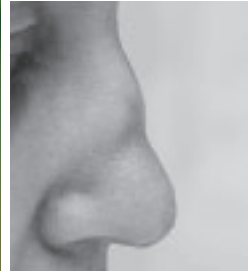


**EASi**<sup>TM</sup>

*European Autoimmunity  
Standardisation Initiative*



## *Leitfaden für die Autoimmundiagnostik*



**ögam**

Österreichische Gesellschaft für  
Allgemein- und Familienmedizin – Mitglied der WONCA

**Ao. Univ. Prof. DDr. Manfred Herold**

Universitätsklinik für Innere Medizin 1  
Rheumaambulanz & Rheumalabor  
Anichstrasse 35 · A-6020 Innsbruck  
Telefon: 0512 / 504 - 2 33 21  
Fax: 0512 / 504 - 2 42 13  
E-mail: manfred.herold@i-med.ac.at  
manfred.herold@uki.at

**Ao. Univ. Prof. Dr. Ulrike Demel**

Facharzt für Immunologie  
Medizinische Universität Graz  
GE F. Klinische Immunologie  
Auenbruggerplatz 8 · A-8036 Graz  
Telefon: 0316 / 385 - 84785  
E-mail: ulrike.demel@medunigraz.at

**Univ. Doz. Dr. Georg Endler**

Zentrallabor  
Wilhelminenspital der Stadt Wien  
Montleartstr. 37 · A-1160 Wien  
Telefon: 01 / 49150 - 3308  
E-mail: georg.endler@wienkav.at

**ÄDir. Stv. Prim. Dr. Ernst Forster**

Laboratorien der WGKK  
Hanusch KH / Zentrallabor  
Heinrich-Collin-Straße 30 · A-1140 Wien  
Telefon: 01 / 91021 - 86211  
Fax: 01 / 91021 - 86219  
E-mail: ernst.forster@wgkk.at  
GZ Süd:  
Telefon: 01 / 60122 - 42 22 oder - 42 25  
Fax: 01 / 60122 - 43 17

**Univ. Prof. Dr. Andrea Griesmacher**

Zentralinstitut f. med. und chem. Labordiagnostik  
LKH-Universitätskliniken Innsbruck  
Anichstrasse 35 · A-6020 Innsbruck  
Telefon: 0512 / 504 - 24090  
E-mail: andrea.griesmacher@uki.at

**Dr. Christin Hübner**

Facharzt für Med. Chem. Labordiagnostik  
Simmeringer Hauptstrasse 147 · A-1110 Wien  
Telefon: 0676 / 3754560  
E-mail: ch.huebner@laborarzt.at

**Ao. Univ. Prof. Dr. Günter Steiner**

Klinische Abteilung für Rheumatologie  
Universitätsklinik für Innere Medizin III  
Medizinische Universität Wien  
Währinger Gürtel 18 · A-1090 Wien  
Telefon: 01 / 40400 - 4301 (Sekretariat),  
DW 2121 (Büro), DW 4297 (Labor)  
Fax: 01 / 40400 - 4306  
E-mail: guenter.steiner@meduniwien.ac.at

**Dr. Sonja Wagner**

FÄ für Med.Chem. Labordiagnostik  
Genetikdiplom der ÖÄK  
Fortbildungsdiplom der ÖÄK  
Diagnostische Labors Mühl/Speiser  
Praterstrasse 22 · A-1020 Wien  
Telefon: 01 / 26053 - 174  
Fax: 01 / 26053 - 175  
E-mail: s.wagner@labors.at

---

## ÖGAM Lecture Board

Dr. Erwin Rebhandl, Dr. Susanne Rabady,  
Dr. Reinhold Glehr, Dr. Wolfgang Zillig,  
Dr. Peter Pichler, Dr. Ingrid Pichler,

Univ.-Prof. Dr. Manfred Maier,  
Dr. Bernhard Fürthauer, Dr. Barbara Degn



# Einleitung

Autoimmunerkrankungen umfassen eine klinisch heterogene Gruppe von Erkrankungen, die dadurch charakterisiert sind, dass das Immunsystem körpereigene Gewebe oder Organe angreift. Dies kann einen vorübergehenden oder progredienten Charakter in Form einer schädigenden Entzündung eines Gewebes oder Organs zur Folge haben (Ferencik et al., 2006). Aktuell sind mehr als 60 Autoimmunerkrankungen bekannt und bei vielen anderen Krankheiten wird die Beteiligung eines autoimmunen Prozesses noch diskutiert. Die Erkrankungen können sich organspezifisch (z.B. Thyroiditis, Diabetes mellitus Typ 1) oder systemisch (z.B. RA<sup>1</sup>, SLE<sup>2</sup>, Sklerodermie) manifestieren.

Autoimmunerkrankungen werden verglichen zu anderen Erkrankungen generell als eher selten verstanden, der Effekt auf die Mortalität und Morbidität ist aber sehr hoch. Dennoch sollen laut Literatur ungefähr einer von zwanzig Bewohnern in Europa oder Nordamerika an irgendeiner Form einer Autoimmunerkrankung leiden (Jacobson et al., 1997; Cooper & Stroehla, 2003; Ferencik et al., 2006; Tabelle 1). Autoimmunerkrankungen werden als Hauptursache für die Mortalität von amerikanischen Frauen jungen und mittleren Alters (Cooper & Stroehla, 2003) angesehen.

---

<sup>1</sup> RA, rheumatoide Arthritis; in Österreich ist auch die ältere Bezeichnung chronische Polyarthritits (cP) üblich

<sup>2</sup> SLE, systemischer Lupus erythematodes

**Tabelle 1: Inzidenz, Prävalenz von Autoimmunerkrankungen**

	Inzidenz / 100.000 Patientenjahre	Prävalenz / 100.000	Anteil Frauen (in %)
Rheumatoide Arthritis			
Juvenile (Alter bis 16 Jahre)	17	148	68
Erwachsene	23,7	860	75
Systemische Sklerodermie	1,4	4,4	92
Sjögren Syndrom	3,9	14,4	94
Systemischer Lupus erythematodes	7,3	23,8	88
Wegener Granulomatose	1,0	3,0	51
Primäre systemische Vaskulitiden	2,0	14,5	43
Polymyositis/Dermatomyositis	1,8	5,1	67

*Cooper & Stroehla, 2003*

Die ursächlichen Faktoren der Autoimmunerkrankungen können die sich ununterbrochen bildenden Autoantikörper, Immunkomplexe mit Autoantigenen oder autoreaktive T-Lymphozyten sein. Jeder dieser Faktoren kann bei einer bestimmten Erkrankung eine überwiegende Rolle spielen, oder die Faktoren können sich synergistisch ergänzen, besonders bei systemischen Autoimmunerkrankungen mit Multiorganbeteiligung.

