

Immunpathologie I.



250 Jahre EXZELLENZ
in medizinischer Lehre,
Forschung & Innovation
und Krankenversorgung



2021/2022 – Herbstsemester

Prof. Dr. András Kiss

Med. habil., Ph.D., D.Sc.

_____ ∞ ∞ _____

Semmelweis Universität

II. Institut für Pathologie

_____ ∞ ∞ _____

Aufgabe des Immunsystems:

https://www.portailvasculaire.fr/sites/default/files/docs/isth_covid_19_thrombosis.pdf

Erhaltung der Integrität des Organismus

garantiert seine Individualität

Infektionsabwehr

Tumorabwehr



Unspezifische Immunität –

Resistenz: Epithelschranke

bakterizide Stoffe

Komplementsystem – Opsonisierung

Virusneutralisation

Freisetzung Mediatoren

Chemotaxis

Steigerung der Gefäß permeabilität

Mastzelldegranulation

Zytolyse

Lysozym – Muramidase angreift Bakterienwände

C-reaktive Protein – akute –Phase-Protein

Interferone

Granulozyten, Makrophagen – Phagozytose

Entzündungsreaktionen

niedriger pH-Wert verschiedener Sekrete

Schweiss

Magensaft

Mucine



Spezifische Immunität: auf einen bestimmten Erreger ausgerichtet

Lymphatisches System

humorale Immunität – B-Zellen

zelluläre Immunität - T-Zellen



LOKALE ENTZÜNDUNGSZEICHEN NACH CELSUS

„ Kardinalsymptome ”

CALOR

RUBOR

TUMOR

DOLOR

FUNCTIO LAESA (VON VIRCHOW ZUGEFGÜGT)

ALLGEMEINE ODER SYSTEMISCHE ENTZÜNDUNGSZEICHEN

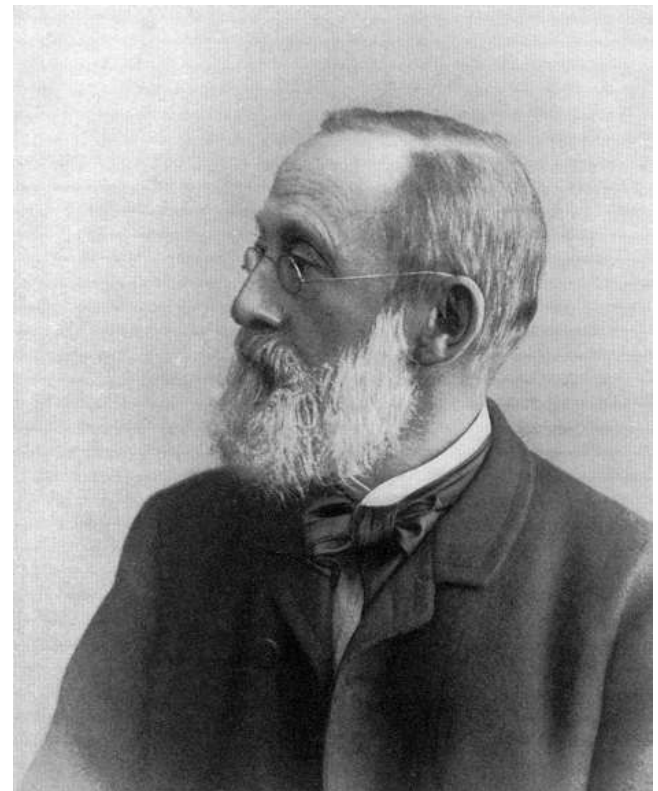
FIEBER

TACHYKARDIE

LEUKOZYTÖSE

INFEKTANAMIE





XX. Jahrhundert Technologien

⇒ Makroskopie (Zuschnitt)

⇒ Zytologie

⇒ Histologie

⇒ Zytochemie

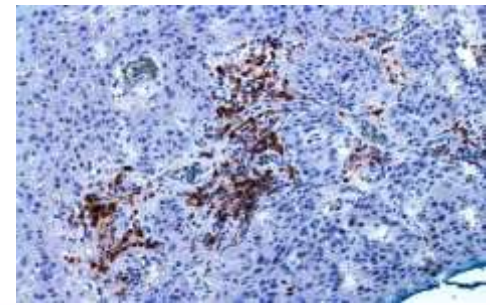
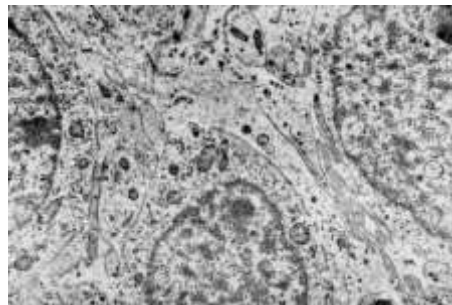
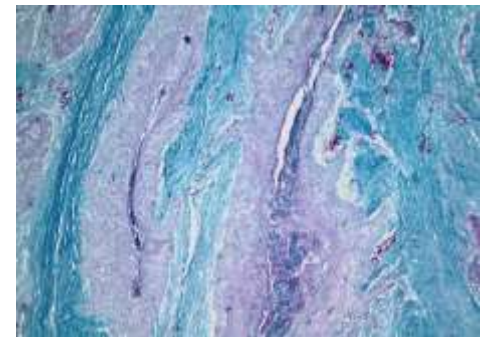
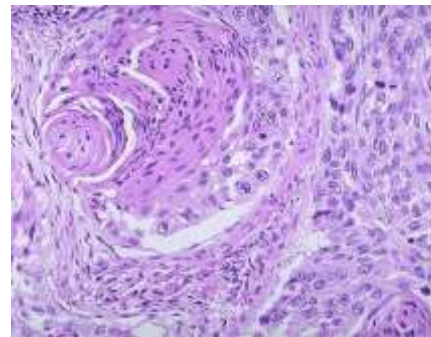
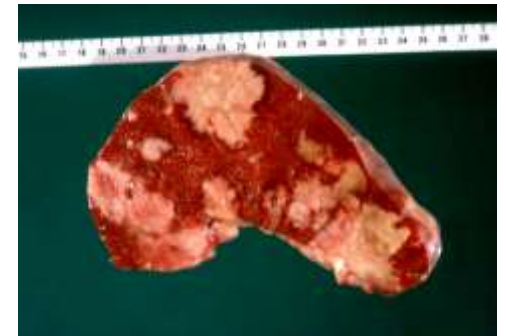
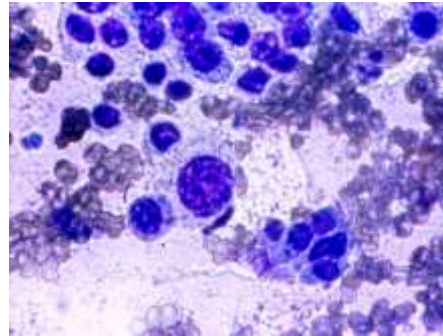
⇒ **Immunhisto/zytochemie**

⇒ Elektronmikroskopie

⇒ Molekular Biologie

⇒ Molekulargenetik

⇒ XXI. Jahrhundert



ARTERIOLENKONSTRIKTION (FAKULTATIV)

**VASODILATATION DER ARTERIOLEN, KAPILLAREN
UND VENOLEN (MIN.- STUNDEN) (OBLIGAT)**

VENOLENKONSTRIKTION (OBLIGAT)
(nach Stunden, es dauert Stunden)

Es führt zu Exsudation, Hämostase, Permeabilitätsteigerung)

NICHT ZELLULARE KOMPONENTE: SERUM ODER PLASMA

ZELLULARE KOMPONENTE:

Neutrophil Granulozyten

(sekretieren Enzyme, töten Bakterien)

Eosinophil Gr.

(MBP, ECP) gegen Parasiten und Würme

Makrophagen (organisieren den Entzündungsprozess: Zytokine, Aktivierung der Zellen, verbinden angeborene und erlernte Immunität)

Endothelzellen (Exsudation, Leukozytenwanderung)

Fibroblasten (Regeneration)

Thrombozyten: (bFGF, TGF β , PDGF)

Lymphozyten

Marginatio

Rollen

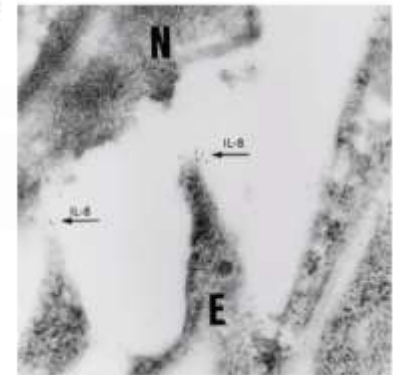
Adhäsion

Transmigration (Diapedese)

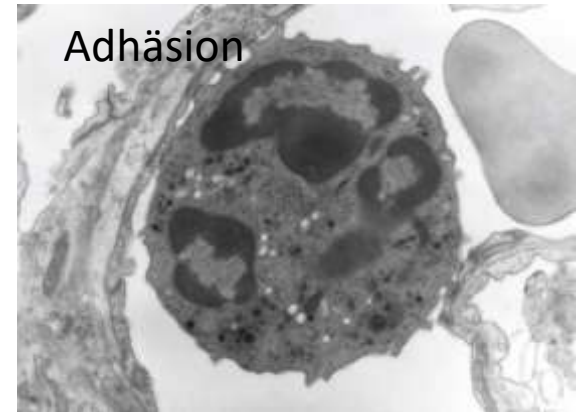
Chemotaxis

Migration der Leukozyten

MARGINATIO



Adhäsion



EINTEILUNG NACH KLINISCHEM VERLAUF

HYPERAKUT (Perakut)

AKUT

SUBAKUT

SUBCHRONISCH

PRIMER CHRONISCH (z. B. PCP)

SEKUNDÄR CHRONISCH





SEPTISCHE MILZ

EINTEILUNG NACH MORPHOLOGISCHEM BILD

AKUT: NEUTROPHILE, EOSINOPHILE GRANULOZYTEN

NACH EINIGER ZEIT: mit „Rundzellen“ ersetzt: MONOZYTEN, MAKROPHAGEN, LYMPHOZYTEN

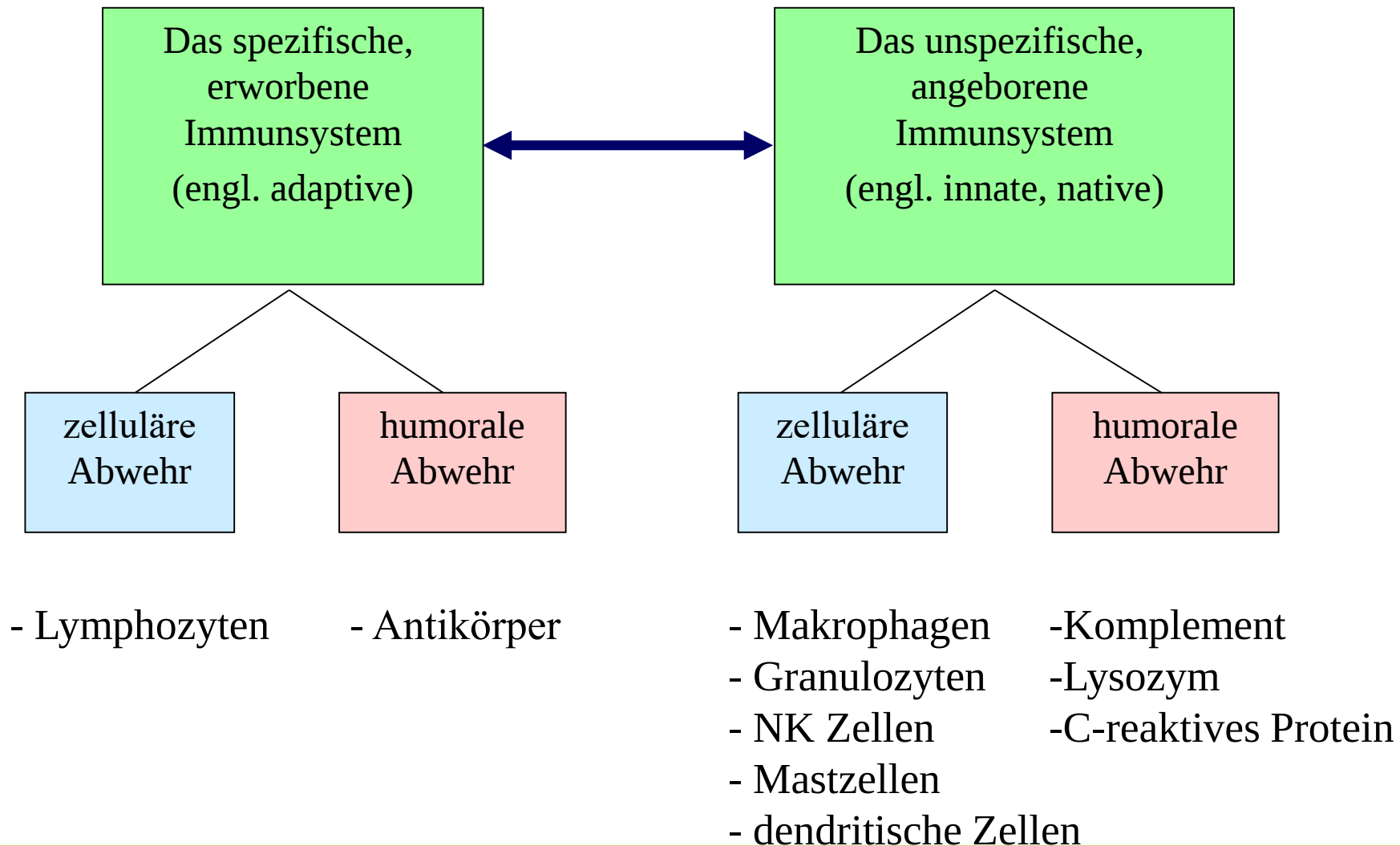
IN ALLERGISCHE ODER VIRAL AUSGELÖSTE ENTZÜNDUNGEN: LYMPHOZYTEN UND PLASMEZELLEN SCHON IN DER AKUTE PHASE

IN AUTOIMMUNERKRANKUNGEN UND IN IMMUNSUPPRIMIERTEN PATIENTEN (TRANSPLANTATION, TUMORPATIENTEN) können die Entzündungszellen der chronischen Entzündung schon in der akute Phase auftreten

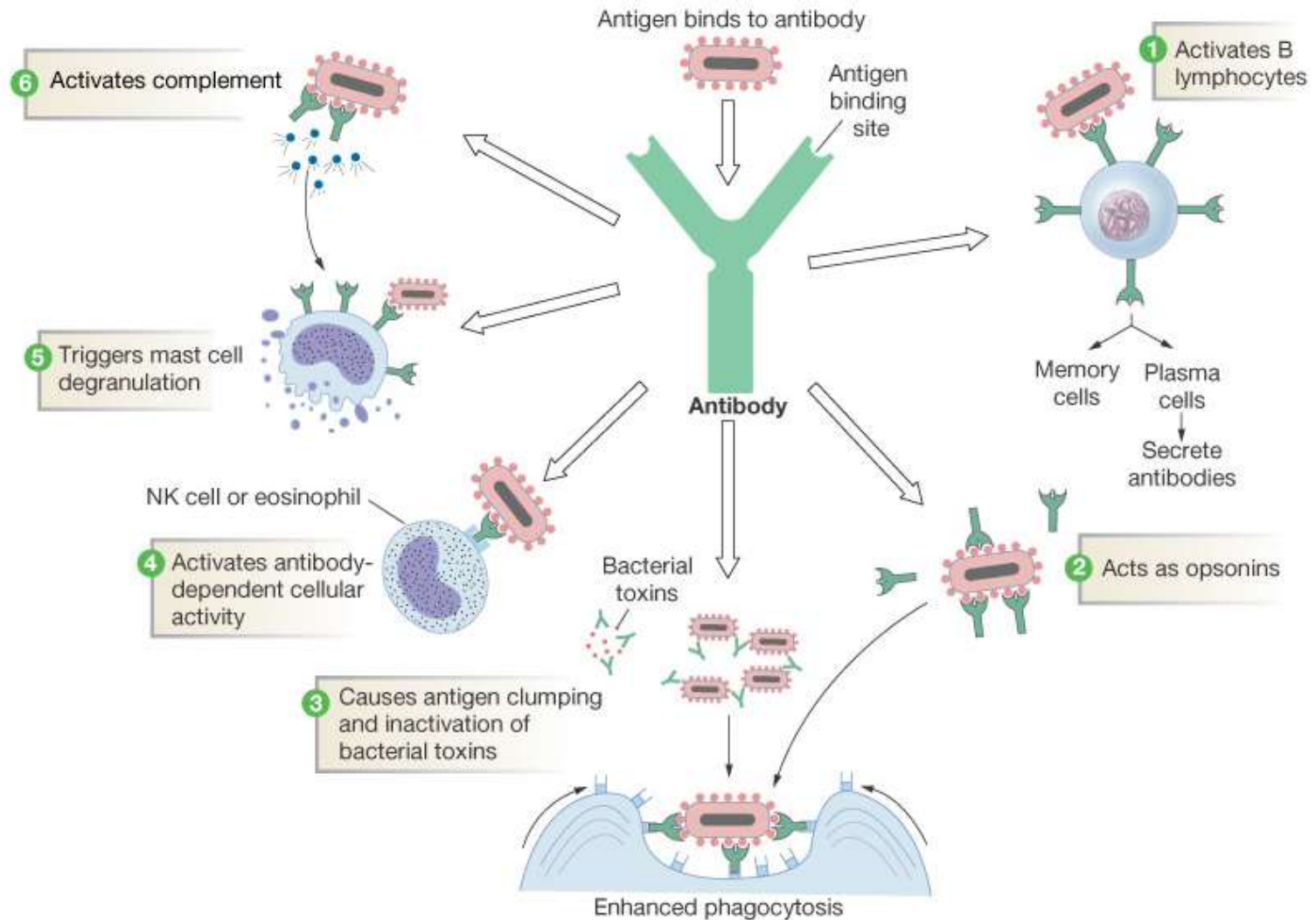
LOKAL ODER AUSBREITUNG (HYALURONIDASE, KOLLAGENASE, STREPTOKINASE, FIBRINOLYSIN)



