case for UA (27).

The purpose of this study was to evaluate the measurability of SDMA and establish reference values for the Hermann's Tortoise by analyzing residual blood samples of clinically healthy animals. To quantify SDMA in serum samples a high-throughput immunoassay was used (35). The LC-MS analysis, although accurate and considered the gold standard for the measurement of SDMA in blood samples, is a costly and time-consuming test. Therefore, it is not included to the routine laboratory minimum data base for sick and healthy pets. The IDEXX SDMA assay was validated for dogs and cats, using healthy animals and populations with kidney disease, but to date data for reptiles were missing. As a final verification of the SDMA values, 70% of the samples were retested using the LC-MS method. Since only residual blood samples were used in the study,  $\sim 30\%$  of the samples did not have enough residual material for another analysis. The LC-MS method is considered the gold standard for measuring SDMA. Studies in dogs and cats have confirmed that the IDEXX SDMA Test is superior to other tests in direct comparison to the gold standard (36). This technique is particularly suitable for small biomarkers, such as SDMA, which has a little immunogenic effect due to its size (35). This assay correlates in a best fit linear model with a slope of 1.06, an intercept of 0.34 with  $R^2 = 0.99$  with



the measurement by liquid chromatography-mass spectrometry, considered as the gold standard (36). Compared to the LC-MS, within-run precision was less than or equal to a 7% coefficient of variability (CV) in the range of 10–20  $\mu\text{g/dL}$ , and the total precision was  $\leq 10\%$  CV (35). Another study was able to show that in the range relevant for the clinic for SDMA (10–45  $\mu\text{g/dl}$ ), the bias was 1–2  $\mu\text{g/dl}$  for the IDEXX SDMA test, while the DLD SDMA Elisa for human samples had a considerably higher bias of 8–17  $\mu\text{g/dl}$  for the same range. This study additionally revealed a total CV of 2.3% for the IDEXX test in samples with high SDMA concentration, whereas the human SDMA ELISA showed a CV of 28.2% (36). The IDEXX SDMA test defined a reference interval of 0–14  $\mu\text{g/dl}$  for dogs and cats based on the transferability of SDMA values from LC-MS of healthy individuals, taking into account mean bias, method precision and integer rounding of the original data (35). Validated data already exists for IDEXX SDMA Test for cats, dogs, horses and rats, which were compared with LC-MS (37).

Since no studies have yet been performed on tortoises or other reptiles in SDMA, it is not yet clear whether the synthesis and metabolism are similar to those in mammals. This could be a possible explanation for the lower coefficient ( $R^2 = 0.75$ ) of determination compared to dogs and cats ( $R = 0.99$ ). Another hypothesis is that there are other derivatives that are not found in the mammal. Another study conducted on draft horses yielded similar results with a strong correlation ( $R = 0.74$ ,  $p < 0.001$ ) between LC-MS and the immunoassay (38).

In summary, SDMA may be a valuable tool for early diagnosis of a decline kidney function in tortoises and may also become a constituent of laboratory tests for pre-purchase testing.

## REFERENCES

1. Pees M, Müller K, Mathes K, Korbel R, Seybold J, Lierz M, et al. Evaluierung der Haltungsbedingungen häufig gehaltener Reptilienspezies in Deutschland. *Kleintierpraxis*. (2014) 59:477–91. doi: 10.2377/0023-2076-59-477
2. Kölle P. Blutentnahme bei Schildkröten. *Kleintier Konkret*. (2016) 19:32–5. doi: 10.1055/s-0042-102387
3. Krautwald-Junghans M-E. *Haltung Exotischer Tiere und Wildtiere in Privathand: Situationsanalyse, Bewertung und Handlungsbedarf Insbesondere Unter Tierschutzaspekten (Exopet)*. (2018). Available online at: [https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail\\_id=57204&site\\_key=141&stichw=15HS001&zeilenzahl\\_zaeahler=2#newContent](https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail_id=57204&site_key=141&stichw=15HS001&zeilenzahl_zaeahler=2#newContent) (cited November 30, 2020).
4. Bauer T, Reese S, Koelle P. Nutrition and husbandry conditions of Palearctic tortoises (*Testudo* spp.) in captivity. *J Appl Anim Welf Sci*. (2019) 22:159–70. doi: 10.1080/10888705.2018.1453814
5. Kölle P. *Krankheiten des Hamtraktes bei europäischen Landschildkröten [Habilitationsschrift]*. Munich: Habilitation thesis at the Ludwig Maximilian University of Munich (2000). p. 1–363.
6. Sinn AD. *Pathologie der Reptilien - eine retrospektive Studie* [Dissertation]. München (2004).
7. Seybold J. *Ein Beitrag zur Nierenpathologie bei Reptilien* [Dissertation]. München (1993).
8. Miller HA. Urinary diseases of reptiles: pathophysiology and diagnosis. *Semin Avian Exotic Pet Med*. (1998) 7:93–103. doi: 10.1016/S1055-937X(98)80048-0
9. Kölle P. Nierenerkrankungen bei der Schildkröte - Blut- und Harndiagnostik. *Kleintier Konkret*. (2009) 12:23–8. doi: 10.1055/s-0029-1213441
10. Smeller JM, Slickers K, Bush M. Effect of feeding on plasma uric acid levels in snakes. *Am J Vet Res*. (1978) 39:1556–7.
11. Bode-Böger SM, Scalera F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Breithardt G, Fobker M, et al. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol*. (2006) 17:1128–34. doi: 10.1681/ASN.2005101119
12. El-Khoury JM, Bunch DR, Hu B, Payto D, Reineks EZ, Wang S. Comparison of symmetric dimethylarginine with creatinine, cystatin C and their eGFR equations as markers of kidney function. *Clin Biochem*. (2016) 49:1140–3. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.07.009
13. Nabity MB, Lees GE, Boggess MM, Yerramilli M, Obare E, Rakitin A, et al. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. *J Vet Intern Med*. (2015) 29:1036–44. doi: 10.1111/jvim.12835
14. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Almes K, Jewell DE. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*. (2016) 30:794–802. doi: 10.1111/jvim.13942
15. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Li J, Yerramilli M, Jewell DE. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones. *PLoS One*. (2017) 12:e174854. doi: 10.1371/journal.pone.0174854
16. Bedford MT, Richard S. Arginine methylation an emerging regulator of protein function. *Mol Cell*. (2005) 18:263–72. doi: 10.1016/j.molcel.2005.04.003
17. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Jewell DE. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*. (2014) 28:1676–83. doi: 10.1111/jvim.12445
18. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Frölich JC, Haller H, Ritz E, et al. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

## ETHICS STATEMENT

The present study was approved by the Animal Protection and Ethics Council of the Veterinary Faculty of the Ludwig-Maximilians-University on 09/25/17 with reference number 90 05 07 17. Written informed consent for participation was not obtained from the owners because samples were not taken specifically for the study, but were taken as part of medical examinations and the remains were used for the study.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

VL: study design, data collection, and preparation of the manuscript. BA and NP: study design, critical revision of manuscript, and measurements of the samples in Germany. SÖ: study design, data collection, and critical revision of manuscript. YZ: statistical analysis. RM and MC: measurements of the sample in USA and critical revision of manuscript. PK: study design and critical revision of manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## ACKNOWLEDGMENTS

The financing of the laboratory measurements as well as the sample transport was provided by IDEXX.

- incipient primary chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol.* (2002) 13:170–6. doi: 10.1681/ASN.V131170
19. Andreani G, Carpenè E, Cannavacciuolo A, Di Girolamo N, Ferlizza E, Isani G. Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* spp.). *Vet Clin Pathol.* (2014) 43:573–83. doi: 10.1111/vcp.12203
  20. Meredith A, Redrobe S, editors. *Manual of Exotic Pets*. Quedgeley: BSAVA (2002). 304 p.
  21. *R Project for Statistical Computing*. Vienna (2020). Available online at: <http://www.r-project.org/index.html> (cited December 07, 2020).
  22. Patil I. *ggstatsplot: 'ggplot2' Based Plots With Statistical Details*. (2020). Available online at: <https://cran.r-project.org/web/packages/ggstatsplot/index.html> (accessed December 7, 2020).
  23. Koller M, Stahel WA. Sharpening Wald-type inference in robust regression for small samples. *Comput Stat Data Anal.* (2011) 55:2504–15. doi: 10.1016/j.csda.2011.02.014
  24. Hokamp JA, Nabity MB. Renal biomarkers in domestic species. *Vet Clin Pathol.* (2016) 45:28–56. doi: 10.1111/vcp.12333
  25. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Melendez LD, Jewell DE. Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *J Vet Intern Med.* (2015) 29:808–14. doi: 10.1111/jvim.12607
  26. Mathes KA, Holz A, Fehr M. Blutreferenzwerte in Deutschland gehaltener europäischer Landschildkröten (*Testudo* spp.). *Tierarztl Prax Ausg K.* (2006) 34:268–74. doi: 10.1055/s-0037-1622540
  27. Leineweber C, Stöhr AC, Öfner S, Mathes K, Marschang RE. Changes in plasma chemistry parameters in Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*) influenced by season and sex. *J Herpetol Med Surg.* (2019) 29:113. doi: 10.5818/18-07-159.1
  28. Krause D. *Vergleich von Trocken- und Nasschemischen Blutanalysen bei Europäischen Landschildkröten* [Dissertation] Doctoral thesis at the Ludwig Maximilia (2001).
  29. Boyer, Thomas H., Innis, Charles J. Chelonian taxonomy, anatomy, and physiology. In: Divers SJ, Stahl SJ, editors. *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. Philadelphia, PA: Saunders (2019). p. 31–49.
  30. Heatley JJ, Russell Karen E. Clinical chemistry. In: Divers SJ, Stahl SJ, editors. *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. Philadelphia, PA: Saunders (2019). p. 319–32.
  31. Lam A, Halán M. Monitoring of physiological changes of uric acid concentration in the blood of snakes. *Folia Vet.* (2017) 61:56–60. doi: 10.1515/fv-2017-0019
  32. Scope A, Schwendenwein I, Schaubberger G. Characterization and quantification of the influence of season and gender on plasma chemistries of Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*, Gmelin 1789). *Res Vet Sci.* (2013) 95:59–68. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.02.017
  33. Stahl SJ, DeNardo DF. Theriogenology. In: Divers SJ, Stahl SJ, editors. *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. Philadelphia, PA: Saunders (2019). p. 849–93.
  34. Gabrisch K, Baumgartner R, Bleich A, Dorrestein GM, Fehr M. *Krankheiten der Heimtiere*. Hannover: Schlüter (2015). 1205 p.
  35. Relford R, Robertson J, Clements C. Symmetric dimethylarginine: improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* (2016) 46:941–60. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.06.010
  36. Ernst R, Ogeer J, McCrann D, Cross J, Strong-Townsend M, Friis H, et al. Comparative performance of IDEXX SDMA Test and the DLD SDMA ELISA for the measurement of SDMA in canine and feline serum. *PLoS One.* (2018) 13:e0205030. doi: 10.1371/journal.pone.0205030
  37. IDEXX laboratories. *SDMA: A Biomarker for Kidney Function*. Available online at: <https://www.idexbioanalytics.com/sdma> (cited October 12, 2020).
  38. Schott HC, Gallant LR, Coyne M, Murphy R, Cross J, Strong-Townsend M, et al. Symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations in serum of healthy draft horses. *J Vet Intern Med.* (2021) 35:1147–54. doi: 10.1111/jvim.16042
- Conflict of Interest:** BA, NP, RM, and MC were employed by company IDEXX.
- The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.
- Publisher's Note:** All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.
- Copyright © 2022 Lehmann, Altherr, Pantchev, Öfner, Zabiotski, Murphy, Coyne and Kölle. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.