Zu den häufigsten Ursachen in der Entstehung von Autoimmunerkrankungen gehören eine genetische Prädisposition, eine ungünstige Modifikation der eigenen Antigene durch Einwirkung äußerer Faktoren (z.B. Viren oder Xenobiotika einschließlich einiger Arzneimittel), die Ähnlichkeit von Autoantigenen mit Antigenen verschiedener Mikroorganismen oder eine Störung der Antigenpräsentation oder immunregulatorischer Mechanismen (Rose, 2002).

# Die Rolle der Allgemeinmedizin in der Abklärung von entzündlich-rheumatischen Autoimmunerkrankungen

Rheumatische Beschwerden mit Missempfindungen am Bewegungsapparat sind häufig die führenden Symptome von Patienten mit Autoimmunerkrankungen. Für die meisten Patienten mit beginnenden rheumatischen Beschwerden ist der Arzt für Allgemeinmedizin der erste Ansprechpartner. Ihm kommt eine große Bedeutung mit essentiellen Aufgaben zu:

- Möglichst frühzeitige Verdachtsdiagnose
- Weiterleitung an niedergelassenen Rheumatologen oder eine Fachambulanz
- Patientenbetreuung nach Abklärung durch den Rheumatologen
- Koordination der Untersuchungen und Behandlungen
- Hilfestellung und Beratung bei Fragen aus dem psychosozialen Bereich
- Überprüfung des Therapieerfolgs, Erfassen der Nebenwirkungen

Zu Beginn der diagnostischen Abklärung steht eine gründliche Anamnese und eine sorgfältige medizinische Untersuchung der Patienten. Im Anschluss an die klinische Untersuchung erfolgen bei entsprechender klinischer Verdachtsdiagnose Laborbestimmungen, wobei das rheumatologische neben dem internistischen Basislabor spezielle weiterführende Bestimmungen verschiedener Autoantikörper umfasst, deren Vorkommen oder Fehlen oft wichtige diagnostische Hinweise geben kann. Sinnvollerweise empfiehlt es sich, eine gewisse Stufendiagnostik einzuhalten.

## *Internistisches Basislabor*

Das Routinelabor beinhaltet Entzündungsmarker (BSG, CRP)<sup>3</sup>, ein Blutbild mit Differentialblutbild und zur Beurteilung einer möglichen Organbeteiligung

---

<sup>3</sup> BSG: Blutsenkungsgeschwindigkeit, CRP: C-reaktives Protein

Leberwerte (ALT = GPT)<sup>4</sup> sowie Nierenwerte (Creatinin und die zumindest nach MDRD errechenbare GFR.)<sup>5</sup>.

Grundsätzlich gilt, dass bei Fehlen einer systemischen Immunantwort die allgemeinen Entzündungszeichen (BSG, CRP) normal sind und eine manifeste Autoimmunerkrankung unwahrscheinlich ist, wodurch sich meist eine weiterführende Labordiagnostik erübrigt.

Die Bestimmung von Organmarkern (z.B. Leber- und Nierenwerte) kann auf eine Mitbeteiligung von Organen hinweisen. Bei Kollagenosen oder Vaskulitiden muss z.B. die Schwere der Nierenbeteiligung erfasst werden, um entsprechende therapeutische Schritte einzuleiten. Beim systemischen Lupus erythematoses (SLE) werden Prognose und Mortalität wesentlich durch den Nierenbefall bestimmt.

### ***Rheumatologisches Basislabor***

Die Anordnung eines Screening-Tests auf Autoantikörper durch den Arzt für Allgemeinmedizin sollte idealerweise nur dann erfolgen, wenn eine Verdachtsdiagnose aufgrund von mehr als einem klinischen Symptom vorliegt (Bizzaro & Wiik, 2004).

Bei Verdacht auf eine Autoimmunerkrankung wird als erster Suchtest die Bestimmung auf antinukleärer Antikörper (ANA) als Suchtest auf Antikörper gegen zelluläre Bestandteile angefordert. Der Nachweis von ANA wird heute in den Labors entweder mittels indirekter Immunfluoreszenz (IIF) auf einer definierten Tumorzelllinie (Hep2-Zelle), oder mittels Enzymimmunoassay (EIA) durchgeführt.

Im Gegensatz zur IIF, wo die gesamte Zelle als antigenes Target dient, werden im EIA nur die für die Erkrankung relevanten Antigene präsentiert. Die Resultate werden in der IIF in Titerstufen und in entsprechenden Fluoreszenzmustern ausgegeben. Im EIA erfolgt die Ausgabe der Ergebnisse entweder als Ratio (Screen) oder in Einheiten U/ml.

Ein durch das Labor positiv ausgegebener Screening-Test muss nicht zwingend eine Autoimmunerkrankung bedeuten und umgekehrt kann ein negatives Ergebnis eine Erkrankung auch nicht ausschließen. Durch die Labordiagnostik kann eine Erkrankung des rheumatischen Formenkreises zwar nicht bewiesen oder

---

<sup>4</sup> ALT: Alanin-Aminotransferase, GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase (alte Bezeichnung)

<sup>5</sup> MDRD-GFR: Formel zur Abschätzung der glomeruläre Filtrationsrate berechnet nach der „Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equation“

ausgeschlossen werden, doch gezielt eingesetzt dient sie der Diagnosesicherung und der Unterstützung bei der Therapieentscheidung und in wenigen Fällen zur Verlaufskontrolle. Letztendlich ist für die Diagnosestellung und Therapiebeurteilung die Klinik entscheidend.