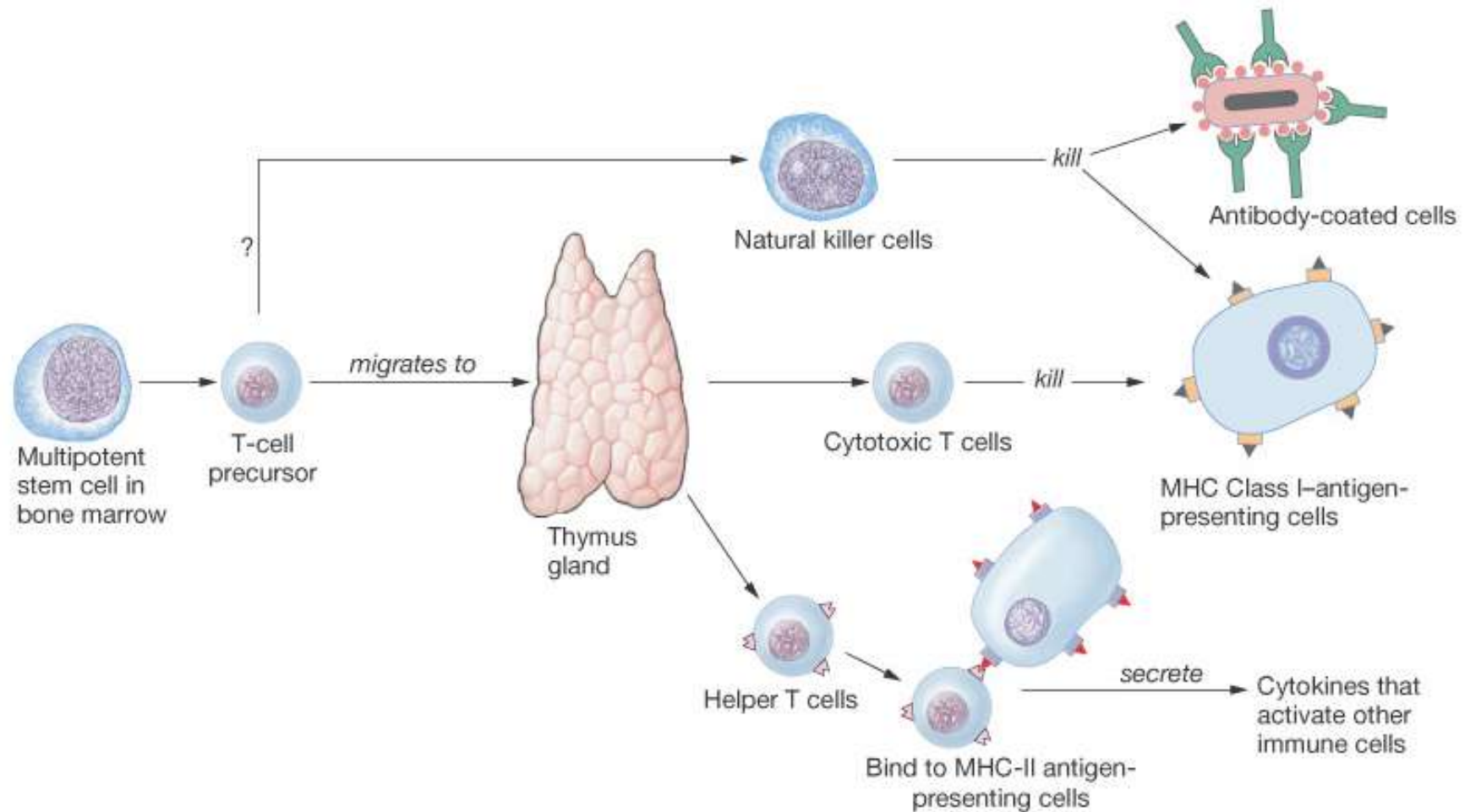
Immunsysteme zur Abwehr von Krankheitserregern



Antigen-spezifische Antworten



T Lymphozyten: Zellulare Immunität



ZELLULARE KOMPONENTE

NEUTROPHILE GRANULOZYTEN:

EOSINOPHILE GRANULOZYTEN:

BASOPHILE GRANULOZYTEN:

GEWEBSMASTZELLEN:



ZELLULARE KOMPONENTE

PLASMAZELLEN:

FIBROBLASTEN FASERSYNTHESE

ENDOTHELZELLEN:

MONOZYTEN: BLUTMAKROPHAGEN:

**NACH 2 TAGE: Einwanderung ins Gewebe: HISTIOZYTEN,
ALVEOLARMAKROPHAGEN, KUPFFER- STERNZELLEN,
OSTEOKLASTEN, DECKZELLEN, MIKROGLIAZELLEN,
LIPOPHAGEN, XANTHOMZELLEN
(Fettgewebsnekrosen, Xanthomen)**

FETTKÖRNCHEENZELLEN: (bei Hirnerweichung)



ZELLULARE KOMPONENTE

Von Makrophagen: EPITHELOIDZELLEN, Synthese der Proteasen, Elastasen und Kollagenasen

Kerne: Fusssohlenkerne

Fusion der Makrophagen eventuell Epitheloidzellen:

RIESENZELLEN : meistens in Granulomen
(knötchenförmige Neubildung aus Granulationsgewebe)

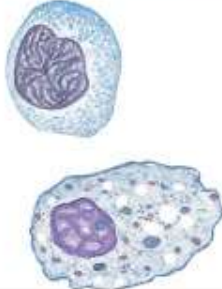
Langhans RZ: Tuberkulose, Sarkoidose (Morbus Boeck), Lepra, Syphilis, Toxoplasmose, Morbus Crohn

Fremdkörper RZ

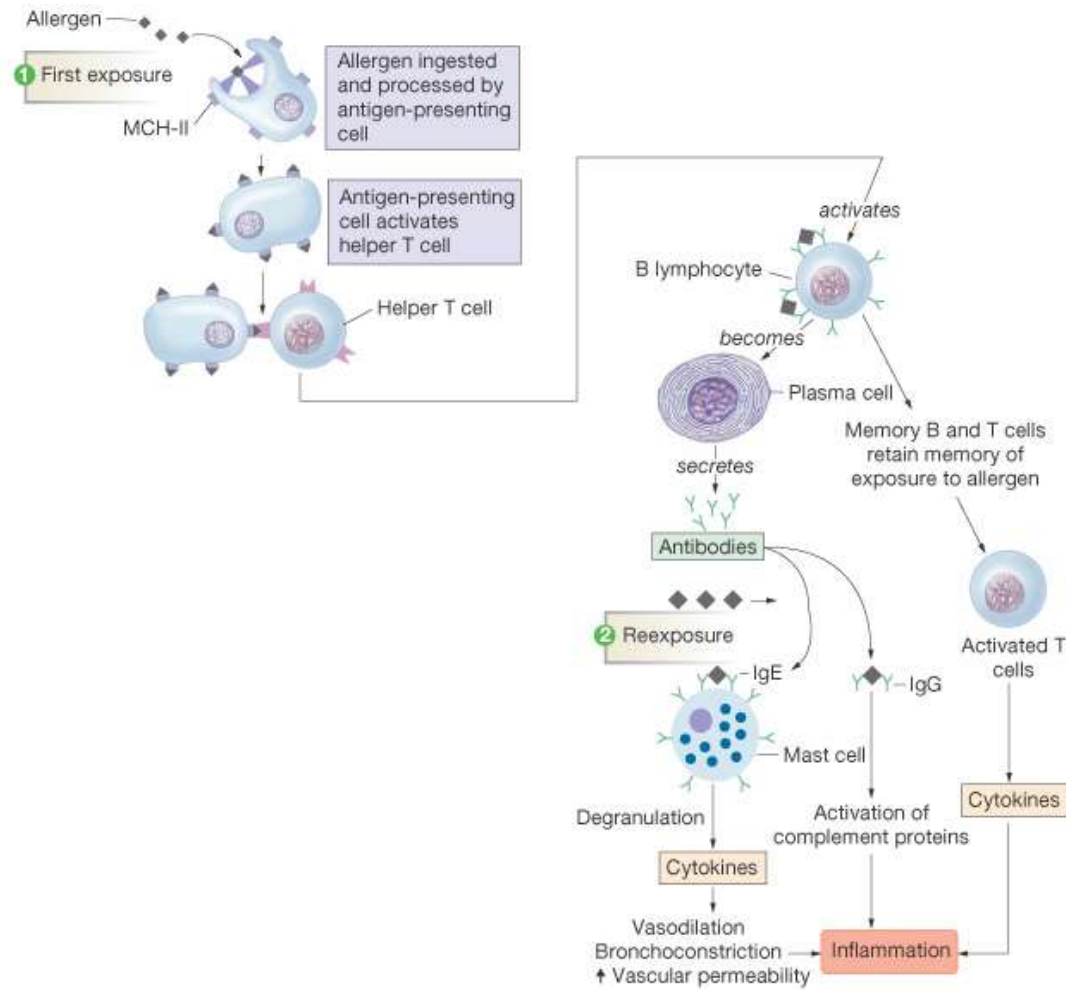
Touton RZ: Fettnekrose



Zellen der Entzündungen

	<i>Basophils and Mast Cells</i>	<i>Neutrophils</i>	<i>Eosinophils</i>	<i>Monocytes and Macrophages</i>	<i>Lymphocytes and Plasma Cells</i>	<i>Dendritic Cells</i>
						
% of WBCs in blood	Rare	50–70%	1–3%	1–6%	20–35%	NA
Subtypes and nicknames		Called “polys” or “segs” Immature forms called “bands” or “stabs”		Called the mononuclear phagocyte system	B lymphocytes, Plasma cells T lymphocytes Cytotoxic T cells Helper T cells Natural killer cells Memory cells	Also called Langerhans cells, veiled cells
Primary function(s)	Release chemicals that mediate inflammation and allergic responses	Ingest and destroy invaders	Destroy invaders, particularly antibody-coated parasites	Ingest and destroy invaders Antigen presentation	Specific responses to invaders, including antibody production	Recognize pathogens and activate other immune cells by antigen presentation in lymph nodes
Classifications		<i>Phagocytes</i>				
		<i>Granulocytes</i>				
			<i>Cytotoxic cells</i>		<i>Cytotoxic cells (some types)</i>	
				<i>Antigen-presenting cells</i>		

Allergische Entzündung auf non-pathogene Noxen



HISTAMIN BEI ALLERGISCHEN ENTZÜNDUNGEN

SEROTONIN:

PROSTAGLANDINE:

LYMPHOKINE:

LEUKOTRIENE:

PLÄTTCHEN-AKTIVATIONSFAKTOR (PAF):

INTERFERON: α : AUS LEUKOZYTEN,
 β : AUS FIBROBLASTEN
 γ : AUS AKTIVIERTEN T-LYMPHOZYTEN

ZYTOGENE MEDIATOREN

INTERLEUKINE: 1 : AUS MAKROPHAGEN: stimuliert Ly
2 : aus T Helfer Z.: aktiviert T Ly.
3 : aus T Ly.: fordert Hamatopoesese
4: aus T Helfer Z. : stimuliert B Ly.

TUMOR-NEKROSE FAKTOR: (TNF)

THROMBOXANE: Thr. Aggregation und Vasokonstriktion

PLASMAVERMITTELTE MEDIATOREN:

Kinine: Bradykinin, Leukokinin

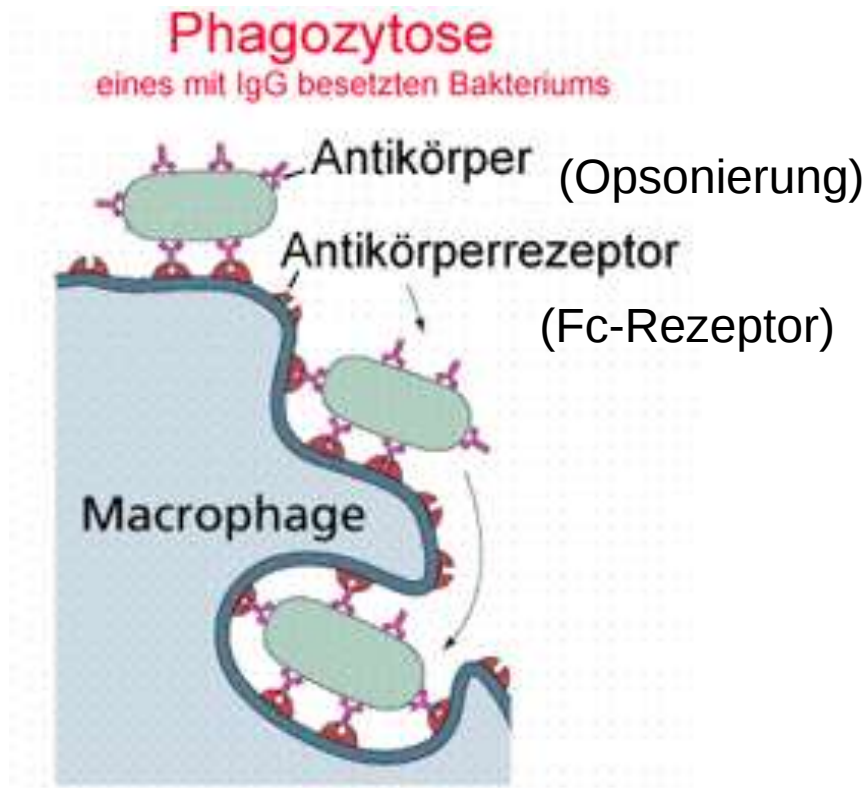
Komplementsystem unterstützt Immunabwehr

C-reaktives Protein (CRP) - gebildet in Hepatozyten, es aktiviert
Komplementsystem



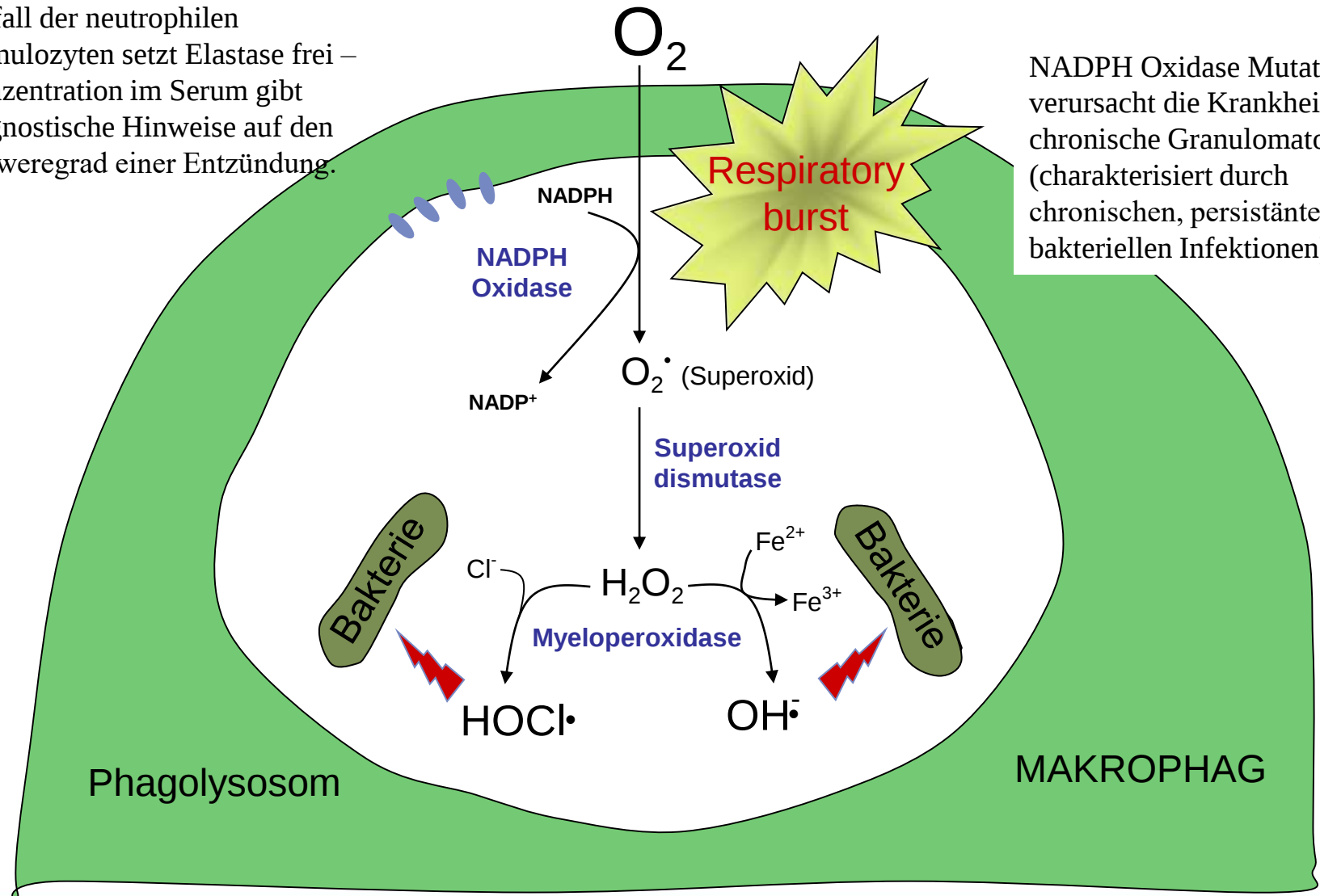
Zellen des unspezifischen Immunsystems:

Makrophagen, dendritische Zellen, Granulozyten,
Mastzellen, NK Zellen



Phagozytose durch Makrophagen und neutrophile Leukozyten

Zerfall der neutrophilen Granulozyten setzt Elastase frei – Konzentration im Serum gibt diagnostische Hinweise auf den Schweregrad einer Entzündung.