## **IV. DISKUSSION**

Nach gegenwärtigen Forschungs- und Recherchestand wurden keine vergleichbaren Studien mit SDMA als potenzielles Mittel der Nierendiagnostik bei Reptilien durchgeführt. Das Hauptziel der Studie lag in der Bestätigung, dass SDMA als diagnostischer Parameter bei Reptilien – in diesem Fall Griechischen Landschildkröten – messbar ist und anschließend der Erstellung von Referenzwerten für SDMA bei Griechischen Landschildkröten. Weiterhin wurde gleichzeitig die Korrelation zu anderen biochemischen Parametern überprüft.

### **1. Pretests**

Aufgrund des Fehlens von Studien zum Thema SDMA bei Reptilien wurden im Rahmen eines Vortests in der vorliegenden Studie retrospektiv Blutproben verschiedener Spezies auf SDMA getestet, um zu ermitteln, ob SDMA bei Reptilien analysierbar ist. Unter den getesteten Spezies waren neben Griechischen Landschildkröten auch Bartagamen, verschiedene Chamäleon- und Schlangenarten und weitere nicht genauer angegebene Schildkrötenarten. Diese Proben wiesen mitunter sehr hohe SDMA Werte ( $> 40 \mu\text{g/dl}$ ) und damit einhergehende für die jeweilige Art erhöhte Konzentrationen von Harnsäure ( $> 10 \text{ mg/dl}$ ) auf. Aus diesen Daten konnte geschlussfolgert werden, dass SDMA als möglicher Nierenparameter grundsätzlich auch bei Reptilien ermittelt werden kann und sich gegebenenfalls auch zur Diagnostik von Nierenerkrankungen eignet. Diese Daten konnten jedoch nicht weiter in die Statistik eingeschlossen werden, da zu diesen Tieren keine weiteren Informationen bezüglich des Signalements oder der Entnahmetechnik vorlagen.

### **2. Probanden**

Die Griechische Landschildkröte wurde als Studientier aufgrund einer Umfrage zur Haltung von Reptilien in Deutschland ausgewählt, welche zeigte, dass diese Schildkrötenart mit am häufigsten gehalten wird (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2018). Wegen der klimatischen Bedingungen und zusätzlicher Technik ist es hier möglich, eine artgerechte Freilandhaltung zu gewährleisten und somit eine Haltung attraktiv für die

Besitzer zu machen (WEGEHAUPT 2012, BAUER 2018). Die Tiere, die für diese Studie verwendet wurden, stammen fast ausschließlich aus der Auffangstation für Reptilien in München. In dieser Einrichtung werden Reptilien aufgenommen, die entweder aus Beschlagnahmung oder Privatabgaben stammen oder als Fundtiere abgegeben wurden. Insgesamt lebten 110 der 131 Tiere in der Auffangstation, während die übrigen Tiere in Privathaltungen ( $n = 7$ ) oder im Tierpark Neumünster ( $n = 14$ ) gehalten wurden. Für keines der Tiere wurde ein Vorbericht in Bezug auf mögliche Erkrankungen, vorherige Ernährung oder detailliertes Signalement zur Verfügung gestellt, sodass alle Tiere zunächst einer klinischen Allgemeinuntersuchung unterzogen wurden, die folgende Punkte umfasste: Augen, Nares, Schnabel und Maulhöhle, Haut, Extremitäten, Bemuskulung, Kloake sowie Pflegezustand und Ernährungszustand. Gerade bei Reptilien kann die klinische Allgemeinuntersuchung einen Hinweis auf den Gesundheitsstatus der Tiere geben, aber ohne weiterführende Analysen, wie eine Blutuntersuchung, kann eine Erkrankung des Harntraktes nicht sicher ausgeschlossen werden. Grund dafür ist, dass Reptilien meist nur unspezifische Krankheitssymptome bei einer Nierenerkrankung zeigen (KÖLLE 2009, SELLERI und HERNANDEZ-DIVERS 2006). In Hinblick auf die Interpretation der etablierten Laborwerte bei Reptilien ist zu beachten, dass diese durch mehrere Faktoren, wie Alter, Geschlecht, Jahreszeit oder Blutentnahmestelle beeinflusst werden und je nach Reptilienart unterschiedlich sind (LEINEWEBER et al. 2019, KÖLLE 2000, ANDREANI et al. 2014, MATHES et al. 2006, SINN 2004) und durch eine Vielzahl von Referenzwerten die Interpretation erschwert wird (EATWELL et al. 2014). Unter den 131 beprobten Tieren befanden sich insgesamt 98 männliche sowie 33 weibliche Tiere. Aufgrund der Tatsache, dass ein Hauptteil der Tiere aus der Auffangstation für Reptilien stammten, konnte kein ausgeglichenes Geschlechterverhältnis erreicht werden, da in dem Zeitraum der Studie fast ausschließlich männliche Tiere abgegeben wurden oder dort untergebracht waren. Die weiblichen Tiere aus dem Tierpark Neumünster wiesen insgesamt höhere SDMA Werte als die weiblichen Tiere aus den anderen Haltungen auf. Daher wurde hinsichtlich des Geschlechterunterschiedes bei SDMA in der statistischen Auswertung die Tiergruppe aus dem Tierpark Neumünster exkludiert, da eine Verzerrung der Daten nicht ausgeschlossen werden konnte. Proben von männlichen Tieren aus dieser Haltung existieren nicht. Nach Ausschluss dieser Gruppe an Weibchen ( $n = 14$ ), ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,4$ ) in Bezug auf das Geschlecht. Sowohl bei anderen Säugetieren als auch beim Menschen konnte ebenfalls bei SDMA kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Geschlechtes festgestellt werden (KIELSTEIN et al. 2006, NABITY et

al. 2015, RELFORD et al. 2016, KOPKE et al. 2018), während bei der Griechischen Landschildkröte bei anderen biochemischen Parametern, wie der Harnsäure, geschlechtsspezifische Unterschiede existieren (LEINEWEBER et al. 2019, ANDREANI et al. 2014).

### 3. Blutentnahme

Für diese Studie wurden innerhalb von Routinediagnostikmaßnahmen gewonnene Reste von Blutproben analysiert. Neben der Interpretation der Laborwerte ist unter anderem auch entscheidend, welche Punktionsstelle zur Blutentnahme verwendet wird (LÓPEZ-OLVERA et al. 2003). In dieser Studie wurde die Blutprobenentnahme hauptsächlich an der *Vena coccygealis dorsalis* durchgeführt und als Ausweichstelle der subcarapaxiale Venenplexus verwendet. Bei Landschildkröten eignen sich diverse Stellen zur Blutprobenentnahme. Die Punktion der *Vena jugularis* wird als besonders geeignet angesehen, da hier keine Kontamination durch Lymphe zu erwarten ist. Allerdings ist es dafür erforderlich, dass der Kopf der Schildkröte gut fixiert wird. Hinzu kommt, dass diese Punktionsstelle ohne Sedation nur bei kooperativen Tieren zu empfehlen ist (MANS 2008). Der Venenplexus eignet sich zur einfachen Blutentnahme ohne Sedation (KÖLLE 2016, KRAUSE 2001, LEINEWEBER et al. 2019). Sowohl die *Vena coccygealis* als auch der subcarapaxiale Venenplexus können durch Lymphe verunreinigt sein (ZWART 2013, MANS 2008, LÓPEZ-OLVERA et al. 2003, GOTTDENKER und JACOBSON 1995, NORTON 2005), wobei dies beim Venenplexus selten vorkommt (ZWART 2013). Durch die Verunreinigung mit Lymphflüssigkeit, kommt es zu einem Anstieg der Konzentration der biochemischen (Totalprotein, Harnsäure, Aspartat-Aminotransferase (AST), Alkalische Phosphatase (ALP), Calcium und Phosphat) und hämatologischen Parameter (Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten) (LÓPEZ-OLVERA et al. 2003). In der vorliegenden Studie kann eine Verunreinigung der Proben durch Lymphflüssigkeit nicht sicher ausgeschlossen werden, aber Proben, die adspektorisch durch Lymphflüssigkeit verdünnt erschienen, wurden verworfen.

#### **4. Weitere Verarbeitung und Lagerung der Proben**

Um weitere negative Effekte auf die Proben zu vermeiden, wurden diese im Anschluss an die Blutentnahme zügig weiterbearbeitet, indem das Blut mit 4000 U/Minute für 10 Minuten zentrifugiert wurde. Das abpipettierte Serum wurde anschließend zur weiteren Analyse und Aufbewahrung am selben Tag ins Labor versendet. Bis zur Validierungsmessung mittels Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) in den USA wurden die Proben bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Bisher gibt es keine Studien, die einen negativen Effekt auf SDMA durch Langzeitlagerung zeigen (ERNST et al. 2018).