Bei klinischem Verdacht auf RA (cP; Leitsymptom symmetrische Arthritis v. a. der kleinen Gelenke, ausgeprägte Morgensteifigkeit, siehe Tabelle 2) sind nach wie vor die Bestimmung des Rheumafaktors (RF) und seit wenigen Jahren auch Antikörper gegen citrullinierte Peptide/Proteine (ACPA wie zum Beispiel anti-CCP-Antikörper, anti-MCV-Antikörper)<sup>6</sup> indiziert. Zu beachten ist allerdings, dass RF-Werte erst ab einem Wert von 50 U/ml differentialdiagnostisch relevant sind. Niedrig titrige RF-Werte werden bei bis zu 10% der gesunden Bevölkerung gefunden.

### **Weiterführende Tests**

Um den behandelnden Arzt optimal darüber zu informieren, wie man Labortests zur Diagnosesicherung von Kollagenosen kostengünstig und diagnostisch adäquat anordnet, ist es sinnvoll, gemäß eines vorgeschlagenen Algorithmus vorzugehen. Abbildung 1 zeigt einen solchen Algorithmus, der neben den durch den Arzt für Allgemeinmedizin angeordneten Screening-Tests noch weiterführende Laborbestimmungen zur endgültigen Diagnose in Zusammenarbeit mit dem Facharzt und dem Labor darstellt. Neben Antikörper sind noch andere hoch spezifische funktionelle Tests möglich.

Mittlerweile weiß man, dass das Autoantikörperprofil von Patienten mit entzündlich rheumatischen Erkrankungen in der Regel sehr stabil und der Antikörpertiter in den Phasen der Krankheitsaktivität und der Remission relativ konstant sind (Wiik, 2007). Daher ist die wiederholte Bestimmung oder Quantifizierung eines Antikörpers in den meisten Fällen nicht nötig, wenn das Autoantikörperprofil bereits bekannt ist. Ausnahmen sind das Monitoring der anti-dsDNA Antikörper bei SLE und ANCA vom Typ der PR-3 Antikörper bei systemischer Vaskulitis. Bei diesen Erkrankungen weist ein deutlicher Anstieg des Antikörpertiters auf eine bevorstehende Exazerbation hin, während ein deutliches Absinken einer wenig aktiven Erkrankung entspricht (Wiik, 2007).

---

<sup>6</sup> ACPA: Antikörper gegen citrullinierte Peptide; CCP: cyclische citrullinierte Peptide, MCV: mutiertes citrulliniertes Vimentin

Abbildung 1:

## Algorithmus für die strategische Anordnung autoimmunologischer Untersuchungen

Verdachtsdiagnose	Klinische Leitsymptome	Antikörper gegen														
		ANA	dsDNA	Sm	U1RNP	SSA/SSB	Scl-70	CENP-B	Jo-1	PR3 (cANCA)	MPO (pANCA)	Cardiolipin	β2-GPI	IgM RF	ACPA (z.B. CCP)	
Autoimmunerkrankung allgemein	Gelenk- und Muskelschmerzen, allgemeines Krankheitsgefühl	■														
Chronische Polyarthritis (Rheumatoide Arthritis)	Lange Morgensteifigkeit, Schmerzen und Schwellung an Grund- (MCP, MTP) und Interphalangeal- (PIP) Gelenken, Druckschmerz bei leichtem Händedruck													■	■	
Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	Deutliche Sonnenempfindlichkeit der Haut, allgemeines Krankheitsgefühl, Gelenk- und Muskelschmerzen	■	▲	▲	▲	▲					▲	●				
Primäres Sjögren Syndrom	Trockene Augen („wie Sand im Auge“), trockener Mund („kann trockenes Brot nur mit Wasser schlucken“), Gelenkschmerzen	■				▲										
Sklerodermie	Gelenk- und Muskelschmerzen, auffallend straffe und glatte Haut („Madonnenfinger“; „Tabakspeitelrump“), Schluckbeschwerden	■					▲	▲								
Mischkollagenose	Gelenk- und Muskelschmerzen, allgemeines Krankheitsgefühl	■	●	●	▲											
Polyomyositis / Dermatomyositis	Muskelschwäche („kann die Arme nicht heben“), Muskelschmerzen („wie Muskelkater“), livide Hautveränderungen an lichtexponierten Stellen (z.B. Augenlider)	■								▲						
Antiphospholipid-syndrom	Spontane venöse oder arterielle Thrombosen, bei Frauen anamnestisch Abortus												■	■	*	*
Vaskulitis	Petechiale Hautblutungen, Nasenbluten, Bluthusten ohne Atemnot												■	■		

- Primärer Screening Test    ▲ Weiterführender Test    ● Zusatzbestimmung (optional)  
 ● zur Differentialdiagnose    ▲ Diagnosekriterium

ANA antinukleäre Antikörper; dsDNA Doppelstrang-DNA; Sm Smith Antigen; U1RNP U1-Ribonukleoprotein; SSA/SSB oder Ro/La; CENP-B-Centromer Protein-B; ANCA antineutrophile zytoplasmatische Antikörper; PR3 Proteinase 3; MPO Myeloperoxidase; β2-GPI β2-Glykoprotein 1; RF Rheumafaktor; ACPA Antikörper gegen citrullinierte Peptide/Proteine; CCP cyclische citrullinierte Peptide

\* ergänzend muss als diagnostisches Kriterium auch ein Test auf Lupus antikoagulans durchgeführt werden.

Labortabelle übernommen aus Wilk et al 2006&2007 und modifiziert durch EASJ Österreich.

## Rheumatoide Arthritis

Die häufigste entzündlich-rheumatische Erkrankung ist die rheumatoide Arthritis (RA), eine progredient verlaufende entzündliche Gelenkerkrankung, die zu einer Destruktion der befallenen Gelenke führt. Die bei schweren Verlaufsformen mögliche Organbeteiligung (Herz, Blutgefäße, Lunge, Augen, Haut, Muskeln, periphere Nerven) weist auf den systemischen Charakter der Erkrankung hin. Die Erkrankung kann Erwachsene in jedem Alter befallen, wobei Frauen etwa dreimal so häufig betroffen sind wie Männer.