NADPH Oxidase Mutation – verursacht die Krankheit chronische Granulomatose (charakterisiert durch chronischen, persistierenden bakteriellen Infektionen).

NK-Zellen

(engl. natural killer cells)

- ursprünglich als Anti-Tumorzellen beschrieben,
- spielen eine wichtige Rolle auch bei Implantatsabstoßung, bei Eliminierung virusinfizierter Zellen wie auch bei einigen bakteriellen und Pilzinfektionen,
- Zielzellen: die MHC Klasse I-negativen Zellen („immune evasion“)
- keine Aktivierung durch APC ist notwendig (aktiviert durch Zytokine IL-12, IFN γ)
- wirken antigen- und ~antikörper-unabhängig
 - Können auch antikörperabhängig wirken → „Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity“ - ADCC
- reifen thymus-unabhängig
- haben kein Gedächtnis



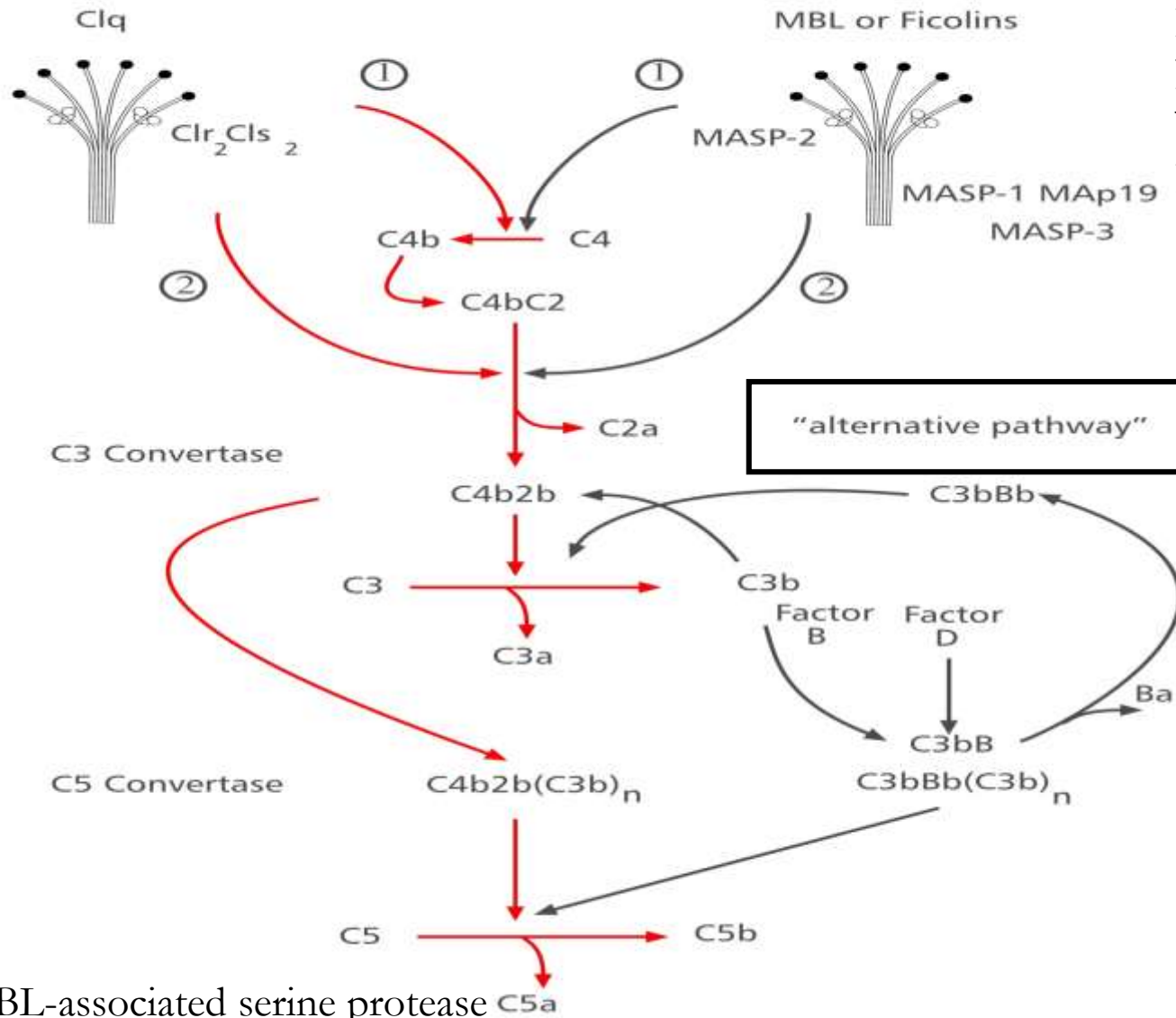
Komplementsystem – die Entdeckung

- Das Komplementsystem war ursprünglich durch seine bakterizide Funktion entdeckt worden, und zwar als ein Serumbestandteil, der die Wirkung der Antikörper “komplementierte”. Um bakterizid zu wirken, bedarf es einer Aktivierung, z. B. durch antigegebundene Antikörper (*klassische Aktivierung*) oder durch Oberflächenstrukturen (*alternativer und Lektin Weg*).
- 1890, Jules Bordet (Paris):
 - ↳ *Vibrio cholerae* + Antiserum = Lyse
 - ↳ *Vibrio cholerae* + frisches nicht-immunes Serum = keine Lyse
 - ↳ *Vibrio cholerae* + hitzebehandeltes Antiserum = keine Lyse
 - ↳ *Vibrio cholerae* + hitzebehandeltes Antiserum + frisches nicht-immunes Serum = Lyse
- Die bakteriolytische Aktivität besteht aus zwei Substanzen: die Antikörper und eine hitzelabile Substanz
- Paul Ehrlich (Berlin) – Komplement („the activity in blood serum that complements the action of antibody“)

Classical Pathway

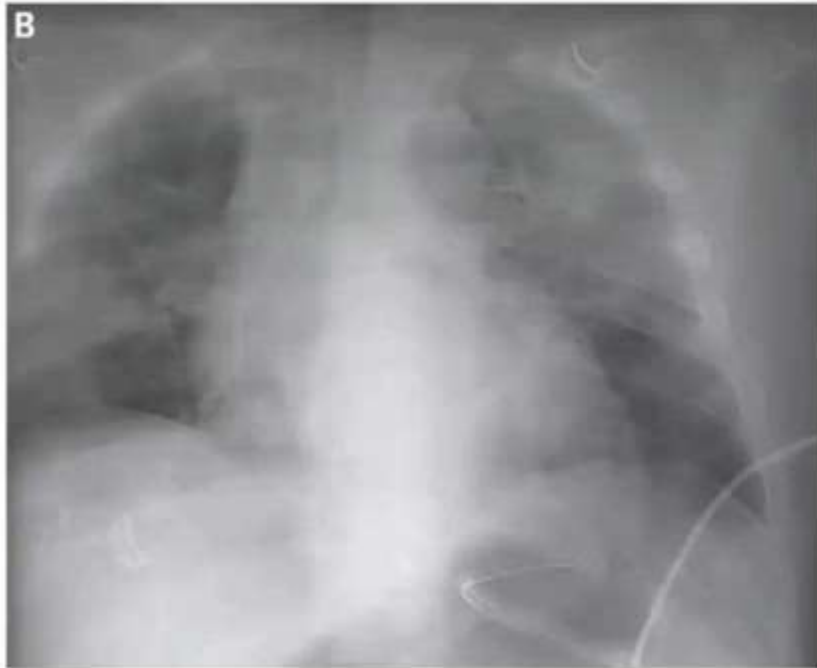
Lectin Pathway

Lektine sind kohlenhydrat-bindende Proteine



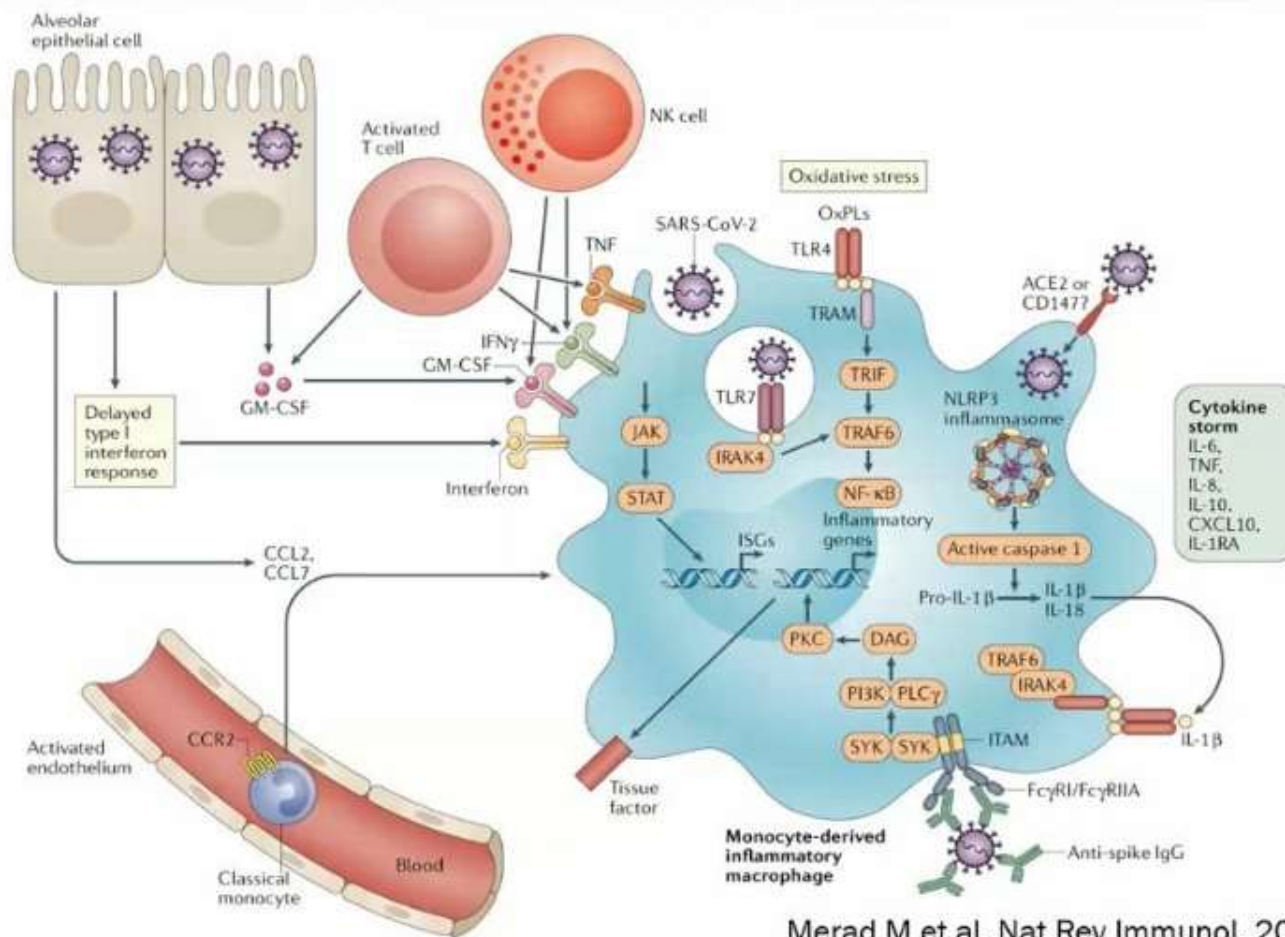
MASP= MBL-associated serine protease

Severe COVID-19



Bhatraju PK et al NEJM 2020





Inflammation is caused by immune dysregulation in severe COVID-19

- Lymphocytopenia is characterised by low CD4+ with predominance of Th2 lymphocytes, low CD19+ lymphocytes, and low NK cells
- Monocytes display a reduced expression of both CD14 and HLA-DR
- An inverse correlation exists between HLA-DR molecules on CD14-monocytes and serum levels of IL-6

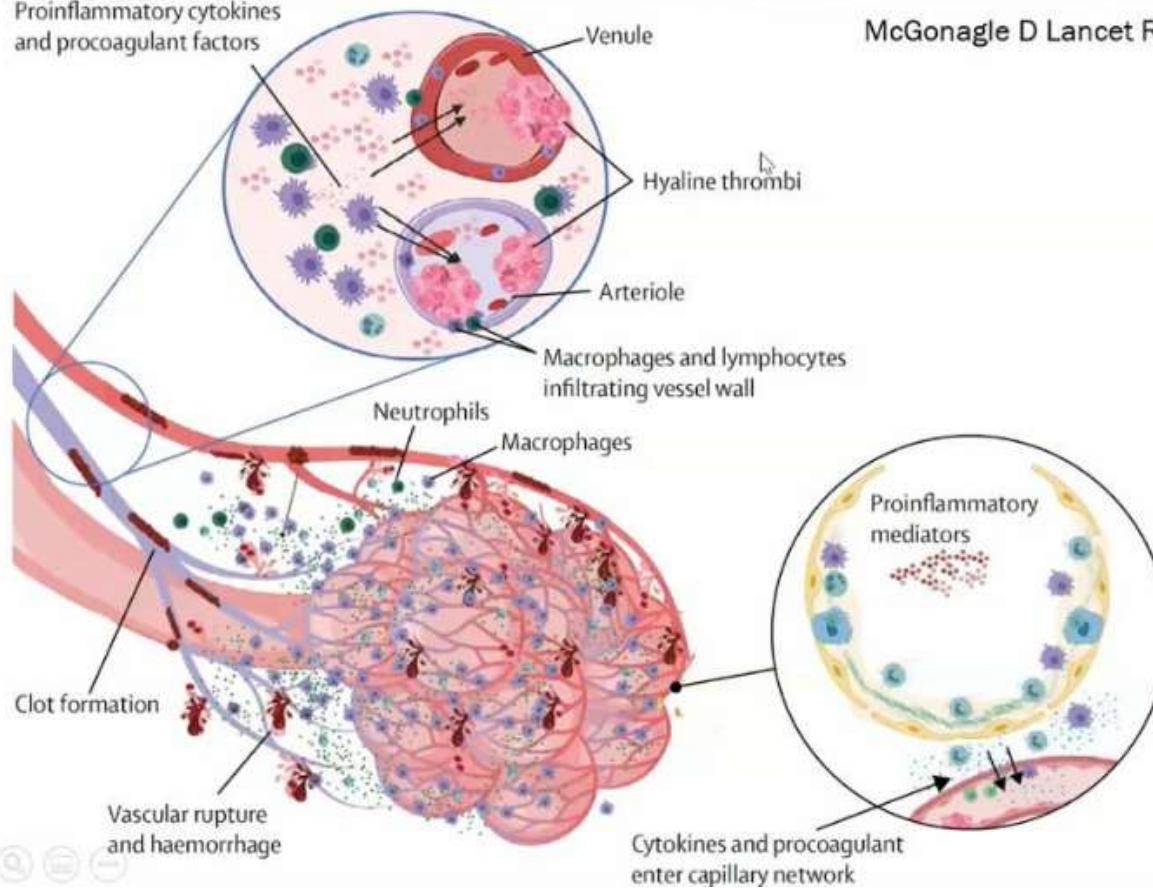
Giamarellos-Bourboulis E et al. Cell 2020