#### **5. Analysen im Labor**

Als Goldstandardmethode für die Messung von SDMA gilt die LC-MS Methode. Bei dieser Messmethode werden zwei Analysensysteme, die Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie, kombiniert, um organische Verbindungen mit hohem Molekulargewicht messen zu können (MÜLLER und VÖLKELE 2008). Je nach Zusammensetzung der zu analysierenden Flüssigkeit oder deren chemischen Eigenschaften eignen sich verschiedenste Kombinationen von LC-MS Trennsystemen. Das Prinzip der SDMA Messtechnik besteht darin, dass nach Auftrennung der Verbindungen anhand ihrer Teilladungen und anschließender Elektrospray-Ionisierung eine Identifizierung der Bestandteile erfolgt (ZHOU et al. 2012). Im Falle der Analyse von SDMA in dieser Studie wurde ein kombiniertes System aus API 4000 mit Shimadzu Nexera Hochdruckflüssigkeitschromatographie genutzt (HALL et al. 2014, NABITY et al. 2015). Allerdings ist dieses Messverfahren für die klinische Routinediagnostik nicht geeignet, da es sowohl kosten- als auch zeit- und personalintensiv ist. Des Weiteren kann SDMA in Serum und Plasma auch durch einen kompetitiven Immunoassay (IDEXX SDMA Test) gemessen werden (WILSON und EL-KHOURY 2018). Die Studie von Ernst et al. (2018) verglich den IDEXX SDMA Test und den DLD SDMA ELISA mit der LC-MS für SDMA. Als Resümee wurde festgestellt, dass der IDEXX Test ( $R^2 = 0,99$ ) dem DLD ELISA ( $R^2 = 0,27$ ) bei makroskopisch normalen Serum überlegen ist und eine höhere Präzision aufweist (ERNST et al. 2018). Ein vergleichbares Resultat konnte auch in der Studie bei Arbeitspferden mit einem  $R^2 = 0,74$  ( $p < 0.001$ ) gezeigt werden (SCHOTT et al. 2021). Auch in dieser Studie bei Griechischen Landschildkröten, bei der die Messverfahren LC-MS und IDEXX SDMA Test verglichen wurden, konnte über eine robuste, lineare Regressionsanalyse bestätigt werden, dass es eine hohe Korrelation ( $R^2$

= 0,75;  $p < 0.001$ ) zwischen den Ergebnissen der beiden Testverfahren gibt.

## **6. Eignung von SDMA als diagnostischer Parameter in der Diagnostik von Nephropathien**

Die Bildung von SDMA erfolgt innerhalb der Posttranslation in kernhaltigen Zellen, indem durch das Protein Arginin Methyltransferase (PRMT) 5 ein Methylrest an Argininreste gebunden wird. Neben SDMA wird auch das asymmetrische Dimethylarginin (ADMA) durch PRMTs methyliert. Beide Endprodukte der Methylierung werden durch Proteolyse in die Zirkulation freigesetzt (BEDFORD und RICHARD 2005). Während ADMA jedoch weiter enzymatisch abgebaut wird, wird SDMA hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden. Aufgrund dieser Tatsache eignet sich SDMA grundsätzlich als Parameter für die Diagnostik von Nierenerkrankungen (HALL et al. 2014, KIELSTEIN et al. 2002). Dies beschränkt sich nicht nur auf die Veterinärmedizin, auch im Bereich der Humanmedizin konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass SDMA zur Bestimmung möglicher Nierenschädigungen geeignet ist (OBERT et al. 2021, SCHWEDHELM und BÖGER 2011). In einer großen Meta-Analyse von Kielstein et al. (2006), in der 2136 Patienten aus 18 Studien untersucht wurden, konnte eine hohe Korrelation zwischen SDMA und der Nierenfunktion festgestellt werden. Als Goldstandard zur Bestimmung der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) beim Menschen dient die Inulin Clearance, die aber für die Praxis sowohl zu teuer als auch zu komplex ist. In den Studien wurde eine Korrelation von  $R^2 = 0,85$  zwischen SDMA und der Inulin Clearance bestimmt. Die Korrelation mit Serumkreatinin betrug  $R^2 = 0,75$  (KIELSTEIN et al. 2006). In der Studie von Bode-Boger et al. (2006) wurde kein statistisch relevanter Unterschied in Bezug auf das Geschlecht nachgewiesen (BODE-BÖGER et al. 2006). Bisher gibt es in der Humanmedizin jedoch kaum weiterführende Studien zu SDMA und dessen Nutzung als Frühindikator von Nierenerkrankungen. Die Studie von Kielstein et al. (2011) zeigt jedoch erstmals, dass SDMA dafür geeignet sein könnte. Dabei wurde SDMA von 24 Nierenspendern nach einer Transplantation über einen Zeitraum von 170 Stunden mittels LC-MS bestimmt. Es zeigte sich ein 1,15facher Anstieg bereits 6 Stunden nach einseitiger Nephrektomie und wies einen Höchstwert auf, der 20-fach oberhalb des Ausgangswertes lag (KIELSTEIN et al. 2011). Als Vergleich wurde in der Studie Cystatin C verwendet, welches als etablierter Frühindikator bei akuten Nierenversagen gilt (HERGET-ROSENTHAL et al. 2005). Dieser Parameter

wird, im Gegensatz zu SDMA, durch eine systemische Entzündung beeinflusst (HERGET-ROSENTHAL et al. 2005, KIELSTEIN et al. 2011). Allerdings ist der geringe Umfang der Studienpopulation ( $n = 24$ ) mit Probanden, die als gesunde Nierenspender einen vergleichbaren Gesundheitsstatus aufgewiesen haben sollten, nicht dazu geeignet, um allgemeingültige Aussagen für die Anwendbarkeit von SDMA in der Humanmedizin zu generieren (KIELSTEIN et al. 2011). Gerade bei akutem Nierenversagen ist ein frühzeitiges Erkennen der Abnahme der GFR für die Prognose entscheidend und SDMA könnte dafür ein passender Parameter sein. Jedoch liegen derzeit kaum Daten dazu vor und es bedarf weiterer Studien zur Überprüfung der Rolle von SDMA und auch ADMA bei Menschen mit akutem Nierenversagen. Jedoch zeigte sich, dass SDMA beim Menschen mit akuten Nierenversagen signifikant mit Serumkreatinin korreliert und damit eine klinische Relevanz besitzt (SIEGMUND 2016).

Auch bei älteren Haustieren, wie Katzen aber auch bei Hunden, spielen chronische Nierenerkrankungen eine große Rolle (BARTGES 2012). Die Tiere zeigen meist unspezifische Symptome, wie Lethargie, Anorexie und Gewichtsverlust (ELLIOTT und BARBER 1998, DIBARTOLA et al. 1987) und werden meist erst in einem späten Stadium der Nierenerkrankung vorgestellt (ELLIOTT und BARBER 1998). Mittels Laboruntersuchungen und einer Blutdruckmessung sowie einer Ultraschalluntersuchung des Harntraktes wird im Allgemeinen die Diagnose einer Nierenerkrankung gestellt (BARTGES 2012). In diversen Studien bei Hunden und Katzen wurde gezeigt, dass SDMA eine sehr gute Korrelation mit Kreatinin und der GFR, dessen Bestimmung derzeit der Goldstandard für die Beurteilung der Nierenfunktion ist, aufweist (RELFORD et al. 2016, NABITY et al. 2015, BRAFF et al. 2014, HALL et al. 2014). Aus diesem Grund wurde SDMA bereits 2015 in die Leitlinien der International Renal Interest Society (IRIS) aufgenommen (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, RELFORD et al. 2016). Die Leitlinien der IRIS unterteilen akute und chronische Nierenerkrankungen anhand von vier bzw. fünf Graden und geben auf den Grad der potenziellen Nierenerkrankung abgestimmte Therapieempfehlungen. Als Resultat dieser Gradeinteilung ergeben sich Unterschiede in der Therapie, auch in Hinblick auf die Ergänzung von nierenprotektiven Futtermitteln bei chronischen Verläufen, die ein Voranschreiten der Erkrankung verlangsamen sollen (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY). Dies konnte in der Studie von Hall et al. (2016) gezeigt werden, in der eine Gruppe von Katzen ( $n = 33$ ) mit einer speziellen Nierendiät (funktionale Eiweiße, Antioxidantien, L-Carnitin, Gemüse, qualitativ hochwertiges Eiweiß) gefüttert

wurde, während die Kontrollgruppe (n = 47) konventionelles Futter erhielt. Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass eine Nierendiät zur Stabilisierung der Nierenwerte führte (HALL et al. 2016a), woraus die Wichtigkeit einer frühzeitigen Diagnosestellung impliziert werden kann.

## **7. Weitere Parameter zur Diagnostik von Nephropathien und deren Korrelation zu SDMA**

Derzeit werden zur Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Reptilien verschiedene biochemische Parameter verwendet, wobei aufgrund fehlender Spezifität keiner optimal geeignet ist (HEATLEY und RUSSELL KAREN E. 2019). Dazu zählen neben der Harnsäure auch das Kalzium-Phosphat-Verhältnis, Harnstoff, Kreatinin, Alkalische Phosphatase und Aspartat-Aminotransferase (KÖLLE 2009, KRAFT und DÜRR 2005). Harnsäure ist ein sogenannter später Indikator, der bereits erfolgreich zur Erkennung von Nierenerkrankungen bei Landschildkröten eingesetzt wird, allerdings mit dem Nachteil einhergeht, dass dieser Wert erst bei einer sehr deutlichen Schädigung der Nieren ansteigt (SELLERI und HERNANDEZ-DIVERS 2006, MILLER 1998). Diese Ergebnisse konnten in der Studie von Hernandez-Divers (2004) beobachtet werden, bei der im Rahmen von endoskopischen Untersuchungen auch biochemische Parameter bestimmt wurden. Dabei stellte sich heraus, dass bei persistierender Urikämie immer eine Nephropathie vorlag, während aber im Umkehrschluss nicht jede Nephropathie von einer Urikämie begleitet wurde (HERNANDEZ-DIVERS 2004). In anderen Studien wurde außerdem gezeigt, dass die Werte für Harnsäure innerhalb eines Jahres signifikant variieren, wobei nach der Winterruhe die Werte am Höchsten sind (LEINEWEBER et al. 2019, SCOPE et al. 2013). Die Variation der Harnsäure lässt sich durch den Dehydratationsstatus post-Hibernation sowie durch die unterschiedliche Proteinzusammensetzung der Futtermittel im Laufe des Jahres erklären. Andere Studien zeigten einen signifikanten Unterschied in Bezug auf das Geschlecht, bei dem die weiblichen Tiere niedrigere Konzentrationen aufwiesen (ANDREANI et al. 2014). Zur Ableitung von Referenzwerten von nierengesunden und nierenkranken Tieren wurde auf bereits etablierte Referenzwerte anderer Blutparameter, insbesondere der Harnsäure, zurückgegriffen. In Bezug auf diese Referenzwerte gibt es in der Literatur eine große Spannbreite bei den verschiedenen Reptilienarten (LEINEWEBER et al. 2019, MATHES et al. 2006, ANDREANI et al. 2014, KRAFT und DÜRR 2005, KÖLLE 2009). Während