Das diagnostische Ziel liegt im möglichst frühen Erkennen einer Arthritis, um so früh wie möglich effektiv behandeln (schneller Beginn einer Basistherapie!) und irreversible Gelenkschäden frühzeitig verhindern zu können. Hier liegt die Schlüsselposition des Arztes für Allgemeinmedizin als meist erster Ansprechpartner der Patienten.

### Klinik

Das Auftreten eines der in Tabelle 2 aufgelisteten Symptome reicht zur Verdachtsdiagnose; dazu können noch systemische Krankheitszeichen wie Müdigkeit, Gewichtsverlust, Appetitlosigkeit und subfebrile Temperaturen kommen.

**Tabelle 2: Zeichen der frühen Arthritis**

- |   |
|---|
| ■ Jede Gelenkschwellung ohne vorhergehendes Trauma oder nicht als Folge großer Anstrengung ist verdächtig.  |
| ■ Mindestens zwei geschwollene Gelenke  |
| ■ und/oder Morgensteifigkeit länger als 30 Minuten  |
| ■ und/oder Fingergelenke (Metacarpophalangealgelenke, MCP; proximaler Interphalangealgelenkeh, PIP), Zehengrundgelenke (Metatarsophalangeal-Bereich, MTP) |
| ■ Druckschmerzen beim Händedruck (positives „Gaenslen-Zeichen“)   |
| ■ Akutphasen-Parameter (BSG, CRP) und Autoantikörper (Rheumafaktor, ACPA)   |

*Emery et al., 2002, modifiziert nach Combe et al., 2007*

## **Labordiagnostik**

Die Basislabordiagnostik umfasst:

**BSG** (Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit)

**CRP** (C-reaktives Protein) zum Entzündungsmonitoring – es kann zu Diskrepanzen zwischen Akutphasenreaktion und Klinik in beiden Richtungen kommen – das klinische Bild gibt dann den Ausschlag für die Beurteilung.

**RF** (Rheumafaktor) CAVE: RF ist bei 5–15% der Gesunden über 60 Jahre und bei einer Reihe von anderen Erkrankungen positiv, in Frühfällen der RA sind nur ca. 50% seropositiv. Im weiteren RA-Verlauf sind 70-80% positiv.

**ACPA** (Antikörper gegen citrullinierte Peptide/Proteine wie anti-CCP, Antikörper gegen zyklische citrullinierte Peptide, oder anti-MCV, Antikörper gegen mutiertes citrulliniertes Vimentin) erhöhen die Wahrscheinlichkeit für die richtige Diagnose. ACPA besitzen deutlich höhere Spezifität für eine RA als der Rheumafaktor bei ungefähr gleicher Sensitivität bei etablierter RA (Avouac et al., 2006) und können ähnlich wie der Rheumafaktor vor Ausbruch der Erkrankung im Blut nachweisbar sein (Nielen et al., 2004). Die Prävalenz von anti-CCP-Antikörper in der Normalbevölkerung beträgt 0,4%.

## **Differentialdiagnostische Überlegungen**

Zahlreiche entzündlich-rheumatische Erkrankungen können wie eine RA beginnen; insbesondere Kollagenosen können sich jahrelang als RA „tarnen“.

## **Systemische Autoimmunopathien (Kollagenosen)**

Systemische Autoimmunopathien (Kollagenosen; Gemeinsamkeit ist die Entzündung in verschiedenen Bindegeweben) sind eine Gruppe von Bindegeweserkrankungen ungeklärter Ätiologie mit verschiedensten Immunphänomenen und rheumatologischen Symptomen. Ihre Bedeutung haben sie weniger wegen der Gelenkbeteiligung, sondern wegen der häufig schweren Manifestationen an inneren Organen. Zur Gruppe der Kollagenosen zählen der systemische Lupus erythematoses (SLE), das Sjögren-Syndrom, die Sklerodermie, das CREST-Syndrom, die Poly-/Dermatomyositis und die sogenannte Mischkollagenose (MCTD; mixed connective tissue disease).

Zu den **Allgemeinsymptomen bei Kollagenosen** gehören:

- Fieber (selten über 38,5°C, oft kontinuierlich)
- Verschlechterung des Allgemeinzustandes
- Gewichtsverlust, Arthralgien
- Sicca-Symptomatik: Augen- und Mundtrockenheit, vaginale Trockenheit
- Raynaud-Phänomen: akute Durchblutungsstörung der Finger in der Kälte mit Weißwerden, anschließend Blauverfärbung, danach Rötung (Tricolorezeichen)

Die meisten Patienten mit Kollagenosen haben nachweisbare antinukleäre Antikörper sodass ANA als Suchtest verwendet werden. Die Spezifität des ANA-Tests ist allerdings gering, da diese auch mit zunehmenden Alter und bei Gesunden auftreten können (Solomon et al., 2002).

## **Systemischer Lupus erythematoses (SLE)**

Der systemische Lupus erythematoses ist eine schubweise verlaufende chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung mit Befall zahlreicher Organsysteme. Das Verhältnis von Frauen zu Männern, die an dieser Erkrankung leiden, ist 9:1. Das Prädispositionsalter liegt zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr.

Das klinische Bild wird wesentlich von der Art der Organbeteiligung bestimmt (Tabelle 3).

**Tabelle 3: Häufigkeit klinischer Manifestationen des SLE**

Allgemeinsymptome	80 %
Vaskulitis/Hautbeteiligung	90 %
Arthralgien, Arthritis	70 %
Schmetterlingserythem	50 %
Pleuroperikarditis	50 %
Nierenbeteiligung	50 %
ZNS-Beteiligung	30 %
Diskoide Hautbeteiligung	20 %

*Pezzutto et al., 2007*

Der SLE beginnt in der überwiegenden Mehrzahl der Patienten mit Gelenksbeschwerden oder einem Exanthem. Bedrohlich sind vorwiegend die Nierenbeteiligung (Lupusnephritis), die ZNS-Beteiligung oder eine Pleuroperikarditis (siehe Tabelle 4).

In der immunologischen Diagnostik spielt die Differenzierung der ANA wegen der Assoziation zu Organmanifestationen eine gewisse Bedeutung. Insbesondere Antikörper gegen doppelsträngige DNA sind pathognomonisch, Antikörper gegen Sm hoch spezifisch.