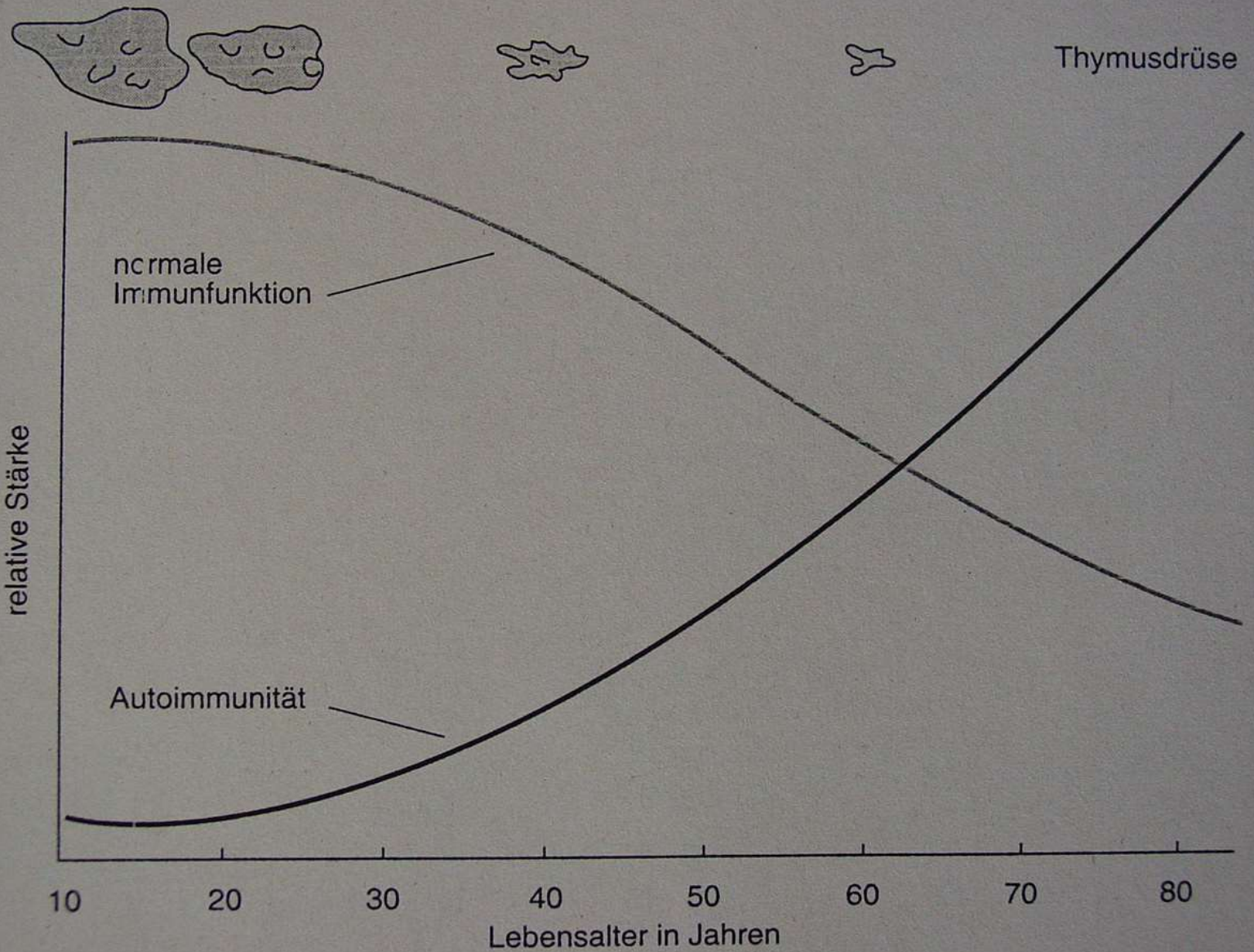
Lombardi A et al doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.01.20087080>



Proinflammatory cytokines
and procoagulant factors

McGonagle D Lancet Rheumatol 2020







Candidiasis - Soormycose

Mundschleimhaut Nägeln
Zwischenfingerfalten grosse
Körperfalten Glans penis
weibliche Genitalregion
Scheide

bevorzugt ältere und
adipöse Frauen

fördern Diabetes
Feuchtigkeit
Vitamin-B
Mangel
Gravidität
Atrophie

Immuntoleranz: herabgesetztes-fehlendes Reaktivität
auf ein bestimmtes Antigen die Reaktion gegenüber anderen
Antigenen erhalten
in der Embryonalphase - bei noch unreifem Immunsystem – Antigene sind
als körpereigen akzeptiert und fortan geduldet
die Unterscheidung zwischen eigen (»self«) und fremd (»not-self«) kann im
späteren Leben für einzelne Tolerogene verlorengehen
und zu einer Autoaggressionskrankheit führen

Angeborene: gegenüber körpereigene Antigene (Autoantigene)

Erworbene: reziproke Immuntoleranz der Zwillinge
(Gefäßanastomosen in der Plazenta)

Immunmangelsyndrome: defiziente Immunreaktion
allgemeine Unfähigkeit des Organismus auf eine
ausreichende Antigenzufuhr mit einer Immunantwort
zu reagieren (Gegensatz zur spezifischen Toleranz)





Impetigo contagiosa

primär eitrige Infektion der Epidermis am häufigsten bei immundefizienter Kinder

Unsauberkeit und Kratzen fördern die Verbreitung

Kompl.: Impetigo-Nephritis



Ekthyma

eine exulzerierte Pyodermie

Kompl.: Lymphangitis
Lymphadenitis, Phlebitis

β -hämolytische Streptokokken

reduzierte Abwehrleistung der Haut
lokale Zirkulationsstörung

Immunpathologie



Tumorimmunität

Tumoren treten häufiger auf bei immunschwachen Patienten

Ursache: Alter, Chemotherapie, Bestrahlung, Immundefekte

Tumorzellen entwickeln Mechanismen um dem Immunsystem zu entkommen:

- selektives Wachstum antigennegativer Varianten (Subklone)

- Verlust oder reduzierte Expression von Histokompatibilitätsantigenen
⇒ Tumorzellen entkommen die zytotoxische T-Zellen

- Fehlen einer Peptidantigen-Kostimulation

- Immunsuppression z.B. Sekretion von TGF- β durch Tumoren

- Apoptose zytotoxischer T-Zellen durch Expression von FAS-Liganden
Melanome, hepatozelluläre Karzinome

Immunabwehrreaktionen: lymphozytäre natürliche Killerzellen

Makrophagen



onkologische Immuntherapie

Spezifische aktivierte T-Zellen z.B. lymphokinaktiver Killerzellen

aus dem Blut der Patienten gewinnen

unter Kulturbedingungen stimulieren

zurückgeben

Blockierende Antikörper therapeutisch einsetzen

gegen den epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor erbB2

Rezeptorprotein C-Kit (Thyrosinkinasefunktion) CML, GIST
überexprimierte membranassoziierte Rezeptoren - Herzeptin

Steigerung der Antigenität durch Infektion mit apathogener Viren

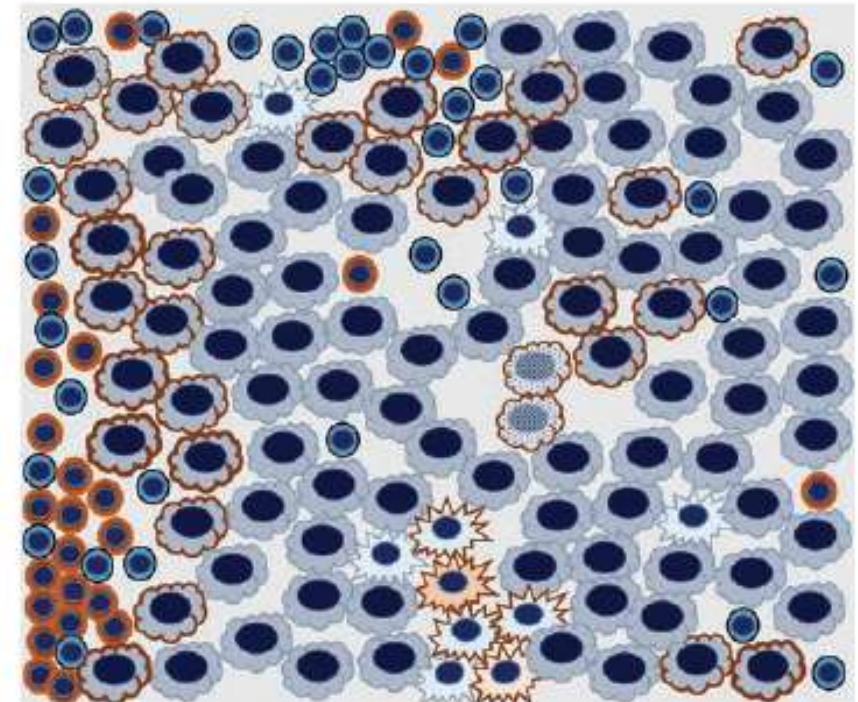
Immunprofilaxe in Spezialfällen – z.B. HBV-Schutzimpfung gegen primären
Leberzellkarzinom

Antikörper Therapie gegen PD-1, PD-L1 oder CTL-4 ! Erkennung und Kampf
gegen Tumorzellen durch Aktivierung unserer eigenen Immunsysteme !



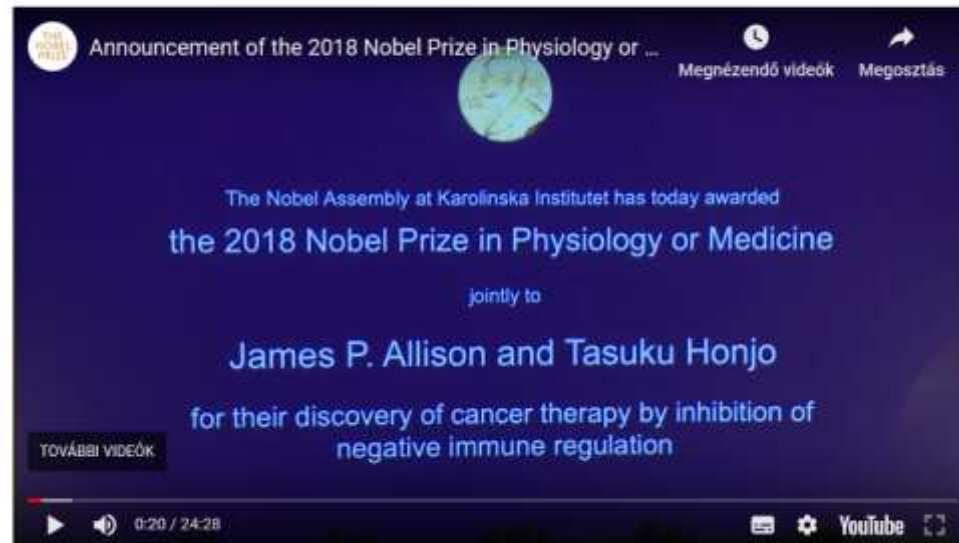
PD-L1 und PD-1 Blockers

	Pembrolizumab (anti-PD-1)	Nivolumab (anti-PD-1)	Atezolizumab (anti-PD-L1)	Durvalumab (anti-PD-L1)	Avelumab (anti-PD-L1)
NSCLC első vonal metasztázis (monoterápiában)	ALK- és EGFR-negatív esetekben Kísérő IVD: 22C3 ≥50% TPS				
NSCLC első vonal metasztázis nem laphám (kemoterápiával)	IHC nélkül alkalmazható ALK- és EGFR-negatív esetekben		IHC nélkül alkalmazható ALK- és EGFR-negatív esetekben		
NSCLC másodvonal	Kísérő IVD: 22C3 ≥1% TPS	IHC nélkül alkalmazható* Kiegészítő: 28-B ≥1% TPS	IHC nélkül alkalmazható* Kiegészítő: SP142 ≥50% TC / ≥10% IC	Kísérő IVD: SP263* ≥1% TC	
SCLC (előrehaladott) első vonal (kemoterápiával)			IHC nélkül alkalmazható		
SCLC (előrehaladott) másodvonal		IHC nélkül alkalmazható			
Urothelialis első vonal (ciszpaltinkezelésre alkalmatlanoknál)	Kísérő IVD: 22C3 ≥10 CPS		Kísérő IVD: SP142 ≥5% IC		
Urothelialis másodvonal (korábban platinalepő kezelésen átesett)	IHC nélkül alkalmazható	IHC nélkül alkalmazható* Kiegészítő: 28-B ≥1% TPS	IHC nélkül alkalmazható	Kiegészítő: SP263 ≥25% TC vagy ≥1% ICP és ≥25% IC vagy ICP+1% és IC=100%	IHC nélkül alkalmazható
Féj-nyaki laphámrák első vonal	Kísérő IVD: 22C3 ≥1 CPS	IHC nélkül alkalmazható Kiegészítő: 28-B ≥1% TPS			
Féj-nyaki laphámrák másodvonal	Kísérő IVD: 22C3 ≥50% TPS	IHC nélkül alkalmazható			
Klasszikus Hodgkin-limfóma másodvonal	IHC nélkül alkalmazható	IHC nélkül alkalmazható			
Melanóma	IHC nélkül alkalmazható	IHC nélkül alkalmazható			
RCC első vonal (kombinációban)	IHC nélkül alkalmazható	IHC nélkül alkalmazható			IHC nélkül alkalmazható
RCC másodvonal		IHC nélkül alkalmazható			
Tripla-negatív emlőrák			Kísérő IVD: SP142 ≥1% IC		
Méhnyakrák	Kísérő IVD: 22C3 ≥1% TPS				
Ösómorrák	Kísérő IVD: 22C3 ≥1% TPS				
HCC	IHC nélkül alkalmazható	IHC nélkül alkalmazható			
Merkel-sejtes karcinóma	IHC nélkül alkalmazható				IHC nélkül alkalmazható
	Pembrolizumab (anti-PD-1)	Nivolumab (anti-PD-1)	Atezolizumab (anti-PD-L1)	Durvalumab (anti-PD-L1)	Avelumab (anti-PD-L1)
dMMR/MSI-H kolorektális karcinóma	IHC nélkül alkalmazható	IHC nélkül alkalmazható			
dMMR/MSI-H (bármely tumor)	IHC nélkül alkalmazható				



- PD-L1-negatív és -pozitív viabilis, valamint PD-L1-pozitív nekrotikus daganatsejt
- PD-L1-negatív, illetve -pozitív (membrán és membrán/citoplazma) dendritikus sejtek (makrofágok)
- PD-L1-negatív és -pozitív limfocita

Prize announcement



Announcement of the 2018 Nobel Prize in Physiology or Medicine by Professor Thomas Perlmann, Secretary of the Nobel Committee for Physiology or Medicine, on 1 October 2018.



"We can cure cancer with it"

Klas Kärre, member of the Nobel Committee, on the life-changing possibilities of this year's Nobel Prize awarded discovery. Professor Kärre, member of the Nobel Committee for Physiology or Medicine, was interviewed by freelance journalist Lotta Fredholm following the announcement of the 2018 Nobel Prize in Physiology or Medicine.