Kölle (2009) die empfohlene Konzentration für Harnsäure für Landschildkröten bei unter 2,5 mg/dl als Normalbereich definiert, wird die Abgrenzung des Normalbereichs bei anderen Autoren deutlich höher angesetzt. Dazu zählt auch die Studie von Andreani et al. (2014), bei der 34 Griechischen Landschildkröten (14 Weibchen, 20 Männchen) eingeschlossen wurden und dessen Untersuchungsergebnisse die Basis für den Referenzwert der Harnsäure in dieser SDMA Studie bildet, um die Studienpopulation in zwei Gruppen einzuteilen. Die Studie von Andreani et al. (2014) bildet die Basis für die im laborwissenschaftlichen Kapitel des international anerkannten Standardwerks für Reptilienmedizin (DIVERS und STAHL 2019, HEATLEY und RUSSELL KAREN E. 2019) ausgewiesenen Referenzwerte für die Griechische Landschildkröte und wurde aus diesem Grunde für die Ableitung von Schwellenwerten in dieser Studie herangezogen. Unter Berücksichtigung des Referenzwertes für Harnsäure wurde Gruppe eins als Harnsäure normal ( $< 0,5,2$  mg/dl) und Gruppe zwei als Harnsäure erhöht ( $> 5,2$  mg/dl) definiert. Anhand dieser Einteilung ergaben sich 101 Tiere in Gruppe eins und 30 Tiere in Gruppe zwei. Während die Werte für SDMA der ersten Gruppe in einem Bereich zwischen 1-16  $\mu\text{g/dl}$  (95 % Perzentil 3-15,5  $\mu\text{g/dl}$ ), lag der Bereich für SDMA in der zweiten Gruppe bei 4-21  $\mu\text{g/dl}$  (95 % Perzentil 4-18,3  $\mu\text{g/dl}$ ). Dieser Wertebereich ist ähnlich zu dem bei gesunden Hunden und Katzen definierten Referenzbereich für SDMA von 1-14  $\mu\text{g/dl}$  (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY).

Im Gegensatz zur Harnsäure steigt das Kalzium-Phosphat-Verhältnis bereits wesentlich früher an, wird allerdings auch durch nicht renale Faktoren beeinflusst (KÖLLE 2009). Gerade weibliche Tiere weisen beispielsweise während der Vitellogenese aufgrund der Bildung der Eier eine erhöhte Konzentration an Kalzium auf (HEATLEY und RUSSELL KAREN E. 2019, ANDREANI et al. 2014, SCOPE et al. 2013, STAHL und DENARDO 2019).

Harnstoff und Kreatinin korrelieren nur bedingt aussagekräftig mit der Nierenfunktion bei Reptilien (HEATLEY und RUSSELL KAREN E. 2019, MILLER 1998), weswegen sich diese Parameter nicht zur Diagnostik für Nierenerkrankungen eignen. Gerade bei Tieren nach der Winterruhe ist die Konzentration von Harnstoff erhöht (CHRISTOPHER et al. 1994), welches der Prävention von Wasserverlust über Steigerung der Osmolarität dient (VISTRO et al. 2020).

In den Epithelzellen der proximalen Nierentubuli ist AST vorhanden und es kommt zu einem Anstieg der Konzentration, sofern es Beeinträchtigungen in diesem Bereich gibt, woraus sich eine Verwendbarkeit von AST als Nierenparameter ableiten lassen könnte.



Allerdings ist AST nicht nierenspezifisch, da dieser Parameter auch in anderen Gewebe, wie der Muskulatur und Leber, vorhanden ist und AST daher nicht alleine zur Diagnostik von Nierenerkrankungen verwendet werden kann (KRAFT und DÜRR 2005, SELLERI und HERNANDEZ-DIVERS 2006, HEATLEY und RUSSELL KAREN E. 2019). Auch ALP findet sich neben den Nieren in anderen Gewebe, weswegen ein Anstieg der Konzentration nicht immer mit einer Nierenerkrankung einhergeht (SELLERI und HERNANDEZ-DIVERS 2006). Ähnlich wie bei der Harnsäure, weisen auch AST und ALP bei weiblichen Tieren niedrigere Konzentrationen auf (ANDREANI et al. 2014). Auch in der Studie von Leineweber (2019) konnte ein Geschlechtsunterschied bei ALP und AST festgestellt werden (LEINEWEBER et al. 2019).

In vorliegender Studie wurden Korrelationen von SDMA und bisher genutzten biochemischer Parameter zur Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Landschildkröten untersucht. Dabei zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen SDMA und Harnsäure ( $\rho_s = 0.32$  ( $p < 0.001$ )) sowie SDMA und dem Kalzium-Phosphat-Verhältnis ( $\rho_s = -0.39$  ( $p < 0.001$ )). Allerdings muss dabei berücksichtigt werden, dass sowohl Harnsäure als auch das Kalzium-Phosphat-Verhältnis aufgrund extrarenaler Einflüsse (Geschlecht, Saisonalität, Fütterung) keine idealen Nierenparameter sind, woraus die niedrige Korrelationen erklärt werden könnten. Bei Harnstoff und AST liegt keine Korrelation mit SDMA vor, da diese Parameter nicht nierenspezifisch sind.

Im Gegensatz zu den zuvor genannten, bekannten biochemischen Blutparametern, insbesondere Harnsäure, AST und ALP, konnte in verschiedenen Studien bereits nachgewiesen werden, dass SMDA durch nicht renale Einflüsse nicht beeinflusst wird (NABITY et al. 2015, HALL et al. 2016b). Zu diesen Einflüssen gehört vor allem die Ernährung, aber auch Geschlecht, Alter, Abbau von Muskelmasse und andere Erkrankungen (HALL et al. 2016a, HALL et al. 2015, PEDERSEN et al. 2006). Des Weiteren steigt SDMA früher als Kreatinin an und kann somit als Frühindikator bei der Diagnostik eingesetzt werden (HALL et al. 2017, HALL et al. 2014, NABITY et al. 2015, RELFORD et al. 2016). So wurde unter anderem in einer Studie von Hall et al. (2014) anhand von 21 Katzen gezeigt, dass SDMA im Vergleich zu Kreatinin im Durchschnitt 17 Monate früher ansteigt (HALL et al. 2014). Daraus kann geschlussfolgert werden, dass SDMA zur Frühdiagnostik von Nierenerkrankung grundsätzlich geeignet ist und so eine frühzeitige Therapie ermöglichen kann. Aufgrund des Studiendesigns konnte dieser Aspekt jedoch nicht genauer untersucht werden und es bedarf weiterer Studien, ob SDMA auch bei Reptilien als Frühindikator bei Nierenerkrankungen eingesetzt werden kann und

welche Vorlaufzeiten im Vergleich zu Kreatinin gegeben sind.

## **8. Einfluss der Fütterung**

Die Ernährung der herbivoren Landschildkröten besteht zu einem großen Teil aus Kohlenhydraten, Rohfasern und nur zu einem geringen Teil aus Fetten und Proteinen (BOYER und SCOTT 2019a). Die Rationen der beprobten Tiere wurden in keiner der Haltungen durch eine genaue Rationsberechnung überprüft. Auffällig jedoch war, dass die Gruppe aus dem Tierpark Neumünster durchweg erhöhte Harnsäurewerte aufwies, welches durch eine dauerhaft proteinreiche Ernährung oder eine kurz zuvor erfolgte Aufnahme von proteinreicher Nahrung, wie z.B. Schnecken, erklärt werden könnte. Gerade im Bereich von Reptilien zeigen zahlreiche Studien den signifikanten Einfluss der Ernährung auf den Stoffwechsel, die Aktivität der Schildkröten und auch die Organesundheit (BOYER und SCOTT 2019b, WEGEHAUPT 2012).

Es konnte in einer Vielzahl von Studien der Nachweis erbracht werden, dass die Ernährung einen wesentlichen Einfluss auf viele der in der Labordiagnostik etablierten Parameter hat. In der Habilitationsschrift von Kölle (2000) wurde anhand eines Fütterungsversuches mit pelletiertem Schildkrötenfutter über die Dauer von 3 Tagen die Auswirkung auf den Harnsäurewert bei Landschildkröten deutlich. Das verwendete Futter wies einen erhöhten Proteingehalt auf (39 % Protein) und wurde den Tieren als Alleinfuttermittel zur Verfügung gestellt. Die Blutentnahme erfolgte bei insgesamt 10 Studientieren an verschiedenen Tagen über einen Zeitraum von insgesamt 23 Tagen. Dabei konnte gezeigt werden, dass Harnsäure nach 3 Tagen um das 4,1fache gegenüber dem Basalwert erhöht war und die Werte auch nach 23 Tagen nicht auf den Basalwert zurück gefallen sind (KÖLLE 2000). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass nach einer Aufnahme von proteinreichen Futtermitteln falsche Rückschlüsse auf eine mögliche Nierenerkrankung möglich sind. Auch bei anderen Reptilienarten konnten ähnliche Erkenntnisse gewonnen werden. Die Studie von Lam und Halán (2017) zeigte den Einfluss des Fütterungszeitpunktes bei Schlangen auf den Wert der Harnsäure. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass am zweiten und dritten Tag nach der Fütterung der Harnsäurewert fütterungsbedingt bis zu 6fach über den Basalwert am Tag 0 lag (LAM und HALÁN 2017). Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Smeller et al. (1978), die zeigten, dass Schlangen nach der Fütterung von zwei Mäusen höhere Konzentrationen von Harnsäure aufwiesen als die Tiere, die mit nur einer Maus gefüttert wurden

(SMELLER et al. 1978). Die Ernährung der Landschildkröten in der Auffangstation für Reptilien bestand aus saisonalen Pflanzen, Salatblättern und getrockneten Kräutern sowie Mineralzusätzen in Form von Pulver. Im Rahmen des Studiendesigns und auch in Hinblick auf die Unabhängigkeit der Auffangstation für Reptilien als gemeinnützigen Verein konnte kein Tierversuch, d.h. Fütterungsversuch mit proteinreichen Futtermitteln und anschließender mehrmaliger Blutentnahme durchgeführt werden, um zu überprüfen, ob es einen ernährungsbedingten Einfluss auf SDMA gibt, wie es bei Harnsäure der Fall ist. Darüber hinaus ist eine ernährungsbedingte Erhöhung der Konzentration von Harnsäure der Schildkröten aus dem Tierpark Neumünster nicht auszuschließen, da alle Tiere dieselbe Nahrung erhalten haben, ohne dass diese genauer spezifiziert werden konnte, und in einer Gruppenhaltung lebten. Die Gruppe bestand zudem nur aus weiblichen Tieren, die alle eine erhöhte Konzentration von Harnsäure ( $> 5.40$  mg/dl) aufwiesen. Die Tiere zeigten jedoch in der klinischen Allgemeinuntersuchung keine Auffälligkeiten oder Symptome und wurden als klinisch Allgemeingesund definiert. Da jedoch eine Auswirkung durch Ernährung auf SDMA aufgrund fehlender Fütterungsversuche oder Studienergebnisse bisher nicht sicher ausgeschlossen werden kann, wurde die Gruppe aus dem Tierpark Neumünster bei der statistischen Auswertung in Bezug auf Geschlechtsunterschiede bei SDMA exkludiert. Bei Säugetieren wird SDMA nicht durch extra renale Faktoren beeinflusst (KOPKE et al. 2018, NABITY et al. 2015), bei Reptilien ist eine Beeinflussung durch die Ernährung nicht sicher auszuschließen, da wohl eine signifikante Korrelation zur Harnsäure besteht.