**Tabelle 4: Diagnosekriterien des American College of Rheumatology (ACR) für SLE**

Schmetterlingsexanthem	flaches oder erhabenes Exanthem beider Wangen, Nasolabialfalten ausgespart
Discoide Hautläsionen	Erythematöse erhabene Flecken mit keratotischer Schuppung und atrophen Narben
Photosensitivität	Hautrötung infolge einer ungewöhnlichen Reaktion auf Sonnenlicht (anamnestisch oder beobachtet)
Ulzerationen	orale oder nasalpharyngeale Ulzerationen (ärztlich beobachtet)
Arthritis	Nicht-erosive Arthritis von zwei und mehr Gelenken (Druckschmerz, Schwellung oder Erguss)
Serositis	Pleuritis Perikarditis
Nierenerkrankung	persistierende Proteinurie >0,5g/Tag oder deutlich positiv bei Verwendung eines semiquantitativen Tests Zylinderurie (Erythrozyten, Hämoglobin)
Neurologische Erkrankung	Krampfanfälle nicht medikamentöse oder metabolisch bedingte Psychose
Hämatologische Erkrankung	hämolytische Anämie (mit Retikulozytose) Leukopenie (< 4.000/ $\mu$ ml) Lymphozytopenie (<1500/ $\mu$ ml) Thrombozytopenie (< 100.000/ $\mu$ ml)
Immunologische Befunde	anti-dsDNA-Antikörper anti-Sm-Antikörper anti-Phospholipid-Antikörper
ANA	erhöhte Titer nicht-medikamentöser Genese

*nach Manger, 2005*

## **Systemische Sklerodermie (SSc)**

Die systemische Sklerodermie ist eine Autoimmunerkrankung mit immunmediierter Schädigung von Endothelzellen und konsekutiver Fibrose des Bindegewebes mit bevorzugter Lokalisation in Haut, Gefäßen, Lunge, Pleura, Myo- und Pericard, Ösophagus und Dünndarm.

Die SSc kommt ungefähr viermal häufiger bei Frauen (besonders in der Gruppe der 45- bis 55-Jährigen) als bei Männern vor. Die jährliche Inzidenz beträgt fünf bis zehn neue Fälle pro Million Einwohner (Ferencik et al., 2006).

Die Ursache dieser Multiorganerkrankung ist unbekannt. Die pathologischen Veränderungen betreffen vor allem drei funktionelle Einheiten des Körpers: die Fibroblasten mit Überproduktion des Kollagens und weiterer Proteine der intrazellulären Matrix; die Aktivierung des Gefäßendothels mit einer erhöhten Bildung von Adhäsionsmolekülen und proinflammatorischen Zytokinen sowie eine durch Autoimmunprozesse getriebene Aktivierung des Immunsystems (Ferencik et al., 2006). Die Folgen sind einerseits eine Verdickung und Verhärtung der Haut und eine Dysfunktion der betroffenen inneren Organe und andererseits Infarkte, die durch Gefäßobliterationen bedingt sind (Pezzutto et al., 2007).

### ***Klinik***

Die SSc beginnt häufig als Raynaud-Syndrom, eine Durchblutungsstörung der Akren mit nachfolgender Akrosklerose und weiterer Ausdehnung, die üblicherweise vor allen anderen klinischen Zeichen auftritt. Die Minderdurchblutung kann sog. Rattenbissnekrosen der Fingerkuppen zur Folge haben. Mitunter ist bei Patienten nur die Haut an Händen und Gesicht betroffen, manchmal auch an den Füßen vom Knöchel bis zu den Zehen (limitierte systemische Sklerodermie). Bei einem kleineren Teil der Patienten breitet sich die Erkrankung weiter aus, wobei auch die Haut der Extremitäten und am Hals härter wird (diffuse systemische Sklerodermie). Die Hauterde sind häufig mit Teleangiektasien kombiniert. In 40% treten eine Myokardfibrose und eine bilaterale Lungenfibrose auf (Pezzutto et al., 2007).

Die flächenhafte Verhärtung der Gesichtshaut (Amimie, Mikrostomie, Verkürzung des Zungenbändchens) ist äußerst unangenehm und führt bei Betroffenen zu einer derartigen Einengung der Mundbeweglichkeit, dass nicht einmal lächeln möglich ist. Probleme können auch beim Essen auftreten, und letztendlich kann der Patient ersticken, da die Brustkorbbewegungen zunehmend eingeschränkt sind (Ferencik et al., 2006). Eine Verkalkung im Bereich von Sklerodermieherden ist

ebenso möglich wie eine Nierenbeteiligung und Beteiligung der Lunge (Alveolitis, pulmonal arterielle Hypertonie).

Eine langsam progrediente Sonderform ist das CREST-Syndrom. Das Akronym bezeichnet die Anfangsbuchstaben der charakteristischen Symptome: Calcinosis, Raynaud-Syndrom, Ö(E)sophagusmotilitätsstörungen, Sklerodaktylie und Teleangiectasie. Serologisch charakteristisch sind beim CREST-Syndrom die bereits im Frühstadium der Erkrankung zirkulierenden Autoantikörper gegen das Centromer Protein B. Rund zwei Drittel aller Patienten weisen Anti-Centromer B Autoantikörper auf (Miyawaki et al., 2005). Von prognostischer Signifikanz ist der Nachweis dieser Antikörper bei der Diagnostik eines Raynaud Phänomens, das häufig das erste Symptom einer Sklerodermie darstellt und weiteren Manifestationen oft Jahre voraus geht .

### **Labordiagnostik**

Bei ungefähr 75% der Kranken sind ANA (Titer >1:160) vorhanden. Ein kleinerer Prozentsatz der Betroffenen hat Antikörper gegen DNA-Topoisomerase I (anti-Scl70), ein Enzym, das an der Replikation der DNA beteiligt ist, oder Antikörper gegen RNA-Polymerase, ein Enzym, das an der RNA-Synthese teilnimmt. Die Antikörper anti-Scl 70 und anti-RNA-Polymerase I kommen hochtitrig nur bei der systemischen Sklerose vor, nicht aber bei anderen Autoimmunerkrankungen. Unklar ist der Mechanismus, mit dem sie den zur SSc führenden Prozess in Gang setzen.