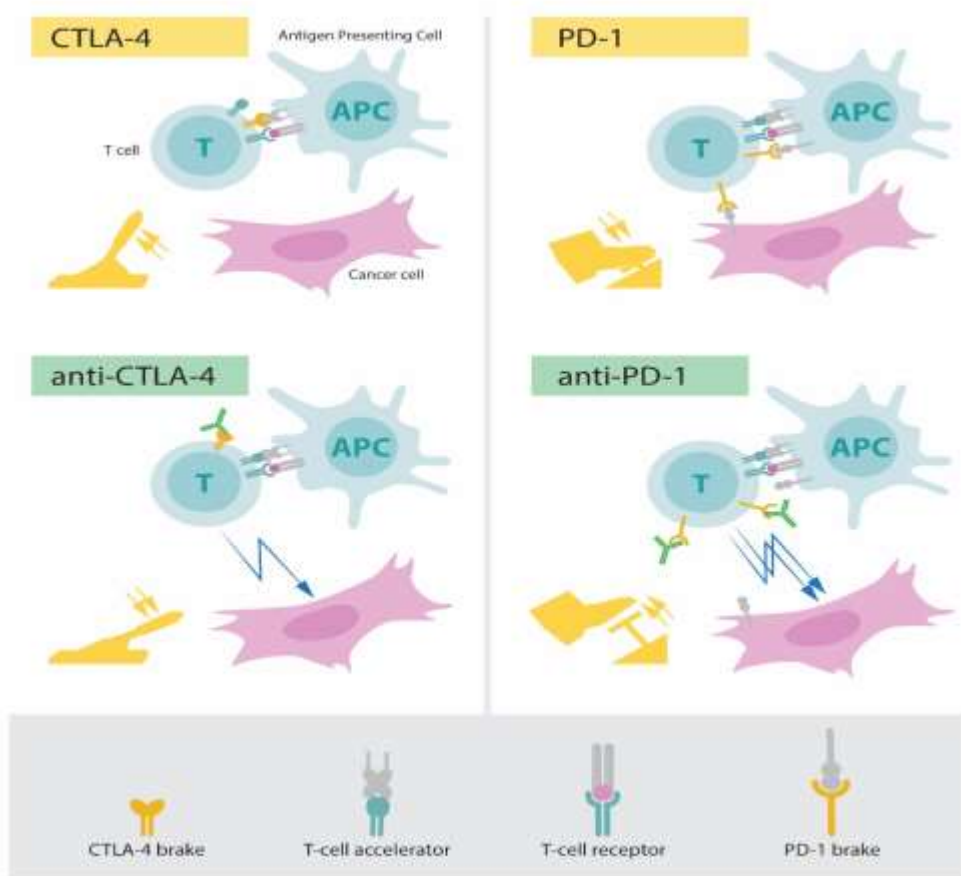
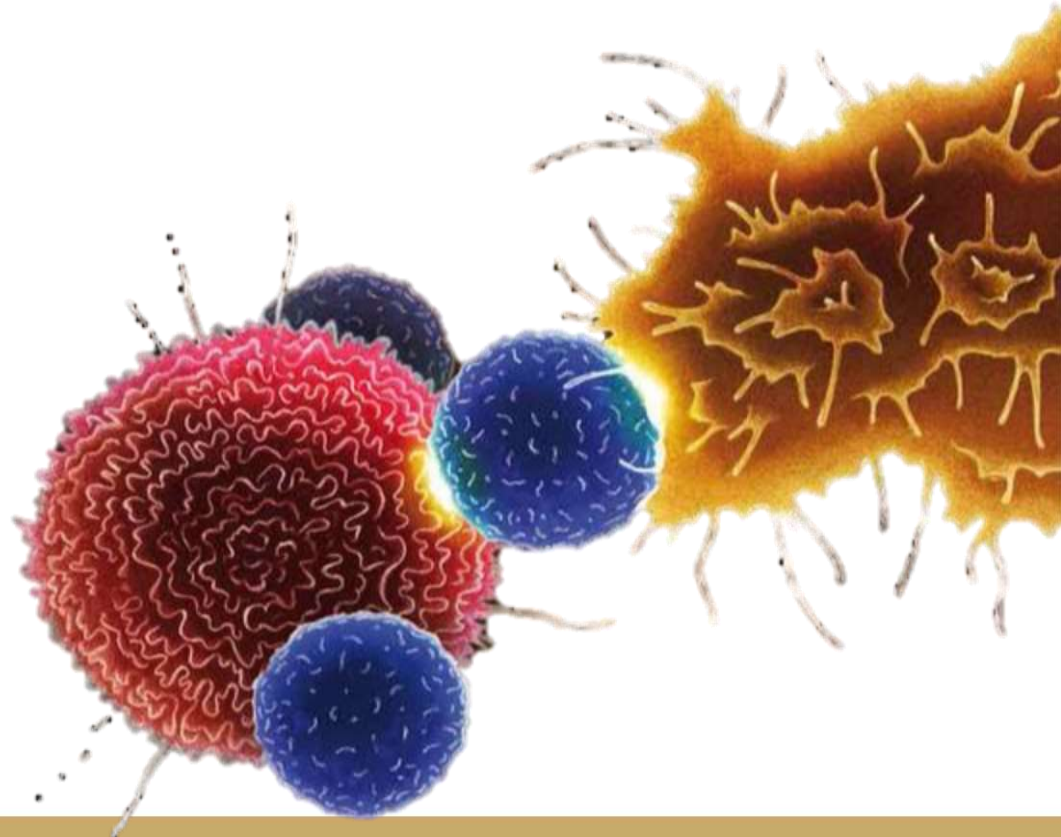
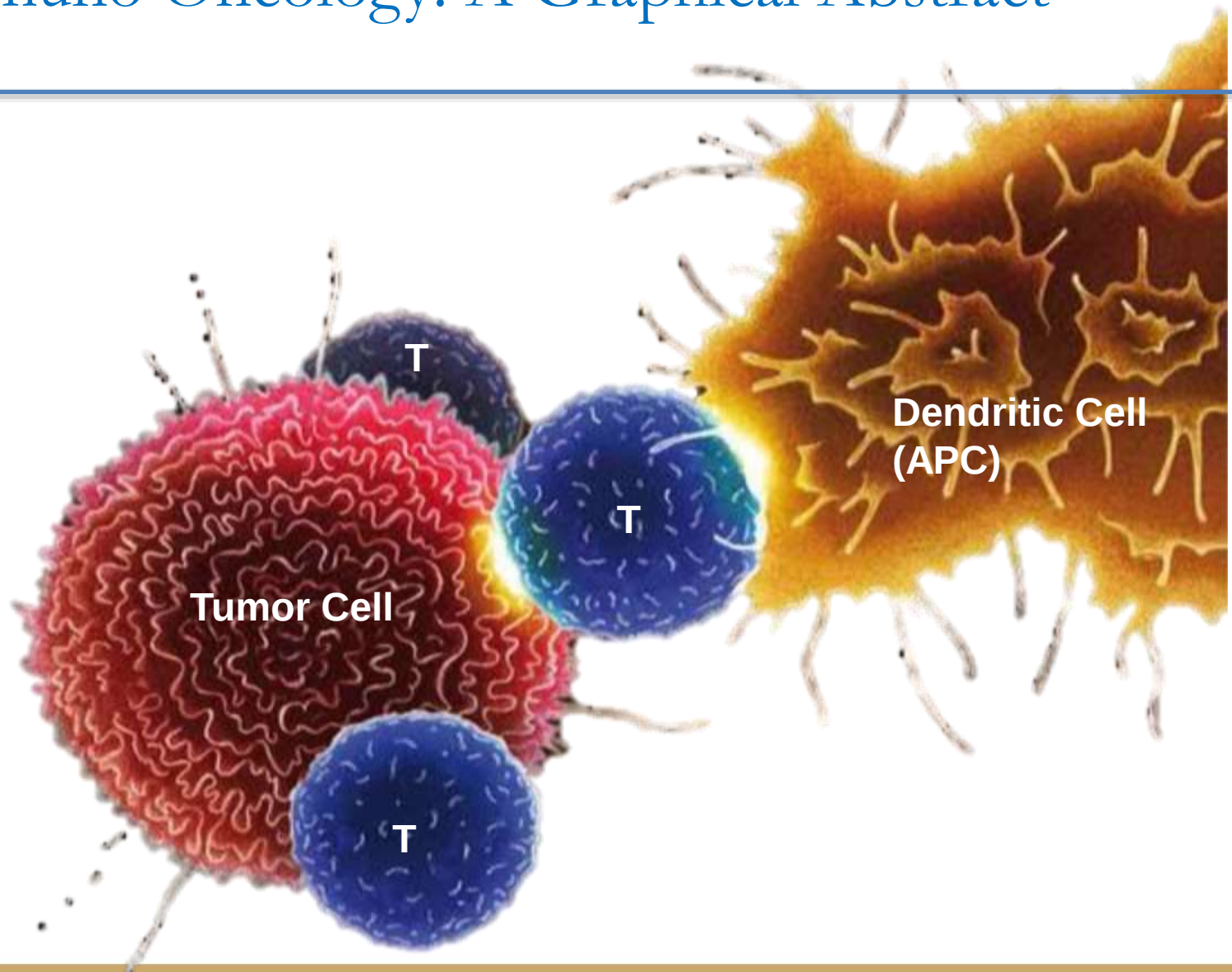


Figure: *Upper left:* Activation of T cells requires that the T-cell receptor binds to structures on other immune cells recognized as "non-self". A protein functioning as a T-cell accelerator is also required for T cell activation. CTLA-4 functions as a brake on T cells that inhibits the function of the accelerator. **Lower left:** Antibodies (green) against CTLA-4 block the function of the brake leading to activation of T cells and attack on cancer cells. **Upper right:** PD-1 is another T-cell brake that inhibits T-cell activation. **Lower right:** Antibodies against PD-1 inhibit the function of the brake leading to activation of T cells and highly efficient attack on cancer cells.

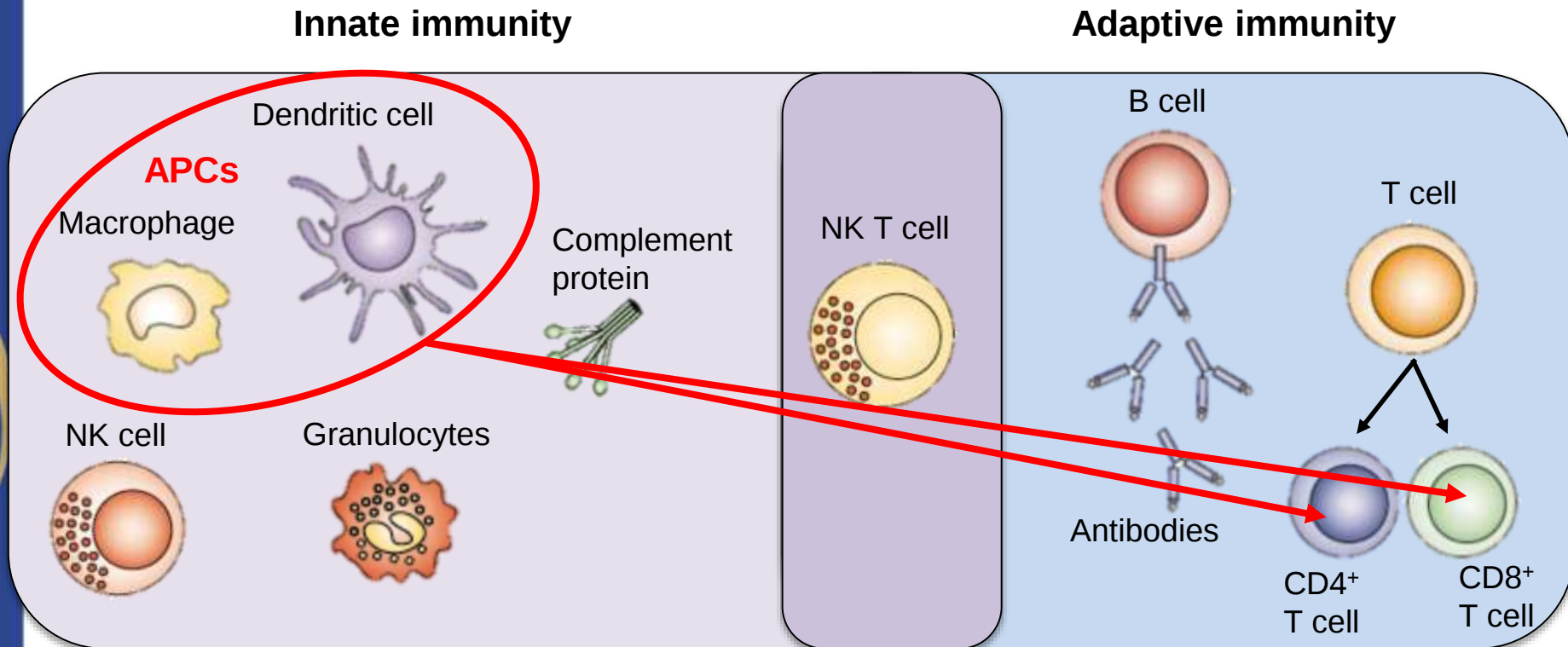
“Immune Checkpoint-Blockade In Cancer” Beginning of a New Era!



Immuno Oncology: A Graphical Abstract



The Immune System



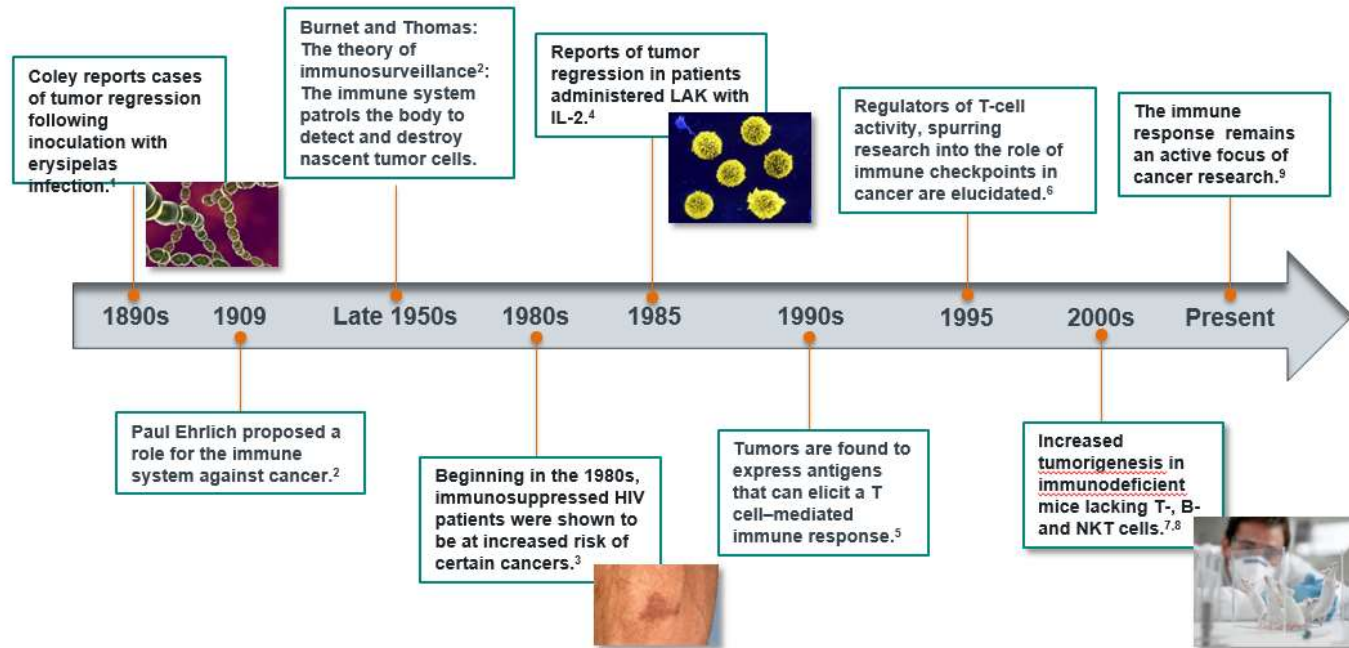
⇒ fast response and low specificity

- Antibodies
- Cytokines
- Ag receptors (10^9 / individual)

⇒ specificity, diversity, and memory

Dranoff, 2004

What Have We Learned About the Role of the Immune System in Oncology?



HIV = human immunodeficiency virus; LAK = lymphokine-activated killer; IL-2 = interleukin-2; NKT = natural killer T.

1. Coley WB. *Am J Med Sci*. 1893;105:487–511. 2. Ichim CV. *J Transl Med*. 2005;3:8. 3. Levine AM et al. *Curr Probl Cancer*. 1987;11:209–55. 4. Rosenberg SA et al. *N Engl J Med*. 1985;313:1485–1492. 5. van der Bruggen P et al. *Science*. 1991;254:1643–1647. 6. Tivol EA. et al. *Immunity*. 1995;3:541–547. 7. Vesely MD et al. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:235–271. 8. Shankaran V. et al. *Nature*. 2001;410:1107–1111. 9. Drake CG et al. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2014;11: 24–37.

The Founders of Modern Immunology and Immuno-Therapy



Robert Koch



Paul Ehrlich



William Coley



Emil v. Behring



Louis Pasteur

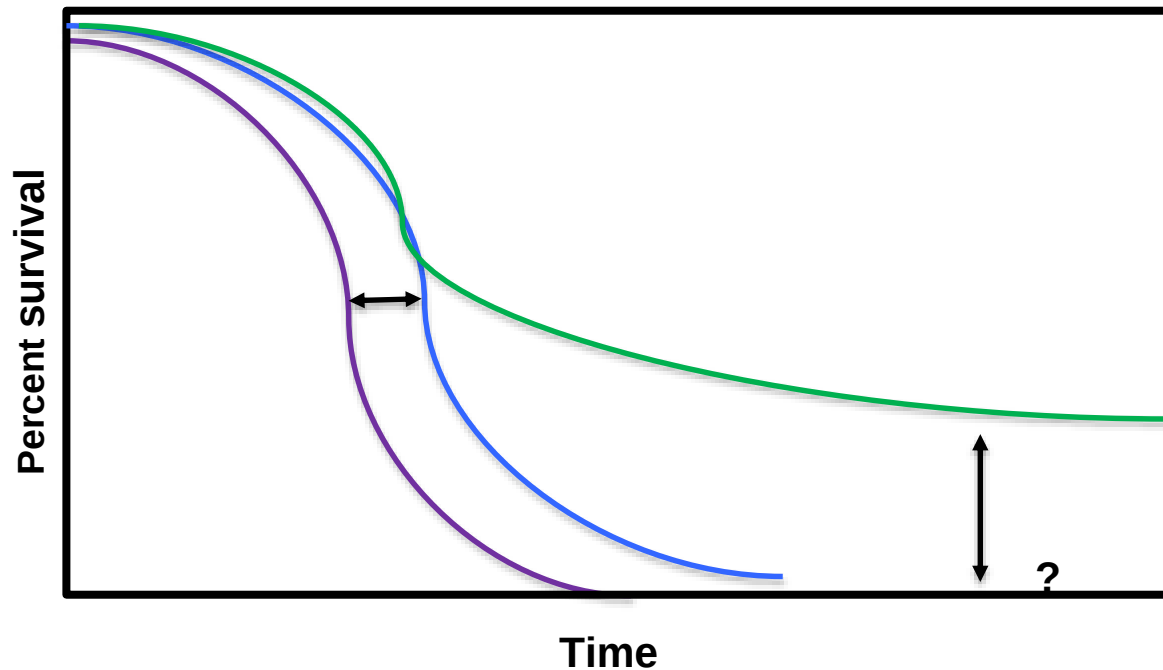


Rudolf Virchow

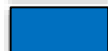


Ilja Iljitsch Metschnikow

Anticancer Therapies and their Targets



 **Chemotherapy**

 **Targeted therapy** $\Rightarrow$ clinical responses in majority of patients
 $\Rightarrow$ limited duration of responses

 **Immune therapy** $\Rightarrow$ long lasting responses?

adapted from Allison et al., 2015

ImmunoTherapy: Does it Work in Solid Tumors?