## 9. Limitationen der vorliegenden Studie

Die wesentliche Limitation dieser Studie liegt vor allem in einer fehlenden, nachweislich nierenkranken Vergleichsgruppe, die weitere Rückschlüsse auf die Anwendbarkeit von SDMA als Nierenparameter gegeben hätte. Darüber hinaus ließ das Studiendesign auch keine Untersuchung einer Saisonalität zu, sodass bisher nicht ausgeschlossen werden kann, dass SDMA in den verschiedenen Jahreszeiten unterschiedliche Werte aufweist. Bei anderen Laborparametern ist dies bei Reptilien im Allgemeinen, aber auch bei der Art der Griechischen Landschildkröte bereits nachgewiesen (LEINEWEBER et al. 2019). Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Studienpopulation aufgrund von gleichen Umwelteffekten insgesamt beeinflusst wurde, da 83% der Studientiere in derselben Einrichtung gehalten wurden und demnach den gleichen äußeren Bedingungen

in Bezug auf Ernährung und Temperatur ausgesetzt waren. Zwar wurden Aufrufe in diversen Foren oder bei Fachtagungen zur Probeneinsendung innerhalb der Routinediagnostik getätigt, jedoch erfolgte keine positive Resonanz, weswegen sich die Proben auf oben genannte Einrichtungen beschränkten.

## **10. Fazit**

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass SDMA gegenüber den bisher verfügbaren Nierenparameter eine Vielzahl an Vorteilen aufweist, wenngleich auch noch nicht alle Effekte und Einflussfaktoren bei Reptilien hinreichend untersucht wurden und weitere Studien für eine abschließende Beurteilung erforderlich sind. So könnte insbesondere der Einfluss von verschiedenen Futtermitteln bei Reptilien sowie die Einbeziehung von nierenkranken Tieren in eine Studie weitere Hinweise auf die Anwendbarkeit von SDMA als frühzeitiger und ernährungsunabhängiger Nierenparameter geben. Grundsätzlich konnte jedoch in dieser Studie aufgezeigt werden, dass SDMA als ein Parameter bei Nierenerkrankungen von Griechischen Landschildkröten geeignet ist.

## V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Reptilien beruht hauptsächlich auf einer Blutuntersuchung (Harnstoff, Ca:P-Verhältnis) und wird durch weitere Untersuchungen, wie Urinuntersuchung und Ultraschall, validiert.

Hauptziele dieser Studie waren die Überprüfung der Verwendbarkeit von SDMA als messbarer biochemischer Parameter bei Griechischen Landschildkröten, sowie die Erstellung von Referenzwerten und die Untersuchung auf Korrelationen mit derzeit gängigen Nierenparametern für diese Spezies.

Insgesamt konnten die Restblutproben von 131 Griechischen Landschildkröten ( $w = 33$ ,  $m = 98$ ) in einem Zeitraum von Oktober 2017 bis September 2019 untersucht werden. Hauptsächlich stammten diese Tiere aus der Auffangstation für Reptilien ( $n = 110$ ), während die restlichen Tiere in privater Haltung ( $n = 7$ ) und im Tierpark Neumünster ( $n = 14$ ) gehalten wurden.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels R 4.0.3, weitere Analysen wurden aufgrund fehlender Normalverteilung der Werte durch den nicht-parametrischen Wilcoxon-Mann-Whitney-Test und Spearman Korrelationskoeffizienten durchgeführt. Insgesamt ergaben sich für SDMA bei klinisch gesunden Griechischen Landschildkröten Werte von 1,00-21,00  $\mu\text{g/dl}$  (95 % CI: 3,00-16,00  $\mu\text{g/dl}$ ,  $n = 131$ ). Nach Einteilung der Daten anhand eines Referenzwertes für nierengesunde Griechische Landschildkröten bezüglich der Harnsäurewerte (0-5,20  $\text{mg/dl}$ ) (ANDREANI et al. 2014), ergab sich ein Referenzbereich für SDMA von 3,00-15,45  $\mu\text{g/dl}$  (95 % CI,  $n = 103$ ,  $p < 0,001$ ). Werte für SDMA für Tiere mit erhöhten Harnsäurewerten lagen bei 4,00-18,30  $\mu\text{g/dl}$  (95 % CI,  $n = 28$ ,  $p < 0,001$ ). Die Korrelationen zwischen SDMA und Harnsäure wurde mit  $\rho_s = 0,32$  und zwischen SDMA und dem Kalzium-Phosphat Verhältnis mit  $\rho_s = -0,39$  berechnet. Zur Überprüfung des IDEXX SDMA Test wurden die Proben erneut mittels LC-MS als Goldstandard evaluiert. Dabei zeigte sich eine hohe Korrelation von  $R^2 = 0,75$  ( $p < 0,001$ ) beider Messsysteme.

Als Ergebnis dieser Studie wird bei klinisch gesunden und nierengesunden (mit Harnsäurewerten im Normalbereich) Griechischen Landschildkröten der Referenzbereich von 0-15,5  $\mu\text{g/dl}$  für Griechische Landschildkröten definiert. Allerdings sind weitere Studien notwendig, um zu überprüfen, ob SDMA bei Schildkröten im Gegensatz zu Säugetieren eventuell doch durch die Ernährung beeinflusst wird und sich

dieser Parameter zur Früherkennung einer Nierenerkrankung eignet.

## VI. SUMMARY

Currently, renal diagnosis in reptiles is mainly performed by blood examination (urea, Ca:P ratio) and validated by other diagnostic methods, such as urine examination and ultrasound.

The main objectives of this study were to verify the usability of SDMA as a measurable biochemical parameter in Hermann's tortoises, as well as to establish reference values and to examine for correlations with currently used renal parameters for this species.

In total, the residual blood samples of 131 Hermann's tortoises ( $w = 33$ ,  $m = 98$ ) could be analyzed in a period from October 2017 to September 2019. Mainly, these animals came from the reptile rescue center ( $n = 110$ ), while the remaining animals were kept in private husbandry ( $n = 7$ ) and in the Neumuenster Zoo ( $n = 14$ ).

Statistical analysis was performed using R 4.0.3 and further analyses were calculated by the non-parametric Wilcoxon-Mann-Whitney test and Spearman correlation coefficients due to lack of normal distribution of values. In total, values of 1.00-21.00  $\mu\text{g/dl}$  (95% CI: 3.00-16.00  $\mu\text{g/dl}$ ,  $n = 131$ ) were obtained for SDMA in clinically healthy Hermann's tortoises. After classifying the data using a reference value for kidney-healthy Hermann's tortoises regarding uric acid levels (0-5.20  $\text{mg/dl}$ ) (ANDREANI et al. 2014), resulted in a reference range for SDMA of 3.00-15.45  $\mu\text{g/dl}$  (95 % CI,  $n = 103$ ,  $p < 0.001$ ). Values for SDMA for animals with elevated uric acid levels were 4.00-18.30  $\mu\text{g/dl}$  (95 % CI,  $n = 28$ ,  $p < 0.001$ ). Correlations between SDMA and uric acids were calculated as  $\rho_s = 0.32$  and between SDMA and calcium-phosphate ratio as  $\rho_s = 0.39$ . To verify the IDEXX SDMA assay, samples were measured again using LC-MS as the gold standard. This showed a high correlation of  $R^2 = 0.75$  ( $p < 0.001$ ) for both measurement systems.

As a result of this study, the reference range of 0–15.5  $\mu\text{g/dl}$  is defined for clinically and renally healthy (with uric acid levels within normal range) Hermann's tortoises. However, further studies are needed to verify whether SDMA in turtles, in contrast to mammals, is possibly influenced by diet and whether this parameter is suitable for early detection of kidney disease.

## VII. LITERATURVERZEICHNIS

Andreani G, Carpenè E, Cannavacciuolo A, Di Girolamo N, Ferlizza E, Isani G. Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). *Vet Clin Pathol* 2014; 43(4):573–83. doi: 10.1111/vcp.12203.

Bartges JW. Chronic kidney disease in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2012; 42(4):669-92, vi. doi: 10.1016/j.cvsm.2012.04.008.

Bauer T. Analyse der Ernährung und der Haltungsbedingungen von in Deutschland gehaltenen paläarktischen Landschildkröten (*Testudo* spp.) [Dissertation]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2018.

Bedford MT, Richard S. Arginine methylation an emerging regulator of protein function. *Mol Cell* 2005; 18(3):263–72. doi: 10.1016/j.molcel.2005.04.003.

Bode-Böger SM, Scalera F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Breithardt G, Fobker M et al. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(4):1128–34. doi: 10.1681/ASN.2005101119.

Boyer TH, Scott PW. Nutrition. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery*. Third edition. Philadelphia: Saunders; 2019a. p. 201–23.

Boyer TH, Scott PW. Nutritional Diseases. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery*. Third edition. Philadelphia: Saunders; 2019b. p. 932–50.



Braff J, Obare E, Yerramilli M, Elliott J. Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. *J Vet Intern Med* 2014; 28(6):1699–701. doi: 10.1111/jvim.12446.

Christopher MM, Brigmon R, Jacobson E. Seasonal alterations in plasma  $\beta$ -hydroxybutyrate and related biochemical parameters in the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 1994; 108(2-3):303–10. doi: 10.1016/0300-9629(94)90099-X.

DiBartola SP, Rutgers HC, Zack PM, Tarr MJ. Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984). *J Am Vet Med Assoc* 1987; 190(9):1196–202.

Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery*. Third edition. Philadelphia: Saunders; 2019.

Eatwell K, Hedley J, Barron R. Reptile haematology and biochemistry. *In pract.* 2014; 36(1):34–42. doi: 10.1136/inp.f7488.

Elliott J, Barber PJ. Feline chronic renal failure: clinical findings in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *J Small Anim Pract* 1998; 39(2):78–85. doi: 10.1111/j.1748-5827.1998.tb03598.x.