### **Mischkollagenose**

Die Mischkollagenose (mixed connective tissue disease; MCTD oder Sharp-Syndrom) ist durch eine Überlappung von Symptomen unterschiedlicher Kollagenenerkrankungen ausgezeichnet. Die Beschwerden beginnen fast immer mit dem Raynaud-Syndrom, in absteigender Häufigkeit treten Sklerodaktylie und Handanschwellungen, Polyarthralgien, eine Lungenbeteiligung, Ösophagusmotilitätsstörungen, Myositis und Hautsymptome auf.

## **Labordiagnostik**

Typisch für eine Mischkollagenose sind hochtitrige ANA insbesondere hohe Titer des Autoantikörpers gegen die Spliceosomen (U1-nRNP; Ribonukleoprotein). Selten werden auch andere Autoantikörper gefunden (siehe Abbildung 1), dsDNA und Sm Antikörper sind bei der MCDT aber nicht vorhanden.

## **Sjögren-Syndrom (SS)**

Nach der cP ist das Sjögren-Syndrom die zweithäufigste Erkrankung des rheumatischen Formenkreises. Man unterscheidet eine primäre und eine sekundäre Form. Das primäre Sjögren-Syndrom ist eine eigenständige Autoimmunerkrankung der exokrinen Drüsen mit extraglandulärer systemischer Beteiligung. Das sekundäre Sjögren-Syndrom ist hingegen mit anderen Autoimmunerkrankungen assoziiert. Frauen sind neunmal häufiger betroffen als Männer. Die Patienten erkranken meist nach dem 40. Lebensjahr.

## **Klinik**

Leitsymptome sind trockene Augen (Xerophthalmie, Keratokonjunktivitis sicca) und trockener Mund (Xerostomie). Die Ursache dieser Sicca-Symptomatik ist eine Entzündung der Tränen- und Speicheldrüsen mit nachfolgender Lymphozyten-Infiltration und Zerstörung des Drüsengewebes. Eine extraglanduläre Manifestation zeigt sich häufig in Polyarthralgien (nichterosive Arthritis), Myalgien, Fibromyalgie-Symptomen, einem Raynaud-Syndrom und einer Lymphadenopathie. Eine Beteiligung der Lungen, Niere und Leber ist seltener zu beobachten. Für die Prognose entscheidend ist eine mögliche zerebrale Beteiligung im Sinne einer Vaskulitis und eine deutlich erhöhte Prävalenz von Non-Hodgkin-B-Zell-Lymphomen (Risiko 44fach erhöht; Pezzutto et al., 2007).

## **Diagnostik**

Neben erhöhten Entzündungsparametern (BSG und CRP) finden sich auch ANA sowie Rheumafaktoren und Antikörper gegen kleine Ribonukleoproteinantigene Ro/SS-A und La/SS-B. Anti-Ro (50–70%) und Anti-La-Antikörper (50–70% bei primärem Sjögren-Syndrom) gehören zu den diagnostischen Kriterien des primären Sjögren-Syndroms, deren Koinzidenz charakteristisch ist (Vitali et al., 1993 & 1996).

Neben den pathologisch veränderten Blutwerten sind weitere Untersuchungen bedeutend:

- Schirmer-Test zur Bestimmung der Tränensekretion
- Saxon-Test zur Bestimmung der Speichelproduktion bzw. Messung der stimulierten Speichelsekretion durch Zitronensaft
- Speichendrüsibiopsie an der Unterlippe zur histologischen Diagnosesicherung (periduktale lymphozytäre Infiltration)

### *Differentialdiagnosen*

- andere Speichendrüsenerkrankungen und Tumore
- andere lymphoproliferative Erkrankungen
- Virusinfektionen
- Sicca-Syndrom aus anderer Ursache, z.B. medikamenteninduziert (Antidepressiva)

## **Dermatomyositis, Polymyositis**

Bei Myositiden handelt es sich um eine generalisierte entzündliche Erkrankung der quer gestreiften Muskulatur, die nur sehr selten auftritt (2–10 Neuerkrankungen/1 Mio. Einwohner/Jahr; Manger, 2005).

### *Klinik*

Die Polymyositis ist durch eine erhebliche symmetrische schmerzhafte proximale Muskelschwäche gekennzeichnet, vor allem im Bereich der Schultern, Oberarme und Oberschenkel. Den Patienten fällt es beispielsweise schwer, aus einem Sessel aufzustehen, Stiegen zu steigen oder Gegenstände aufzuheben. Bei der Dermatomyositis ist auch die Haut beteiligt (heliotropes Exanthem an lichtexponierten Stellen) und es zeigt sich bei Erwachsenen jenseits des 50. Lebensjahres häufig eine Syntropie mit malignen Tumoren.

### *Labordiagnostik*

Der Entzündungsparameter BSG ist erhöht und Akutphasen-Proteine sind je nach Aktivität vermehrt. Hochcharakteristisch ist eine Erhöhung der Kreatinkinase und anderer Muskelenzyme (LDH, GOT, Aldolasen). Die Kreatinkinase ist ein Aktivitätskriterium und Therapieparameter, allerdings kann eine Polymyositis

auch in schweren Fällen ohne Kreatinkinase verlaufen. ANA werden in etwa 20% und Rheumafaktoren in 30% der Betroffenen gefunden. Myositisspezifische Antikörper wie anti-Jo-1-Antikörper zeigen sich in 20–40% der Patienten.

## **Primäres Anti-Phospholipid-Syndrom (APS)**

An einem primären Anti-Phospholipid-Syndrom erkranken überwiegend Frauen, doch ist die Prävalenz dieser Erkrankung unbekannt. Eine familiäre Häufung wurde in Einzelfällen beschrieben, z.B. bei Verwandten von SLE-Patienten, ohne dass diese an einem SLE leiden. Die Erkrankung tritt bei ca. 30–50% der Patienten mit Antikardiolipin-Antikörpern und 30% der Menschen mit nachweisbarem Lupusantikoagulans auf (Manger, 2005).