Paul Ehrlich's magic bullet concept:

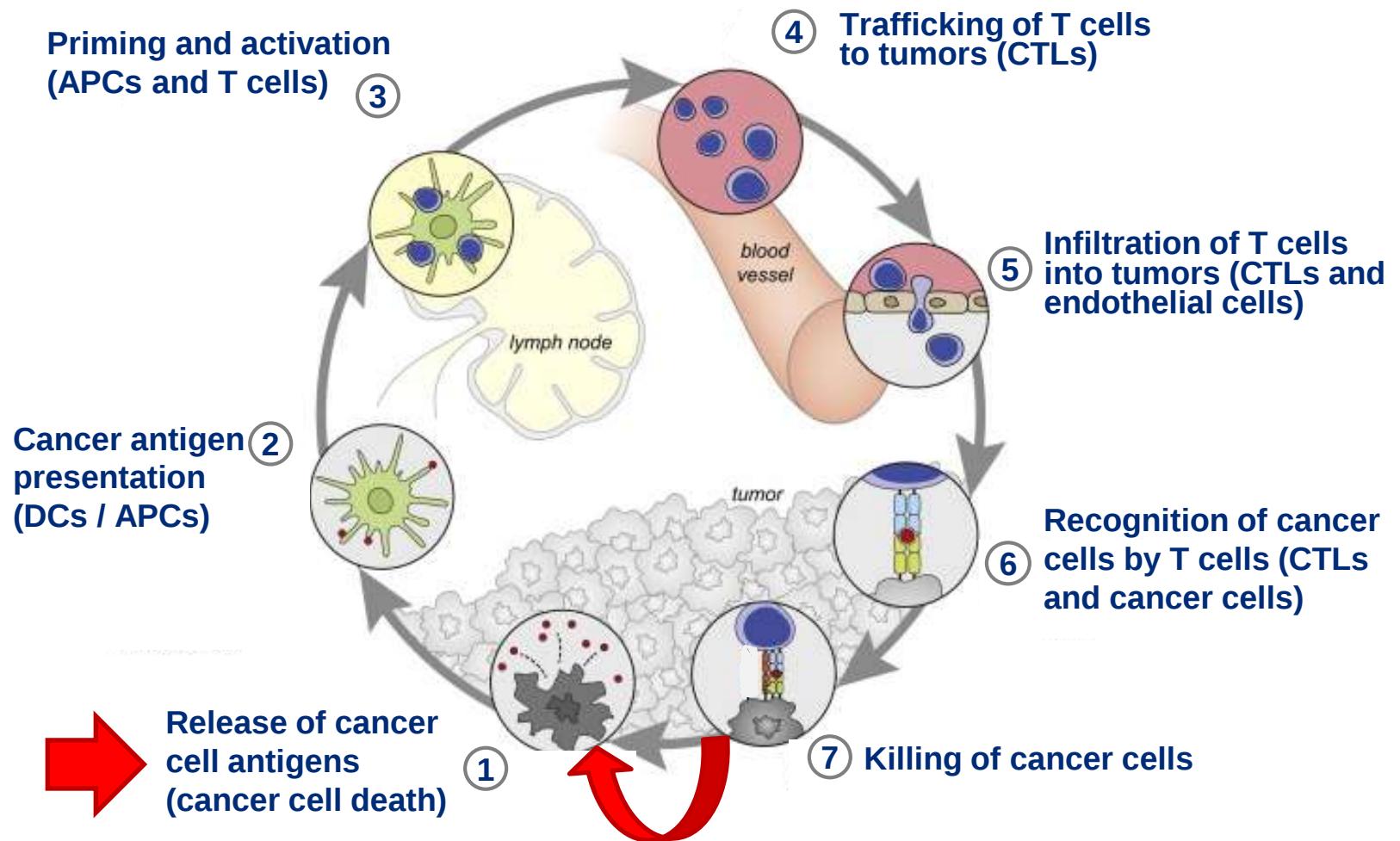
100+ years of progress

- Magic Bullet (Paul Ehrlich)
- Immunosurveillance (P Ehrlich (1909))
- Intratumoral application (Coley 1906)
- ~~• Cancer Vaccines ??~~
 - BCG bladder
- ~~• Immunostimulants ??~~
 - Big business



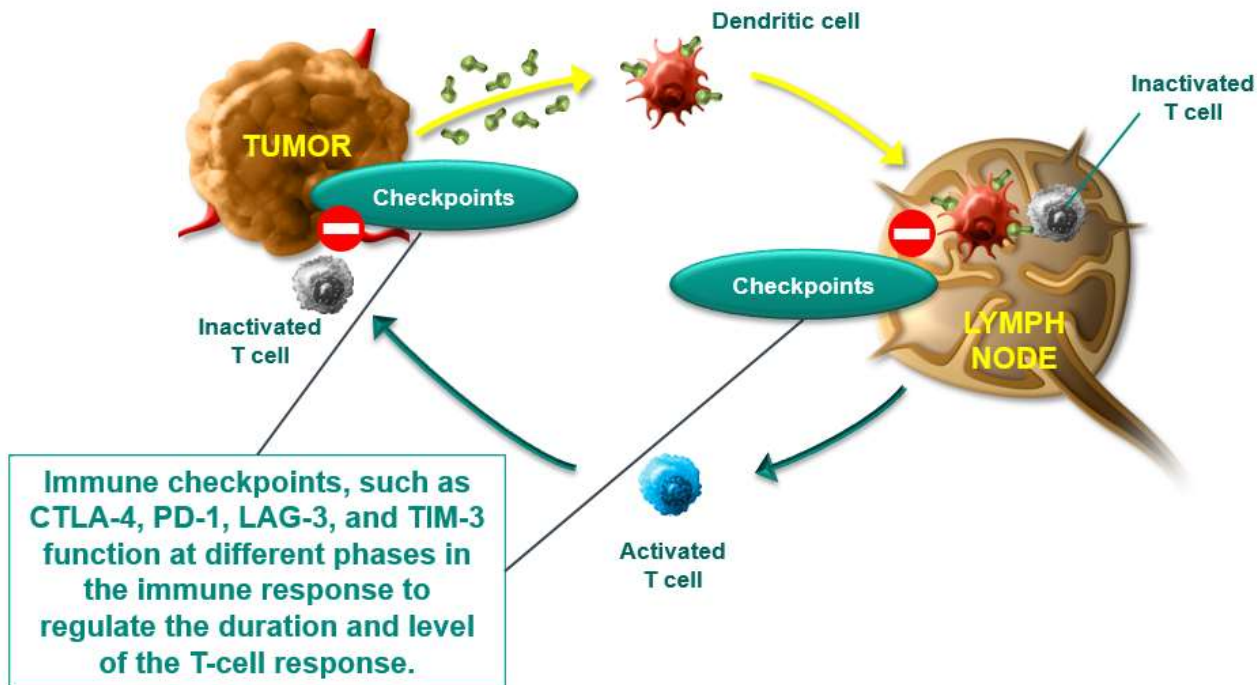
The Cancer-Immunity Cycle

- Immunoediting: 1.) Elimination -



Chen and Mellman *Immunity*, 2013, 39:1-10

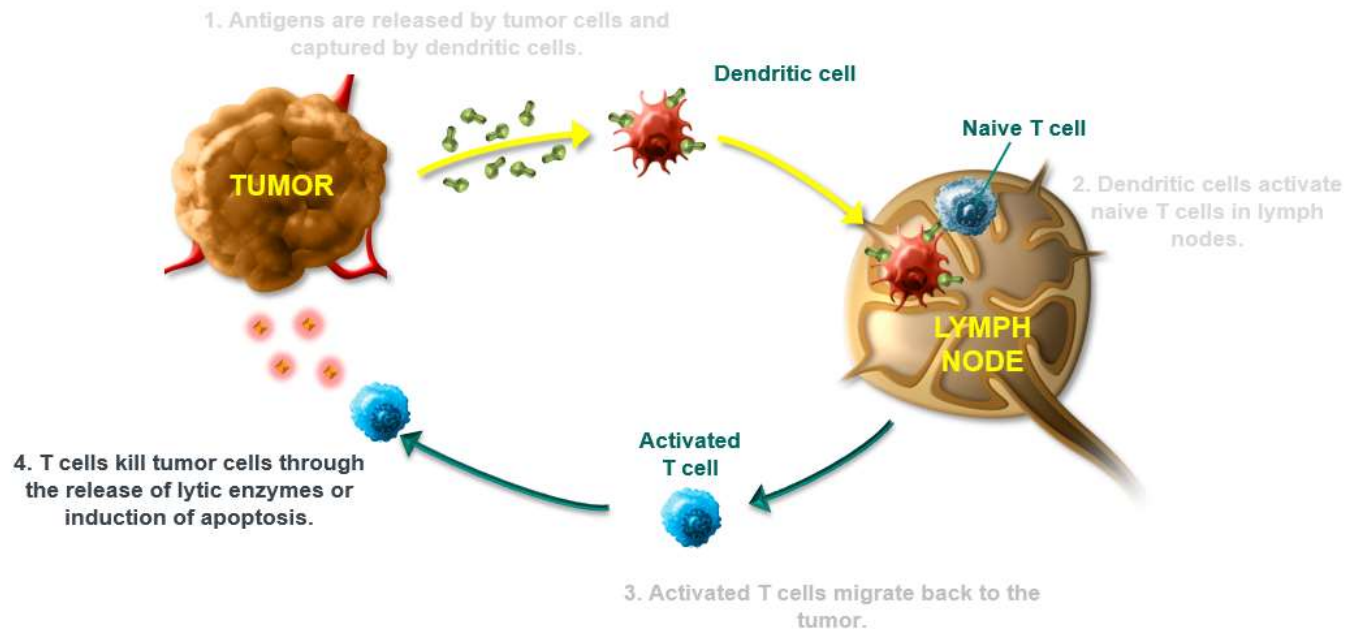
T-Cell Activity Is Regulated By Immune Checkpoints to Limit Autoimmunity¹



CTLA-4 = cytotoxic T-lymphocyte antigen 4; PD-1 = programmed cell death protein 1; LAG-3 = lymphocyte activation gene 3; TIM-3 = T-cell immunoglobulin and mucin protein 3.

1. Pardoll DM. *Nat Rev Cancer*. 2012;12:252–264.

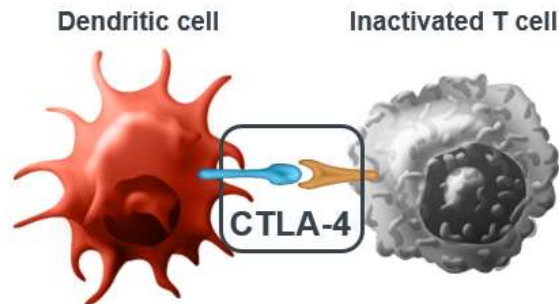
T cells Are Important in the Ability of the Immune System to Detect and Destroy Tumor Cells¹



1. May KF Jr et al. In: Prendergast GC et al. *Cancer Immunotherapy*. 2nd ed. Elsevier; 2013:101–113.

CTLA-4 Is Thought to Affect The Priming Phase of T-Cell Activation¹

Priming (Early Stage) Phase of Activation

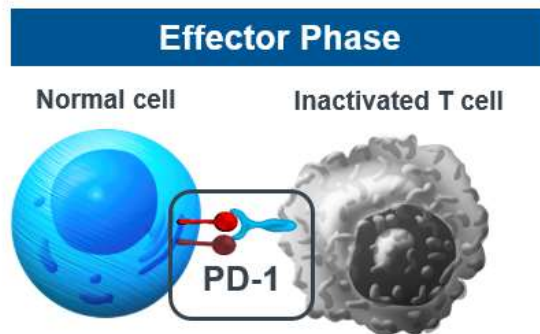


- In healthy tissues, CTLA-4 is thought to function as a dominant “off switch” broadly shutting down T-cell activity to prevent autoimmunity^{1–3}

CTLA-4 = cytotoxic T-lymphocyte antigen 4.

1. Pardoll DM. *Nat Rev Cancer*. 2012;12:252–264; 2. Ribas A. *N Engl J Med*. 2012;366:2517–2519; 3. Topalian SL et al. *Curr Opin Immunol*. 2012;24:207–212.

PD-1 Is Thought to Primarily Regulate the Effector Phase of T-Cell Activity

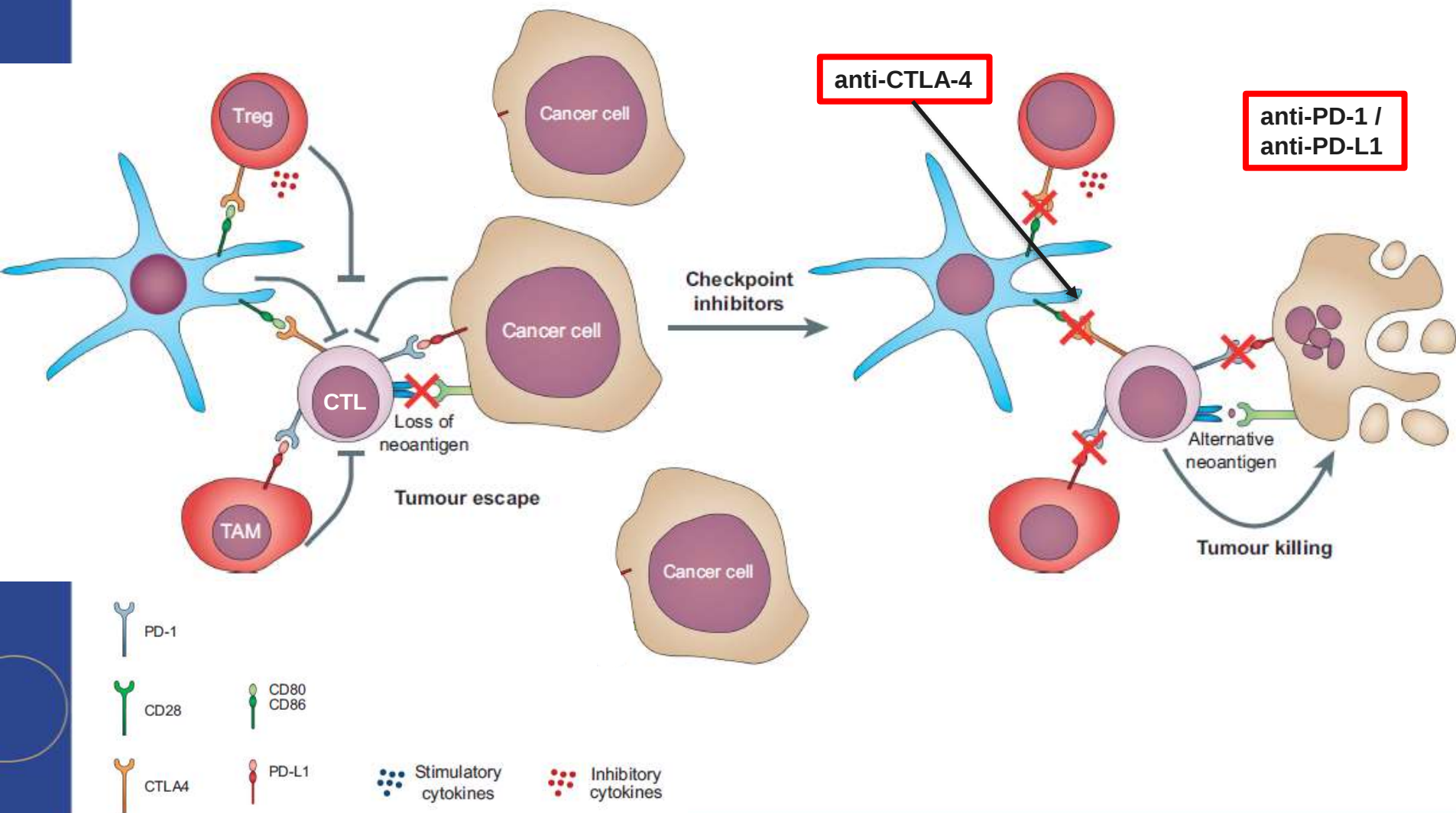


- The PD-1 immune checkpoint pathway primarily functions during the effector phase of the T-cell response in the peripheral tissue¹
- In healthy tissues, PD-1 is thought to limit the activity of antigen-specific T cells to prevent collateral tissue damage during infection¹
- In cancer, the PD-1 pathway can be exploited by some tumor cells to inactivate T cells¹