Ernst R, Ogeer J, McCrann D, Cross J, Strong-Townsend M, Friis H et al. Comparative performance of IDEXX SDMA Test and the DLD SDMA ELISA for the measurement of SDMA in canine and feline serum. *PLoS ONE* 2018; (10). doi: 10.1371/journal.pone.0205030.

Gottdenker NL, Jacobson ER. Effect of venipuncture sites on hematologic and clinical biochemical values in desert tortoises (*Gopherus agassizii*). *American journal of veterinary research* 1995; 56(1):19–21.

Hall JA, MacLeay J, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Schiefelbein H et al. Positive Impact of Nutritional Interventions on Serum Symmetric Dimethylarginine and Creatinine Concentrations in Client-Owned Geriatric Cats. *PLoS ONE* 2016a; 11(4). doi: 10.1371/journal.pone.0153654.

Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Almes K, Jewell DE. Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine in Dogs with Naturally Occurring Chronic Kidney Disease. *J Vet Intern Med* 2016b; 30(3):794–802. doi: 10.1111/jvim.13942.

Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Jewell DE. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2014; 28(6):1676–83. doi: 10.1111/jvim.12445.

Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Li J, Yerramilli M, Jewell DE. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones. *PLoS ONE* 2017; 12(4). doi: 10.1371/journal.pone.0174854.

Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Melendez LD, Jewell DE. Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *J Vet Intern Med* 2015; 29(3):808–14. doi: 10.1111/jvim.12607.

Heatley JJ, Russell Karen E. Clinical Chemistry. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. Mader's reptile and amphibian medicine and surgery. Third edition. Philadelphia: Saunders; 2019. p. 319–32.

Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A. Serum cystatin C--a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol* 2005; 64(1):41–6. doi: 10.5414/cnp64041.

Hernandez-Divers SJ. Endoscopic renal evaluation and biopsy of Chelonia. *Vet Rec* 2004; 154(3):73–80. doi: 10.1136/vr.154.3.73.

International renal interest society. IRIS [Stand: 2022 Feb 9]. Verfügbar unter:  
<http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html>.

J. M. Maixner, E. C. Ramsay and L. H. Arp. Effects of feeding on serum uric acid in captive reptiles. *The Journal of Zoo Animal Medicine* 1987; (18, No. (2/3)):62–5. doi: 10.2307/20460240.

Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Frölich JC, Haller H, Ritz E et al. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(1):170–6.

Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Boeger SM, Cooke JP, Fliser D. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function--a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(9):2446–51. doi: 10.1093/ndt/gfl292.

Kielstein JT, Veldink H, Martens-Lobenhoffer J, Haller H, Burg M, Lorenzen JM et al. SDMA is an early marker of change in GFR after living-related kidney donation. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(1):324–8. doi: 10.1093/ndt/gfq395.

Kölle P. Krankheiten des Harntraktes bei europäischen Landschildkröten [Habilitationsschrift,]; Ludwig-Maximilians-Universität München; 2000.

Kölle P. Nierenerkrankungen bei der Schildkröte – Blut- und Harndiagnostik. *kleintier konkret* 2009; 12(01):23–8. doi: 10.1055/s-0029-1213441.

Kölle P. Blutentnahme bei Schildkröten. *kleintier konkret* 2016; 19(S 01):32–5. doi: 10.1055/s-0042-102387.

Kopke MA, Burchell RK, Ruaux CG, Burton SE, Lopez-Villalobos N, Gal A. Variability of Symmetric Dimethylarginine in Apparently Healthy Dogs. *J Vet Intern*

Med 2018; 32(2):736–42. doi: 10.1111/jvim.15050.

Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6., komplett aktualisierte und erw. Aufl. Stuttgart: Schattauer; 2005.

Krause D. Vergleich von trocken- und nasschemischen Blutanalysen bei europäischen Landschildkröten [Dissertation,]: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2001.

Krautwald-Junghanns M-E. Haltung exotischer Tiere und Wildtiere in Privathand:: Situationsanalyse, Bewertung und Handlungsbedarf insbesondere unter Tierschutzaspekten (Exopet): Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät; 2018 [Stand: 2020 Nov 30]. Verfügbar unter: [https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail\\_id=57204&site\\_key=141&stichw=15HS001&zeilenzahl\\_zaeher=2#newContent](https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail_id=57204&site_key=141&stichw=15HS001&zeilenzahl_zaeher=2#newContent).

Lam A, Halán M. Monitoring of Physiological Changes of Uric Acid Concentration in the Blood of Snakes. *Folia Veterinaria* 2017; 61(2):56–60. doi: 10.1515/fv-2017-0019.

Leineweber C, Stöhr AC, Öfner S, Mathes K, Marschang RE. Changes in Plasma Chemistry Parameters in Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni*) Influenced by Season and Sex. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 2019; 29(3-4):113. doi: 10.5818/18-07-159.1.

López-Olvera JR, Montané J, Marco I, Martínez-Silvestre A, Soler J, Lavín S. Effect of venipuncture site on hematologic and serum biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*). *J Wildl Dis* 2003; 39(4):830–6. doi: 10.7589/0090-3558-39.4.830

Mans C. Venipuncture techniques in chelonian species. *Lab Anim (NY)* 2008; 37(7):303–4. doi: 10.1038/labani0708-303.

Mathes KA, Holz A, Fehr M. Blutreferenzwerte in Deutschland gehaltener europäischer

Landschildkröten (*Testudo* spp.). *Tierarztl Prax Ausg K* 2006; 34(04):268–74. doi: 10.1055/s-0037-1622540.

Miller HA. Urinary diseases of reptiles: Pathophysiology and diagnosis. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 1998; 7(2):93–103. doi: 10.1016/S1055-937X(98)80048-0.

Müller M. Der deutsche Heimtiermarkt; 2020 [Stand: 2021 Okt 12]. Verfügbar unter: [https://www.zzf.de/fileadmin/files/ZZF/Marktdaten/ZZF\\_IVH\\_Folder\\_Der\\_deutsche\\_Heimtiermarkt\\_2020\\_und\\_Anzahl\\_der\\_Heimtiere\\_in\\_Deutschland.pdf](https://www.zzf.de/fileadmin/files/ZZF/Marktdaten/ZZF_IVH_Folder_Der_deutsche_Heimtiermarkt_2020_und_Anzahl_der_Heimtiere_in_Deutschland.pdf).

Müller M, Völkel W. Die Verwendung der Flüssigkeitschromatographie / Massenspektrometrie (LC/MS) im biologischen Monitoring [Biomonitoring Methods in German language, 2008]. In: *Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe: Analysen in biologischem Material*; 2008. p. 411–70.

Nabity MB, Lees GE, Boggess MM, Yerramilli M, Obare E, Rakitin A et al. Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs. *J Vet Intern Med* 2015; 29(4):1036–44. doi: 10.1111/jvim.12835.

Nather S. Früherkennung von Nierenerkrankungen: SDMA als Marker zur Vorsorge & Monitoring bei Hunden und Katzen. *veterinär spiegel* 2017; 27(02):47–52. doi: 10.1055/s-0042-123811.

Norton TM. Chelonian Emergency and Critical Care. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 2005; 14(2):106–30. doi: 10.1053/j.saep.2005.04.005.

Obert LA, Elmore SA, Ennulat D, Frazier KS. A Review of Specific Biomarkers of Chronic Renal Injury and Their Potential Application in Nonclinical Safety Assessment Studies. *Toxicol Pathol* 2021; 49(5):996–1023. doi: 10.1177/0192623320985045.

Pedersen LG, Tarnow I, Olsen LH, Teerlink T, Pedersen HD. Body size, but neither age nor asymptomatic mitral regurgitation, influences plasma concentrations of dimethylarginines in dogs. *Res Vet Sci* 2006; 80(3):336–42. doi: 10.1016/j.rvsc.2005.07.005.

Reavill DR, Schmidt RE. Urinary Tract Diseases of Reptiles. *Journal of Exotic Pet Medicine* 2010; 19(4):280–9. doi: 10.1053/j.jepm.2010.10.007.

Relford R, Robertson J, Clements C. Symmetric Dimethylarginine: Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2016; 46(6):941–60. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.06.010.

Schott HC, Gallant LR, Coyne M, Murphy R, Cross J, Strong-Townsend M et al. Symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations in serum of healthy draft horses. *J Vet Intern Med* 2021; 35(2):1147–54. doi: 10.1111/jvim.16042.

Schwedhelm E, Böger RH. The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7(5):275–85. doi: 10.1038/nrneph.2011.31.

Scope A, Schwendenwein I, Schauburger G. Characterization and quantification of the influence of season and gender on plasma chemistries of Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*, Gmelin 1789). *Res Vet Sci* 2013; 95(1):59–68. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.02.017.

Selleri P, Hernandez-Divers SJ. Renal diseases of reptiles. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2006; 9(1):161–74. doi: 10.1016/j.cvex.2005.10.008.

Siegmund C. Klinische Bedeutung der Regulation von L-Arginin sowie deren Derivate SDMA und ADMA im Akuten Nierenversagen – eine prospektive monozentrische Kohortenstudie (CASA-AKI Studie) [Dissertation]. Würzburg: Universität Würzburg; 2016.

Sinn AD. Pathologie der Reptilien - eine retrospektive Studie [Dissertation,]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2004.

Smeller JM, Slickers K, Bush M. Effect of feeding on plasma uric acid levels in snakes. *American journal of veterinary research* 1978; 39(9):1556–7.

Stahl SJ, DeNardo DF. Theriogenology. In: Divers SJ, Stahl SJ, Hrsg. *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery*. Third edition. Philadelphia: Saunders; 2019. p. 849–93.

Vistro WA, Zhang Yue, Muhammad Azhar, Wu RuiZhi, Yang Sheng, Chen Chang et al. Hematological and plasma biochemical parameters of Chinese soft-shelled turtle during hibernation and non-hibernation. *International Journal of Agriculture and Biology* 2020; 23(3):529–33.

Wegehaupt W. *Natürliche Haltung und Zucht der Griechischen Landschildkröte*. 3., überarb. Aufl. Kressbronn am Bodensee: Wegehaupt-Verlag; 2012.

Wilson P, El-khoury J. Validation of a Novel High-Throughput Immunoassay for Measuring Symmetric Dimethylarginine as a Marker of Kidney Function [Abstract]. *American Journal of Clinical Pathology* 2018; 149(suppl\_1):S195-S195. doi: 10.1093/ajcp/aqx149.429.

Zhou B, Xiao JF, Tuli L, Resson HW. LC-MS-based metabolomics. *Mol Biosyst* 2012; 8(2):470–81. doi: 10.1039/c1mb05350g.