Das APS ist gekennzeichnet durch die Kombination rezidivierender venöser und arterieller Thrombosen mit entsprechender klinischer Symptomatik wie z. B. tiefe Beinvenenthrombosen, zerebrale Infarkte (Brey et al., 2003), Neigung zu Fehl- und Frühgeburten sowie einer Thrombozytopenie mit Nachweis von Anti-Phospholipid-Antikörpern u.a. (Schuchmann & Dörner, 2007). Die Symptomatik reicht von Minimalbefunden bis hin zu lebensbedrohlichen Komplikationen („katastrophales APS“).

Das primäre APS tritt im Gegensatz zum sekundären (bei SLE) ohne Symptome einer anderen Autoimmunerkrankung auf.

### **Diagnostik**

Ein APS liegt vor, wenn mindestens ein klinisches und ein Labor-Kriterium erfüllt sind (nach Myakis et al, 2006):

### **Klinische Kriterien**

#### **1. Vaskuläre Thrombose**

Eine oder mehrere Episoden einer arteriellen, venösen Thrombose, oder einer Thrombose in kleinen Gefäßen in einem beliebigen Gewebe oder Organ welche durch bildgebende Verfahren oder histologisch objektiviert wurden.

#### **2. Schwangerschaftsmorbidität:**

- intrauteriner Fruchttod ( $\geq 1x$ ,  $> 10$ . SSW, morphologisch normaler Fetus)
- Frühgeburt ( $\geq 1x$ ,  $< 34$ . SSW, infolge schwerer Präeklampsie oder Eklampsie oder Plazenta-Insuffizienz, morphologisch normales Neugeborenes)

- Spontanabort ( $\geq 3x$ ,  $< 10.$  SSW, ohne anatomische oder hormonale Anomalien der Mutter und ohne chromosomale Ursachen väterlicher- oder mütterlicherseits)

### **Labor-Kriterien**

- Nachweis von **Lupus Antikoagulans (LA)** an zwei oder mehreren Zeitpunkten mit mindestens 12 Wochen Abstand.
- anti-Phospholipid-Antikörper:  
Nachweis von **anti-Cardiolipin-Antikörpern** des Isotyps IgG oder IgM mit hohem oder mittlerem Titer im Serum oder Plasma d.h., über 40 GPL-U/ml oder MPL-U/ml an zwei oder mehreren Zeitpunkten in einem Abstand von mindestens 12 Wochen, gemessen mit einem standardisierten ELISA.  
Nachweis von **anti- $\beta 2$  Glykoprotein-Antikörper** des Isotyps IgG oder IgM, im Serum oder Plasma an zwei oder mehreren Zeitpunkten in einem Abstand von mindestens 12 Wochen, gemessen mit einem standardisierten ELISA.

### **ANCA-assoziierte Vaskulitiden**

ANCA-assoziierte Vaskulitiden (AAV) gehören zu den primären systemischen Vaskulitiden und zeichnen sich durch eine chronisch (progressive) entzündliche Infiltration und Nekrose kleiner arterieller und venöser Gefäße sowie Kapillaren aus. Immunhistochemisches Charakteristikum sind die fehlenden oder nur geringfügig nachweisbaren Immunkomplexablagerungen sowie eine ausgeprägte Assoziation von antineutrophilen zytoplasmatischen Autoantikörpern (ANCA).

Drei klassische Vaskulitiskrankheitsbilder sind mit ANCA assoziiert: die Wegener-Granulomatose, die mikroskopische Polyangiitis und das Churg-Strauss-Syndrom.

Die **Wegener-Granulomatose** (Morbus Wegener) ist eine sehr variable, histologisch durch Granulome und eine nekrotisierende Vaskulitis kleiner und mittelgroßer Gefäße gekennzeichnete Erkrankung, die bevorzugt im oberen und unteren Respirationstrakt und an den Nieren auftritt. Ohne Behandlung endet sie meist tödlich (Manger, 2005).

Bei der **mikroskopischen Polyangiitis** handelt es sich um eine generalisierte nekrotisierende, nicht granulomatöse Entzündung kleiner und kleinster Gefäße wie Arteriolen, Kapillaren und Venolen mit besonderer Beteiligung der Nieren. Sie ist die häufigste Ursache des pulmorenalen Syndroms. Das Haupt- und Leit-

symptom ist eine Glomerulonephritis (in 100%). Die alveoläre Kapillaritis kann zu lebensbedrohlichen Lungenblutungen oder Nierenversagen führen. Weitere wichtige Manifestationen sind Purpura, Neuropathie, Episkleritis, Lungenveränderungen und gastrointestinale Symptome dar.

Das **Churg-Strauss-Syndrom** ist eine seltene Erkrankung, bei der eine generalisierte nekrotisierende Vaskulitis kleiner Gefäße und Granulombildung mit einer Asthmasymptomatik kombiniert ist.

### **Labordiagnostik**

ANCA sind spezifisch für Antigene in den Granula der Neutrophilen und den Lysosomen der Monozyten. Der Nachweis im Labor erfolgt entweder mittels IIF oder EIA. Mit der IIF lassen sich zwei Färbemuster unterscheiden: zytoplasmatische c-ANCA und perinukleäre p-ANCA, wobei sich immunochemisch zeigt, dass die zytoplasmatischen ANCA sich zu 90% gegen die Enzyme Proteinase 3 (PR-3-ANCA) und 90% der perinukleären ANCA sich gegen Myeloperoxidase richten (MPO-ANCA).

Die Mehrzahl der Patienten mit Wegener-Granulomatose zeigt PR-3-ANCA, die meisten Patienten mit dem Churg-Strauss-Syndrom oder der mikroskopischen Polyangiitis zeigen MPO-ANCA. Allerdings können bis zu 10% der Patienten mit den genannten Krankheitsbildern negativ für ANCA sein.

Weitere Diagnose- bzw. aktivitätsassoziierte Laborparametern sind BSG, CRP, großes Blutbild (Leukozytose, Thrombozytose oder Eosinophilie), Kreatinin, Leberenzyme, Komplementfaktoren (C3, C4), zirkulierende Immunkomplexe (CIC), Kryoglobuline und die Urindiagnostik (Hämaturie, Proteinurie, dysmorphe Erythrozyten). Bei gesicherter Kryoglobulinämie sollte eine serologische Hepatitis C-Diagnostik erfolgen.