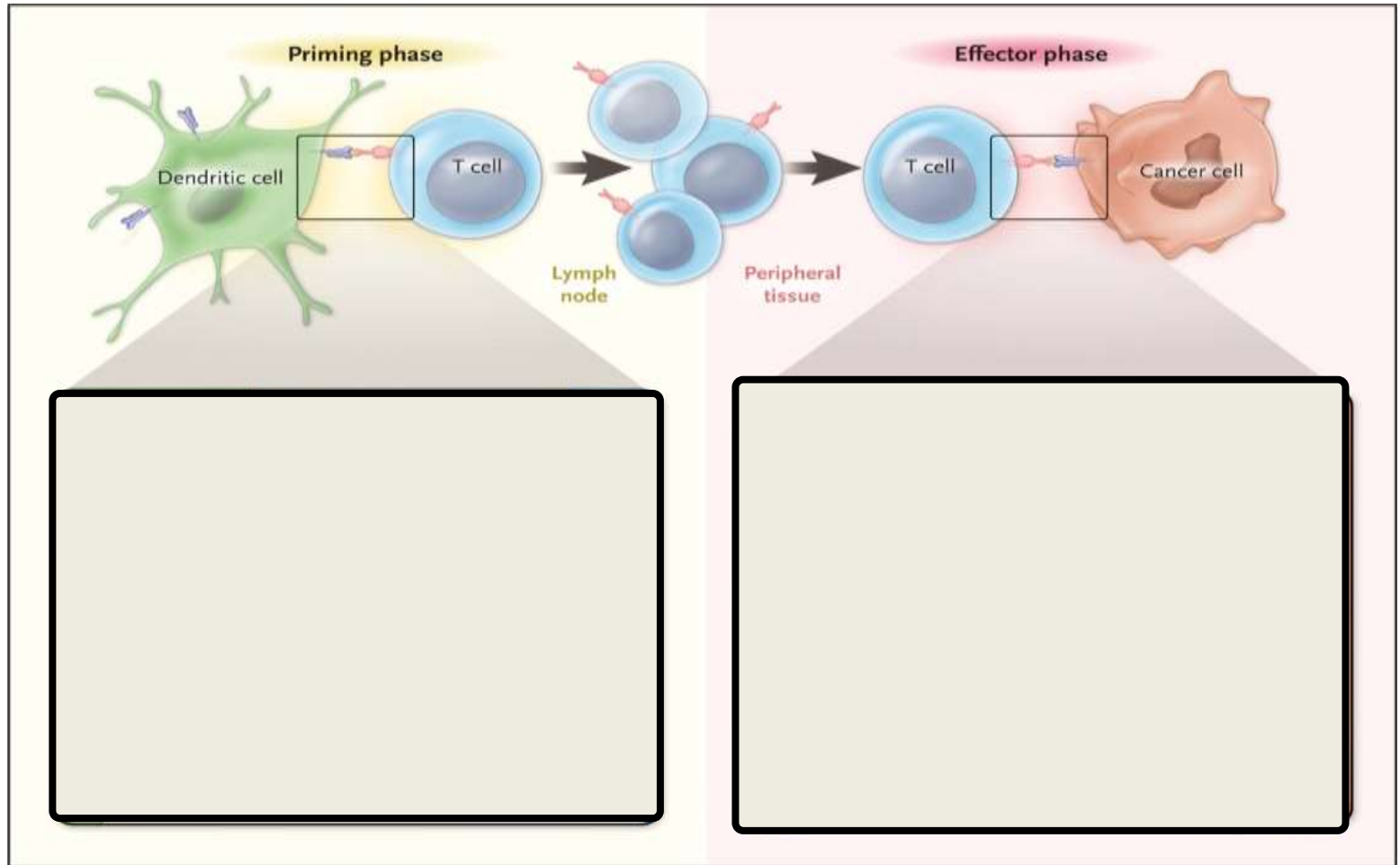
PD-1 = programmed cell death protein 1.

1. Pardoll DM. *Nat Rev Cancer.* 2012;12:252–264.

Immune Checkpoint Inhibitors

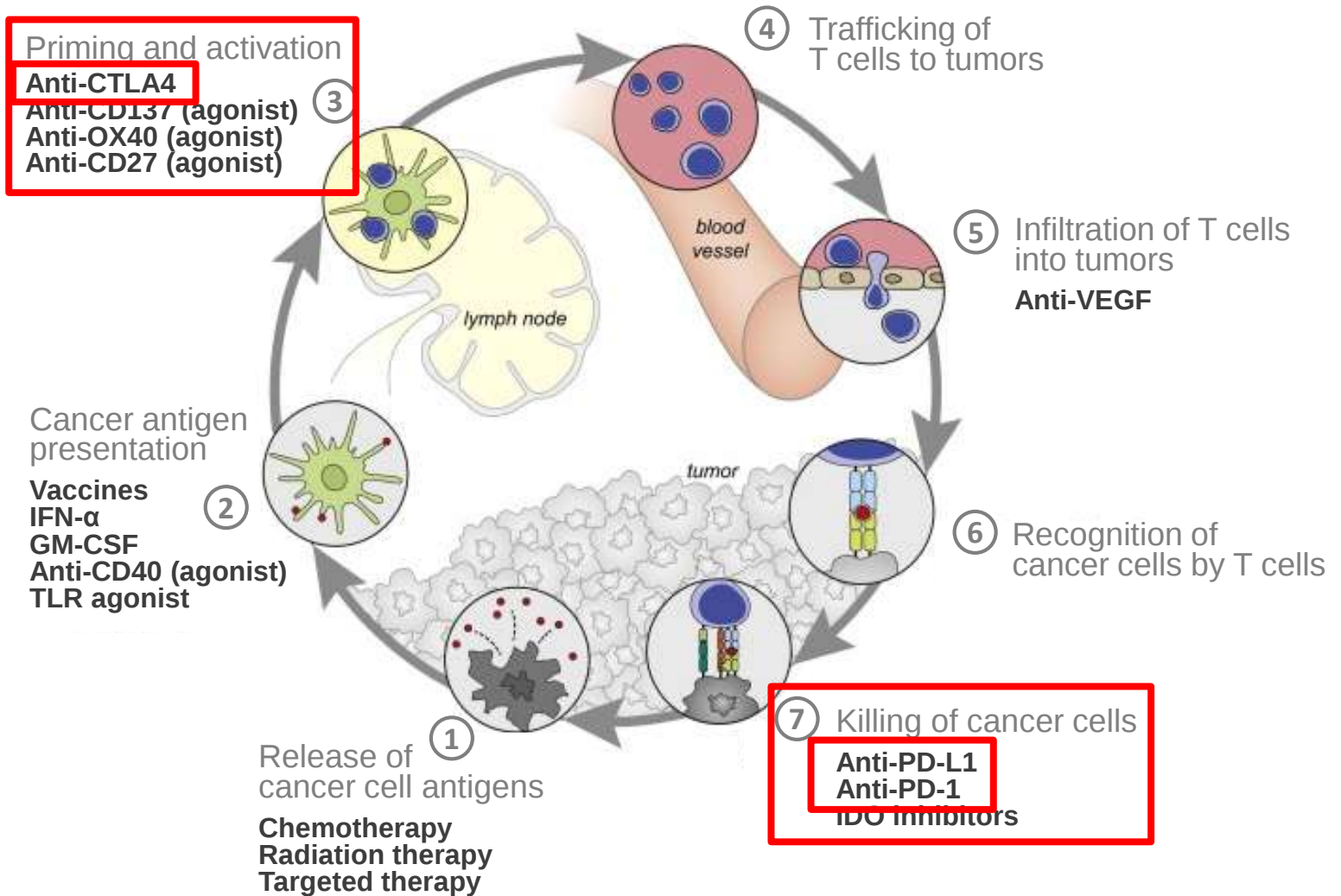


Checkpoint Pathway in Cancer Immunology



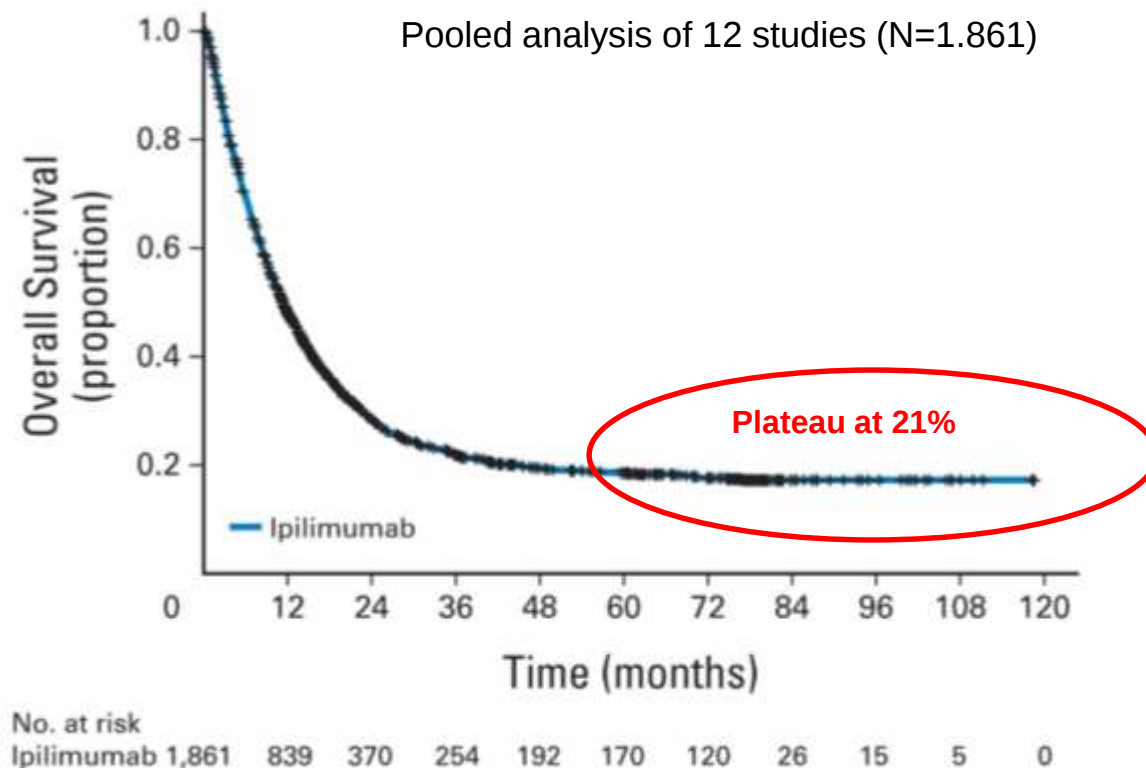
CTLA-4, cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4; MHC, major histocompatibility complex; PD-1, programmed cell death 1; PD-L1, programmed cell death ligand 1; TCR, T cell receptor. Ribas A. *N Engl J Med.* 2012;366:2517-2519

Immune Checkpoint Inhibitors

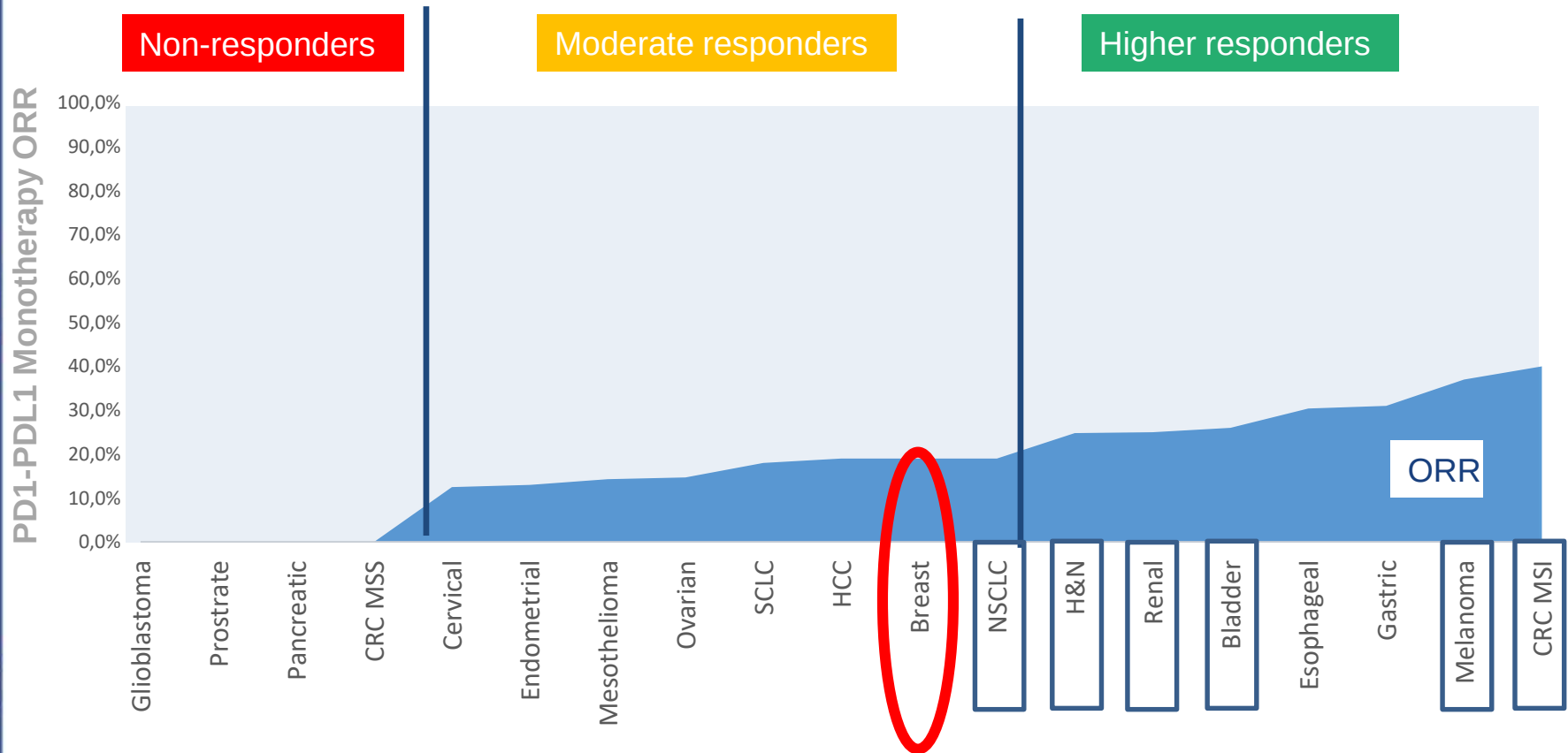


Chen and Mellman Immunity, 2013, 39:1-10

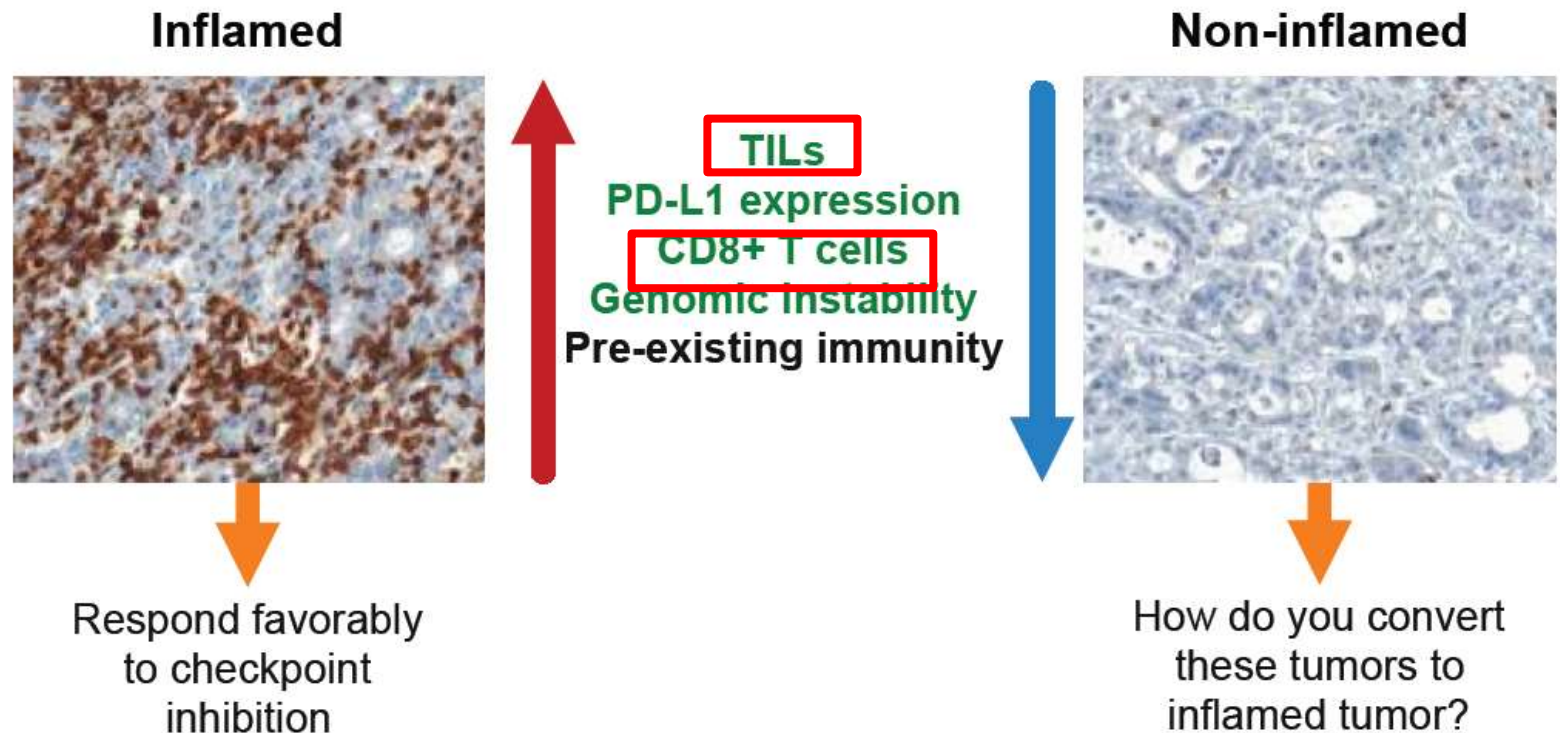
Immune Checkpoint Inhibitors: Breakthrough Therapy in Melanoma