Zwart P. Blutentnahme bei Reptilien (unter Berücksichtigung der Schwanzgefäße). In: *Schwerpunkt Labordiagnostik*; 2013. p. 31–45.

## VIII. ANHANG

Tiere	Geschlecht	Gewicht [kg]	Alter	SDMA LC-MS Messung [ $\mu\text{g}/\text{dl}$ ]	SDMA Immunoassay [ $\mu\text{g}/\text{dl}$ ]	AP [U/l]	LDH [U/l]	ALT [U/l]	AST [U/l]	CK [U/l]	TP [g/dl]	BUN [mg/dl]	UA [mg/dl]	anorg. P [mmol/l]	Cs [mmol/l]	CiP-Verhältnis	K [mmol/l]	Na [mmol/l]	Gluc [mg/dl]	TRIG [mg/dl]
1	m	0.83	adult		1	273	243	4	89	70	3.2	2	1.42	0.9	2.6	2.9	5.8	131	67	33
2	m		adult	5	2	264	272	14	124	64	3.3	2	4.49	0.8	2.8	3.5	7.8	133	44	95
3	m		adult	3	3	207	196	9	134	43	3.1	3	5.07	0.8	2.9	3.6	6.5	132	23	99
4	m		adult	4	3	343	285	6	73	28	3.1	8	4.14	0.8	3	3.8	6.2	119	62	22
5	m		adult	4	3	170	185	4	101	27	1.4	19	3.19	0.4	2	5.0	4.0	119	16	27
6	w	1.278	adult	4	3	159	123	3	86	311	3	3	2.1	0.7	4	6.7	5.3	135	52	185
7	m		adult	6	3	76	99	3	56	36	1.1	42	3.3	0.3	1.9	6.3	4.9	124	19	35
8	m		adult	1	4	249	359	9	120	56	3.8	4	6.03	0.8	2.8	3.5	6.6	135	78	51
9	m		adult	3	4	145	153	6	66	131	2.4	3	3.6	0.9	2.3	2.6	4.1	134	61	19
10	m	0.564	adult	4	4	138	176	4	138	14	3.4	16	2.74	0.5	3.5	7.0	5.8	126	29	17
11	m		adult	6	4	218	133	4	118	25	1.9	24	4.07	0.6	2.3	3.8	5.3	129	28	73
12	m		adult	6	4	161	196	3	83	296	2	4	7.48	0.5	2.6	5.2	5.9	132	50	93
13	w	0.57	adult	6	4	325	35	2	138	12	3.1	1	1.96	1.3	4.1	3.2	5.6	133	49	351
14	m		adult	8	4	225	277	7	106	83	3.2	5	5.06	1	2.8	2.8	6.4	133	20	89
15	m		adult	4	4	111	148	5	94	294	2.7	5	2.35	0.5	2.3	4.6	4.3	140	99	13
16	m		adult	3	5	159	161	4	60	55	2.6	4	3.56	0.7	2.6	3.7	5.9	130	37	72
17	m	0.94	adult	5	5	108	334	8	362	59	2	1	1.81	0.6	2.8	4.7	5.0	129	92	154
18	m		adult	6	5	136	236	6	194	30	1.8	9	4.62	0.2	2.3	11.5	5.0	130	55	49
19	w		adult	6	5	199	68	1	45	16	2.8	5	4.61	0.8	3.5	4.4	4.3	129	37	241
20	m	1.561	adult	7	5	207	228	10	166	34	2.7	1	2.63	0.9	2.7	3.0	6.0	134	42	33
21	m	0.737	adult	7	5	226	96	2	78	98	2.1	1	0.94	1.1	2.5	2.3	5.0	129	118	49
22	m		adult	8	5	137	135	5	94	65	1.8	2	1.96	0.6	2.5	4.2	4.8	130	53	81
23	m	0.629	adult	5	5	373	381	6	117	37	3	2	5.28	1.1	2.9	2.6	4.8	135	86	10
24	w	1.78	adult	5	5	208	118	2	66	81	4.2	1	1.66	1.1	4.4	4.0	4.3	137	73	515
25	m	0.478	adult	5	5	236	153	5	92	24	2.2	21	2.2	0.5	2.4	4.8	5.1	130	63	36
26	m		adult	3	6	174	170	4	109	255	2.3	9	4.1	0.6	2.2	3.7	5.6	127	35	59
27	m	0.482	adult	4	6	125	90	2	73	38	1.7	14	1.58	0.8	2.8	3.5	4.1	132	47	43
28	m	0.737	adult	5	6	266	193	3	111	55	2.9	11	3.34	0.8	3	3.8	6.0	133	67	88
29	m	0.835	adult	6	6	124	205	3	105	47	3	2	2.95	1.2	3.1	2.6	6.7	130	56	191
30	m	0.747	adult	6	6	108	87	4	142	19	2.2	1	1.72	0.5	2.8	5.6	5.1	124	46	63
31	m		adult	7	6	95	136	3	94	90	1	28	2.88	0.4	1.9	4.8	4.6	126	37	30
32	m		adult	7	6	230	264	11	158	63	3	4	6.07	0.8	2.4	3.0	6.3	127	52	36
33	m	0.824	adult	7	6	156	245	10	237	244	2.8	1	2.98	0.8	2.7	3.4	6.1	127	90	78
34	m	0.869	adult	7	6	108	124	3	65	36	2.6	2	2.49	0.8	2.8	3.5	4.9	130	58	89
35	m	0.676	adult	7	6	114	115	12	161	28	1.7	12	2.26	0.6	2.3	3.8	4.1	127	46	20
36	m		adult	8	6	374	197	4	153	123	3.4	2	3.58	1.1	2.7	2.5	5.8	133	70	97
37	m		adult	8	6	251	195	8	65	41	3	5	4.87	0.8	2.5	3.1	6.3	131	53	64
38	m		adult	9	6	89	216	3	101	38	1.4	6	3.09	0.5	2.3	4.6	4.6	126	23	39
39	m		adult	10	6	344	96	2	65	58	2	3	1.94	1	2.7	2.7	49.0	138	51	51
40	m		adult	6	6	191	255	26	212	32	3.6	1	2.84	1.2	2.6	2.2	7.3	119	55	87
41	w		adult	6	6	491	321	10	171	952	4.3	4	4.77	1.9	4.9	2.6	7.3	129	56	302
42	m		adult	6	6	470	113	8	125	44	3.8	3	5.23	0.9	2.9	3.2	5.8	137	62	72
43	m	1.25	adult	6	6	219	206	4	99	110	2.6	22	4.58	0.8	3.1	3.9	4.9	136	72	82



Tiere	Geschlecht	Gewicht [kg]	Alter	SDMA LC-MS Messung [ $\mu\text{g/dl}$ ]	SDMA Immunassay [ $\mu\text{g/dl}$ ]	AP [U/l]	LDH [U/l]	ALT [U/l]	AST [U/l]	CK [U/l]	TP [g/dl]	BUN [mg/dl]	UA [mg/dl]	anorg. P [mmol/l]	Ca [mmol/l]	C:P- Verhältnis	K [mmol/l]	Na [mmol/l]	Gluc [mg/dl]	TRIG [mg/dl]
44	m	1.021	adult		6	161	224	3	100	99	2,6	28	5,43	0,8	2,8	3,5	5,1	131	36	54
45	m	0.909	adult	3	7	95	105	3	99	19	1,9	35	4,95	0,4	2,6	6,5	4,6	135	53	47
46	m	0.835	adult	4	7	135	126	12	331	25	2,8	1	2,27	0,8	2,5	3,1	5,4	129	65	100
47	m	0.896	adult	5	7	219	146	4	101	25	3	3	3,76	0,8	3,1	3,9	5,6	134	73	54
48	m	0.812	adult	6	7	357	357	6	201	25	2	0	1,63	0,8	2,5	3,1	6,0	131	85	92
49	m	0.519	adult	7	7	227	166	5	77	34	2,5	2	3,45	1,1	2,5	2,3	5,7	135	95	64
50	m	0.482	adult	8	7	237	286	18	480	154	3,4	2	3,08	1,1	3	2,7	6,1	137	74	112
51	m		adult	9	7	79	179	5	92	39	2	2	3,41	0,5	3	6,0	5,7	122	56	81
52	m		adult	10	7	221	228	5	114	50	2,7	3	5,07	0,6	2,5	4,2	5,8	131	44	52
53	m		adult	10	7	199	182	5	70	191	2,8	11	3,44	0,6	2,6	4,3	5,6	127	55	19
54	m		adult	10	7	153	125	4	94	48	2,9	17	7,27	0,7	2,7	3,9	6,6	130	47	56
55	m		adult	10	7	191	227	5	107	167	3	4	3,13	0,8	2,6	3,3	5,5	135	67	51
56	w	1.43	adult		7	178	118	3	147	367	4	1	1,54	1	3,5	3,5	4,8	142	37	587
57	w	1.24	adult		7	153	117	0	46	22	4,3	2	2,18	1,2	4,1	3,4	6,8	132	59	619
58	w	1.24	adult		7	257	219	2	67	44	5,3	2	1,95	1,8	4,9	2,7	6,9	132	85	267
59	m	0.844	adult	1	8	252	284	4	153	66	3,3	2	4,29	0,9	2,8	3,1	5,9	133	74	106
60	m	0.525	adult	4	8	154	162	4	175	143	2,1	39	3,28	0,6	2,7	4,5	5,9	132	53	45
61	m	0.703	adult	7	8	151	166	3	115	207	3,2	1	3,15	0,9	3,1	3,4	5,9	139	88	100
62	m	1.157	adult	7	8	119	222	3	96	36	3,2	3	3,49	0,9	2,9	3,2	6,1	131	64	51
63	m	1.077	adult	7	8	181	242	7	249	43	2,4	6	3,61	0,6	2,7	4,5	6,7	136	75	46
64	m		adult	8	8	360	230	7	159	63	2,4	2	3,72	0,6	2,5	4,2	5,8	126	28	60
65	w		adult	8	8	248	138	3	74	36	3,2	5	3,99	1,6	5,2	3,3	4,9	130	62	349
66	m	0.583	adult	9	8	127	138	4	94	32	7,8	1	3,34	0,7	2,9	4,1	7,0	136	106	78
67	m		adult	10	8	276	395	4	125	44	2,2	18	4,85	0,6	2,4	4,0	5,5	131	63	85
68	m		adult	10	8	179	210	4	103	79	1,7	7	5,7	0,5	2,2	4,4	5,5	123	52	41
69	m		adult	13	8	309	439	11	289	59	2,1	56	6,87	0,6	2,5	4,2	4,9	147	25	44
70	m		adult		8	288	144	5	74	40	3	1	3,1	1,2	2,5	2,1	6,9	120	54	30
71	m	0.874	adult		8	195	230	8	115	725	3,8	3	6,8	1,2	2,7	2,3	6,5	137	78	36
72	m	0.819	adult		8	172	158	6	70	92	2,7	4	4,72	1	2,2	2,2	5,4	133	54	17
73	m		adult		8	388	117	10	173	59	3,5	5	4,6	1,1	2,8	2,5	6,7	137	79	75
74	w	1.13	adult		8	267	140	3	87	214	3,4	2	3,42	1,1	4	3,6	5,6	130	61	472
75	m		adult	9	9	73	121	4	124	44	1,1	31	2,44	0,4	2,3	5,8	4,6	124	74	35
76	m	1.1	adult	9	9	126	119	4	126	115	2,8	5	3,74	0,7	2,6	3,7	6,0	129	87	64
77	m	0.927	adult	9	9	193	126	3	94	124	2,9	4	1,81	1,1	4,3	3,9	5,2	134	57	262
78	w	1.336	adult	9	9	131	185	17	306	17	3,2	10	2,13	1	3,5	3,5	5,5	146	65	253
79	m	0.85	adult	11	9	130	147	3	77	52	2,5	3	5,31	0,6	2,8	4,7	5,2	132	58	33
80	m		adult		9	225	286	8	200	25	3,6	19	5,98	0,6	2,6	4,3	6,5	130	36	38
81	w	0.658	adult		9	372	162	3	70	61	3,8	1	1,47	1,1	2,9	2,6	5,7	137	3,8	159
82	w	2.615	adult		9	179	127	1	47	15	3,2	4	6,28	1,5	3,9	2,6	4,9	146	18	418
83	m	0.758	adult		9	123	149	6	100	18	3,9	3	4,47	0,9	2,5	2,8	4,5	133	87	42
84	w	2.1	adult		9	78	77	0	63	38	4,7	2	4,7	1,9	5,4	2,8	5,8	129	77	868
85	m	0.483	adult	4	10	141	138	4	178	51	2,4	1	2,42	0,6	2,8	4,7	6,0	131	54	75
86	m		adult	13	10	125	319	6	222	66	0,9	41	1,8	0,4	1,8	4,5	3,9	123	47	12
87	w	1.08	adult		10	205	118	5	82	506	5,3	1	2,06	1	4,4	4,4	6,3	136	58	561