## Zusammenfassung

- Als erste Anlaufstelle der Patienten und als „Lotse“ in der Medizin haben Allgemeinmediziner eine maßgebliche Schlüsselfunktion, v.a. in Hinblick auf die frühzeitige Verdachtsdiagnose von Autoimmunerkrankungen.
- Zur Unterstützung des Rheumatologen bei der frühzeitigen und genauen Diagnosestellung sowie Planung einer rationalen Behandlung ist eine enge Zusammenarbeit zwischen allen an der diagnostischen Abklärung Beteiligten von großer Bedeutung.
- Eine frühzeitige und umfassende Labordiagnostik ermöglicht den optimalen Behandlungsbeginn, bevor schwere und oft irreversible Gewebe- und Organschäden entstehen.
- Allgemeinmediziner können durch Screeningtests wesentliche Schritte in der Frühdiagnostik einleiten.
- Nach der Diagnosestellung durch einen Facharzt obliegen ihm die Patientenbetreuung, die Koordination der Untersuchungen und Behandlungen sowie die Kontrolle von Symptomen.
- Bei stabilem Zustandsbild genügt eine halbjährliche Kontrolle.
- Bei Symptomverschlechterung ist eine sofortige Zuweisung an den behandelnden Facharzt angezeigt.

# Literatur

- Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2006;65(7):845-51
- Bizzaro N, Wiik A. Appropriateness in antinuclear antibody testing: from clinical request to strategic laboratory practice. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22:349-355
- Brezinschek H, Brickmann K. Labordiagnostik bei immunologischen Erkrankungen aus dem rheumatischen Bereich. In: *Labordiagnostik. Klinik – Praxis – Fallbeispiele*. Springer Wien, 2006, 435-455
- Brey RL, Chapman J, Levine SR, Ruiz-Irastorza G, Derksen RH, Khamashta M, Shoenfeld Y. Stroke and the antiphospholipid syndrome: consensus meeting Taormina 2002. *Lupus* 2003;12(7):508-13
- Combe B, Landewe R, Lukas C, et al. EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCSIT). *Ann Rheum Dis* 2007;66(1):34-45
- Cooper GS, Stroehla BC. The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews* 2003;2(3):119-125
- Emery P, Breedveld FC, Dougados M, et al. Early referral recommendations for newly diagnosed rheumatoid arthritis: Evidence based development of a clinical guide. *Ann Rheum Dis* 2002;61:290-297
- Ferencik M, Rovensky J, Matha V, Herold M. *Kompodium der Immunologie: Grundlagen und Klinik* Springer, Wien 2006
- Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 1997;84(3):223-43
- Manger B. *Checkliste XXL Rheumatologie. 3. vollständig überarbeitete Auflage*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2005
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306

- Miyawaki S, Asanuma H, Nishiyama S, Yoshinaga Y. Clinical and serological heterogeneity in patients with anticentromere antibodies. *J Rheumatol* 2005;32(8):1488-94
- Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50(2):380-6
- Pezzutto A, Ulrichs T, Burmester G-R. Taschenatlas der Immunologie. Grundlagen – Labor– Klinik. 2. vollständig überarbeitete und aktualisierte Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2007
- Rose NR. Mechanisms of autoimmunity. *Semin Liver Dis* 2002;22(4):387-94
- Schuchmann S, Dörner T. Antiphospholipid-Syndrom 2007. Aktuelle Aspekte in der Labordiagnostik und deren therapeutische Konsequenzen *Z Rheumatol* 2007;66:198-205
- Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Antinuclear antibody testing. *Arthritis Care & Research* 2002;47(4):434-444
- Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25(11):1271-7
- Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjögren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum* 1993;36(3):340-7
- Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Assessment of the European classification criteria for Sjögren's syndrome in a series of clinically defined cases: results of a prospective multicentre study. The European Study Group on Diagnostic Criteria for Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 1996;55(2):116-21
- Wiik AS, Gordon TP, Kavanaugh AF, et al; IUIS/WHO/AF/CDC Committee for the Standardization of Autoantibodies in Rheumatic and Related Diseases. Cutting edge diagnostics in rheumatology: the role of patients, clinicians, and laboratory scientists in optimizing the use of autoimmune serology. *Arthritis Rheum* 2004;51(2):291-8
- Wiik A, Cervera R, Haass M, et al. European attempts to set guidelines for improving diagnostics of autoimmune rheumatic disorders. *Lupus* 2006;15(7):391-6
- Wiik AS. Diagnostische Strategien bei rheumatischen Autoimmunerkrankungen. *Z Rheumatol* 2007;66:219-224



## IMPRESSUM

Eigentümer, Herausgeber und Medieninhaber: Phadia Austria GmbH, Floridsdorfer Hauptstraße 1, A-1210 Wien, Austria. Für den Inhalt verantwortlich: EASI Gruppe Österreich (Ao. Univ. Prof. DDR. Manfred Herold, Ao. Univ. Prof. Dr. Ulrike Demel, Univ. Doz. Dr. Georg Endler, ÄDir. Stv. Prim. Dr. Ernst Forster, Univ. Prof. Dr. Andrea Griesmacher, Dr. Christin Hübner, Ao. Univ. Prof. Dr. Günter Steiner, Dr. Sonja Wagner) und ÖGAM Lecture Board (Dr. Erwin Rebhandl, Dr. Susanne Rabady, Dr. Reinhold Glehr, Dr. Wolfgang Zillig, Dr. Peter Pichler, Dr. Ingrid Pichler, Univ.-Prof. Dr. Manfred Maier, Dr. Bernhard Fürthauer, Dr. Barbara Degn).

© 2009 Phadia GmbH. Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit ausdrücklicher, schriftlicher Genehmigung von Phadia Austria GmbH. Gedruckt auf Recyclingpapier.

Die in dieser Publikation verwendeten Personen- und Berufsbezeichnungen treten der besseren Lesbarkeit halber nur in einer Form auf, sind aber natürlich gleichwertig auf beide Geschlechter bezogen.