Tiere	Geschlecht	Gewicht [kg]	Alter	SDMA LC-MS Messung [ $\mu\text{g}/\text{dl}$ ]	SDMA Immunossay [ $\mu\text{g}/\text{dl}$ ]	AP [U/l]	LDH [U/l]	ALT [U/l]	AST [U/l]	CK [U/l]	TP [g/dl]	BUN [mg/dl]	UA [mg/dl]	anorg. P [mmol/l]	Cs [mmol/l]	CP- Verhältnis	K [mmol/l]	Na [mmol/l]	Gluc [mg/dl]	TRIG [mg/dl]
88	m		adult		10	47	75	1	100	851	2.7	1	2.06	2	3.6	1.8	4.8	81	143	206
89	m		adult		10	240	41	1	59	23	3	1	1.72	2.3	3.9	1.7	4.8	127	105	308
90	m	0.608	adult	3	11	90	175	5	136	32	2.5	2	4.14	0.8	3	3.8	5.9	138	71	99
91	m	0.476	adult	6	11	196	166	3	104	28	2.6	2	2.66	0.7	2.6	3.7	6.0	134	37	71
92	m	0.692	adult	7	11	159	168	5	141	27	2.8	2	4.39	0.8	2.7	3.4	5.4	133	54	49
93	m		adult	12	11	144	300	4	100	108	2.8	24	4.51	0.8	2.2	2.8	5.1	131	42	34
94	m	0.519	adult	12	11	256	113	6	207	24	2.5	3.2	3.2	0.7	2.8	4.0	6.5	133	98	120
95	w	1.367	adult		11	256	244	2	86	17	4.6	4	9.78	2.6	4.6	1.8	6.7	143	6	533
96	w	3.231	adult		11	149	186	0	57	144	3.1	4	5.55	1.4	3.3	2.4	7.0	139	25	372
97	w	1.814	adult		11	226	207	8	150	160	4	4	6.44	1.8	4.7	2.6	6.4	141	30	801
98	m	1.07	adult		11	219	162	8	125	265	3.8	5	3.55	0.9	2.5	2.8	4.8	140	55	39
99	m	0.489	adult		11	189	142	3	142	31	3.5	3	5.09	0.8	2.7	3.4	7.2	138	77	95
100	m		adult		11	193	100	8	150	211	3.2	3	2.35	0.8	2.4	3.0	5.9	135	106	85
101	w	0.523	adult		11	628	138	2	48	34	3.1	1	3.41	0.6	2.7	4.5	5.7	132	84	51
102	m		adult		11	280	85	3	70	36	3.4	1	3.5	1.1	2.3	2.1	5.2	132	168	88
103	m	0.525	adult	2	12	179	147	3	126	36	2.3	49	3.25	0.8	2.7	3.4	4.9	131	14	37
104	m	0.481	adult	2	12	177	197	3	115	24	2.9	2	3.84	1.1	2.6	2.4	5.5	134	197	68
105	m	0.981	adult	7	12	336	255	3	124	22	3.1	15	5.4	1	2.8	2.8	5.7	135	57	84
106	m	0.94	adult	7	12	127	234	5	114	81	3.8	30	1.68	1.1	2.5	2.3	5.5	137	54	31
107	m	0.59	adult	8	12	332	376	11	332	39	3.4	2	3.82	1	2.8	2.8	7.4	134	101	142
108	m	0.65	adult		12	521	349	11	153	64	4.4	4	10.35	1.6	2.7	1.7	5.4	141	45	11
109	w	1.936	adult		12	174	179	3	69	21	3.4	8	6.67	2	4.8	2.4	6.0	140	14	647
110	w	2.16	adult		12	256	304	3	88	63	4.2	20	7.98	2.5	5.7	2.3	6.0	143	1	745
111	w	1.158	adult		12	309	261	5	94	20	3.6	8	8.51	2.5	4.5	1.8	6.9	148	13	443
112	w	1.3	adult		12	309	261	5	94	20	3.6	8	8.51	2.5	4.5	1.8	6.9	149	9	889
113	w	0.806	adult		12	672	43	3	60	112	3.3	6	3.16	1.5	4.8	3.2	5.6	138	66	392
114	m	0.617	adult	7	13	285	363	11	261	1173	2.8	2	2.89	1	2.8	2.8	6.6	130	54	121
115	m	0.669	adult	15	13	145	82	3	143	43	2.9	1	2.25	1	2.6	2.6	5.6	136	115	104
116	w	2.094	adult		13	248	136	2	78	42	3.2	4	7.68	1.5	3.3	2.2	7.1	139	30	388
117	w	2.847	adult		13	214	295	2	84	684	3.1	5	5.46	1.7	4.1	2.4	6.9	142	17	378
118	w	6.759	adult		13	442	252	3	81	31	3.8	6	10.69	2.3	3	1.3	6.5	145	18	50
119	w	1.157	adult		13	263	242	2	91	25	3.7	3	8.27	1.8	4.3	2.4	6.4	139	18	600
120	m	0.842	adult	9	14	156	273	3	215	48	2	97	3.55	0.7	2.4	3.4	5.0	129	52	10
121	m	1.167	adult	12	14	133	215	3	127	91	2	41	3.55	0.4	3	7.5	5.3	130	57	48
122	w	1.845	adult		14	193	252	3	96	23	3.3	7	7.69	1.6	3.9	2.4	6.2	149	17	322
123	w	0.842	adult		14	222	72	3	55	18	3.5	11	4	1	4.2	4.2	4.9	138	59	305
124	m	0.478	adult		14	193	258	5	107	34	2.2	115	3.58	0.7	2.3	3.3	5.0	125	53	37
125	m	?	adult		15	125	493	6	302	533	1.4	52	4.92	0.7	2.5	3.6	5.9	132	82	35
126	m	0.873	adult	4	16	141	212	5	213	61	1.7	77	2.72	0.9	2.1	2.3	4.4	138	15	34
127	w		adult	17	16	202	427	7	174	133	2.8	45	5.01	1.1	2.7	2.5	5.1	134	16	44
128	w	0.598	adult		16	292	161	4	71	287	4.8	1	4.7	1.5	3.1	2.1	7.0	136	76	168
129	m	0.9	adult	15	17	295	151	3	78	70	2.4	58	8.24	0.7	2.3	3.3	5.0	131	48	20
130	m	0.898	adult	15	17	247	219	3	119	70	3.1	25	11	0.7	2.3	3.3	5.3	142	93	61
131	w	2.415	adult		21	99	256	6	149	230	3.2	31	10.61	1.5	2.7	1.8	7.8	138	11	203

## **IX. DANKSAGUNG**

Mein großer Dank geht an **PD Dr. Petra Kölle**, die mir mit Ihrer Betreuung immer zur Seite stand und ohne deren Hilfe ich diese Arbeit nicht hätte schreiben können. In jeder Phase dieser Arbeit, vom Ethikkommissionsantrag bis zur Fertigstellung dieser Dissertation, konnte ich mich auf ihre Unterstützung verlassen.

Des Weiteren möchte ich **Sabine Öffner** danken, die auch nach meinem Praktikum in der Auffangstation der Reptilien an mich gedacht hat und mir dieses Thema für eine Doktorarbeit vorgeschlagen hat.

Außerdem möchte ich mich ganz herzlich beim gesamten IDEXX Team und insbesondere den Mitarbeitern **Dr. Nikola Pantchev** und **Dr. Barblin Altherr** bedanken, die mir immer ausführlich auf meine vielen Emails geantwortet haben und mit ihrer konstruktiven Kritik besonders in der Schreibphase des Papers weitergeholfen haben.

Ebenso möchte ich in dieser Danksagung auch die Gelegenheit nutzen mich herzlichst bei **Tina Hollandt und Patrick Haugwitz** meinen Dank auszusprechen. Beide haben mich tatkräftig beim Akquirieren der Studentiere sowie der Blutentnahme unterstützt. Ohne die Unterstützung der beiden würde ich immer noch bei der Bearbeitung der Proben sitzen.

Als letztes gilt ein ganz besonderer Dank **meinem Mann und meiner Cousine**, die mir mit der Korrektur des englischen Papers besonders geholfen und somit dies überhaupt möglich gemacht haben. Mein Partner bewies außerordentliche Geduld in allen Phasen dieser Arbeit und hat mir stets den Rücken gestärkt.