Three Categories of Response to Anti-PD-1/PD-L1

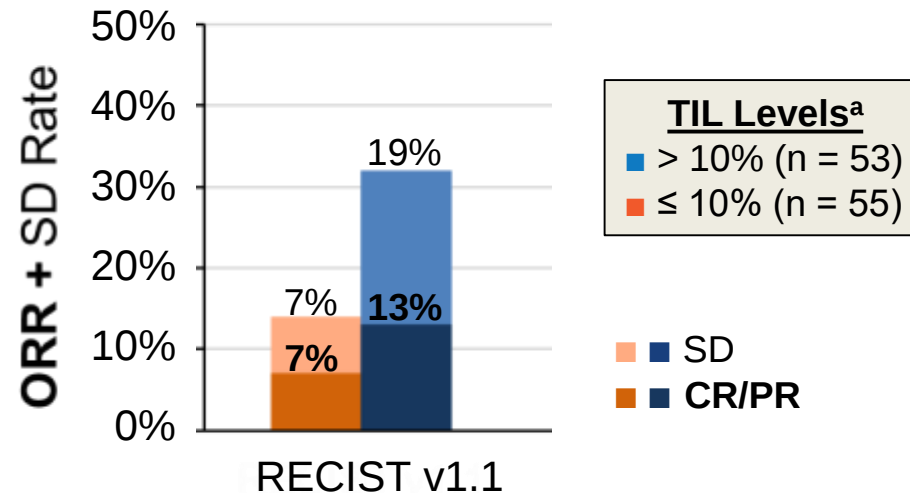


Immunogenic vs. Non-immunogenic Tumors



Biomarker Analysis: Tumor-Infiltrating Lymphocytes

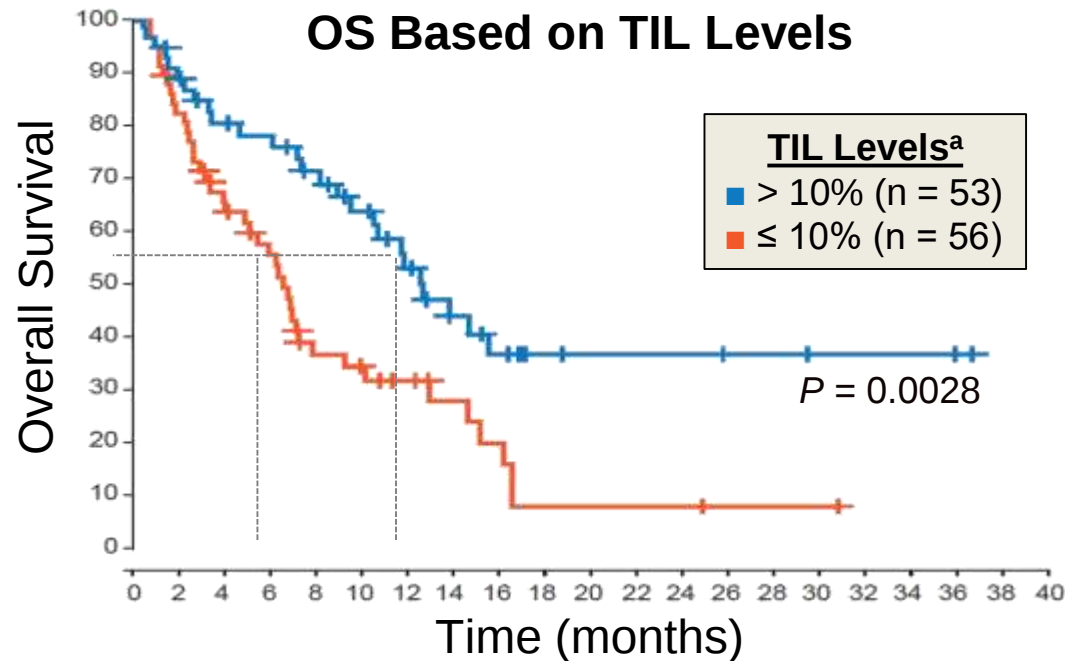
Response based on TIL Levels



Schmidt P. et al. AACR 2017 Phase Ia Atezolizumab in TNBC



Biomarker Analysis: Tumor-Infiltrating Lymphocytes



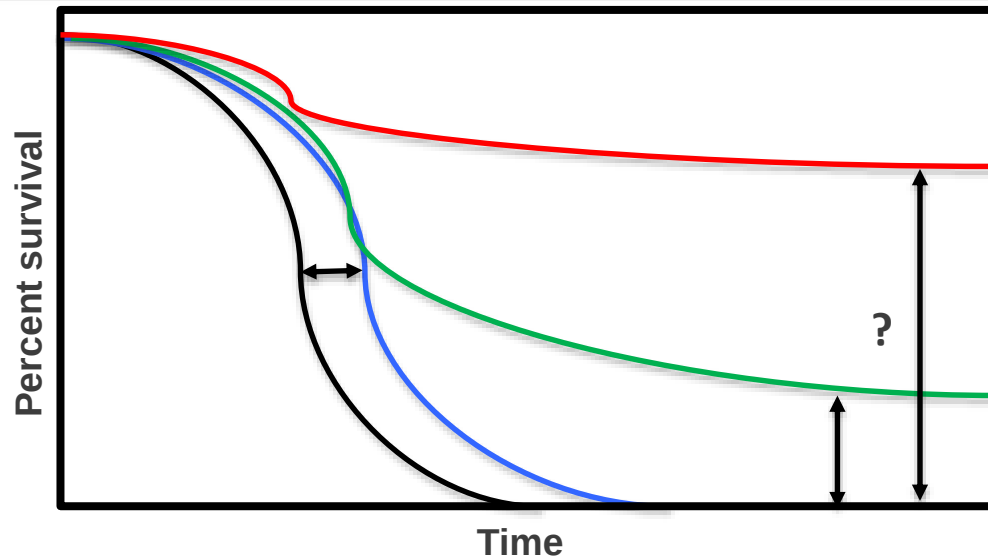
	≤ 10% TILs (n = 53)	> 10% TILs (n = 56)
mOS (95% CI)	6.6 mo (4.9, 10.2)	12.6 mo (10.5, NA)

- Higher ORR and longer OS were seen with higher baseline TIL (CD8) infiltration

Schmid P, et al. AACR 2017 Phase Ia Atezolizumab in TNBC



Future Directions in Immuno-Oncology



 **Chemotherapy**

 **Targeted therapy**

 **Immune checkpoint therapy**

 **Combination therapy**

⇒ long lasting responses

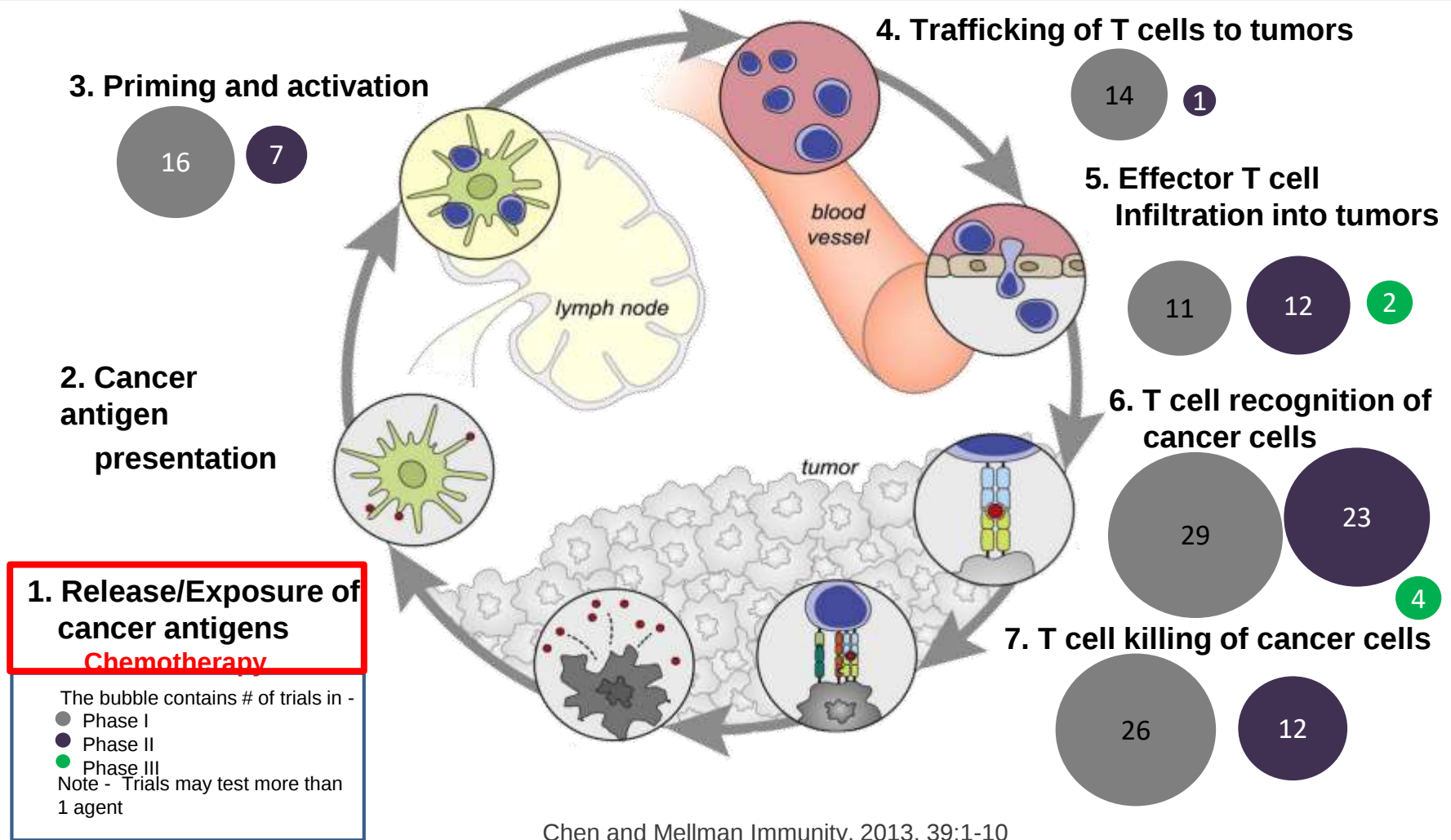
⇒ applicable in various cancer types

⇒ increase in response rate?

⇒ increase in efficiency?



Future Directions in Immuno-Oncology



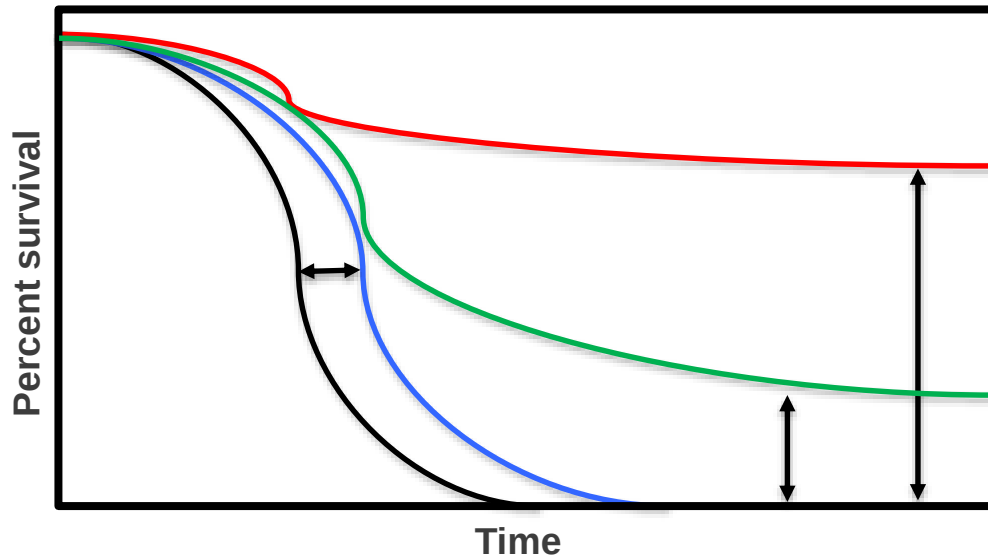
Immune response and chemotherapy

Drug	Effect on immune system
Taxanes	• Enhances T cell and NK cell function • Increases recruitment of TIL • Increase efficacy of immuno-stimulatory agents
Doxorubicin	• Induces immunogenic cell death • Increases proliferation of CD8 T cells • Stimulates antigen presentation by DCs • Stimulates MCP1 and M6PR
Cyclophosphamide	• Induces immunogenic cell death • Suppresses Treg inhibitory functions and restores the proliferative capacity of effector T cells and NK cell cytotoxicity
Gemcitabine	• Reduces the number of myeloid suppressor cells • Increases the antitumor activity of CD8(+) T cells and activated NK cells
Oxaliplatin	• Induces immunogenic cell death • Increases MHC I complex • Inhibits PD-L2

Kono et al. Cell Death and Disease 2013



Summary and Future Directions



 **Chemotherapy**

 **Targeted therapy**

 **Immune checkpoint therapy**

⇒ long lasting responses

⇒ applicable in various cancer types

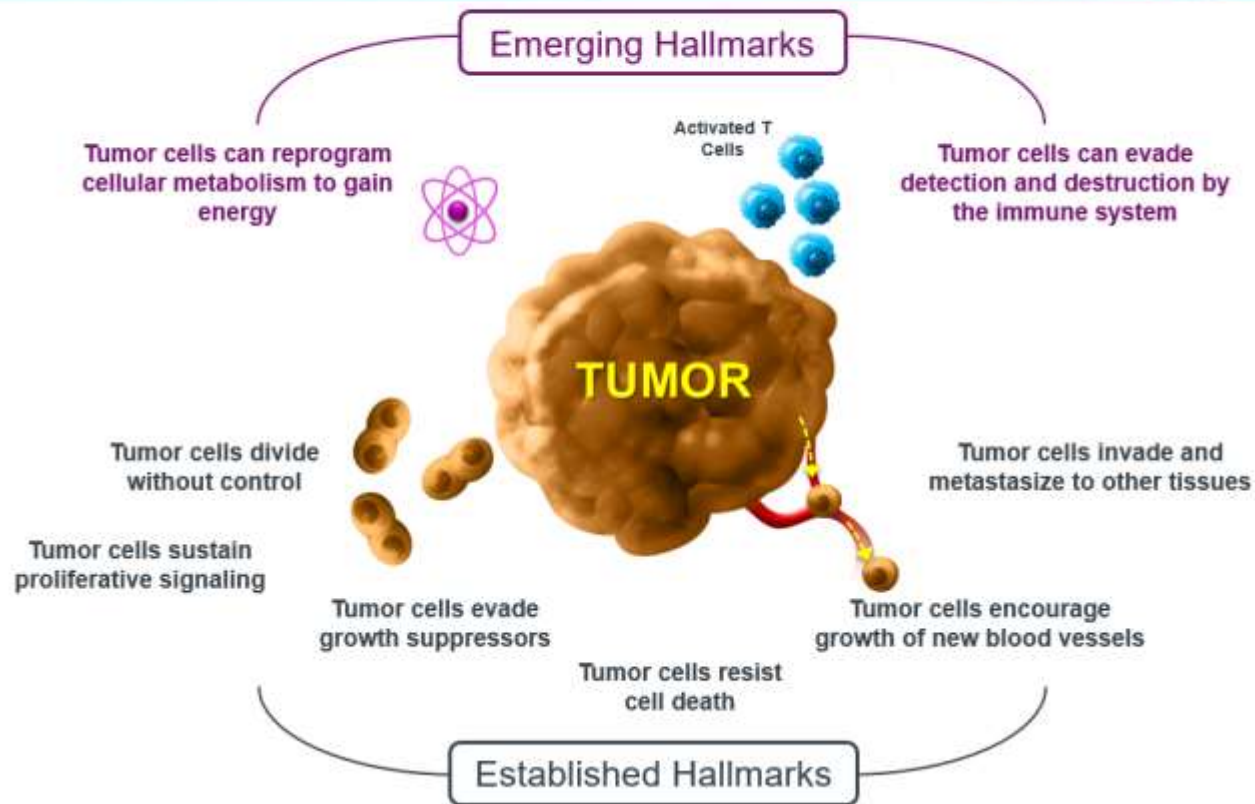
 **Combination therapy**

⇒ increase in response rate

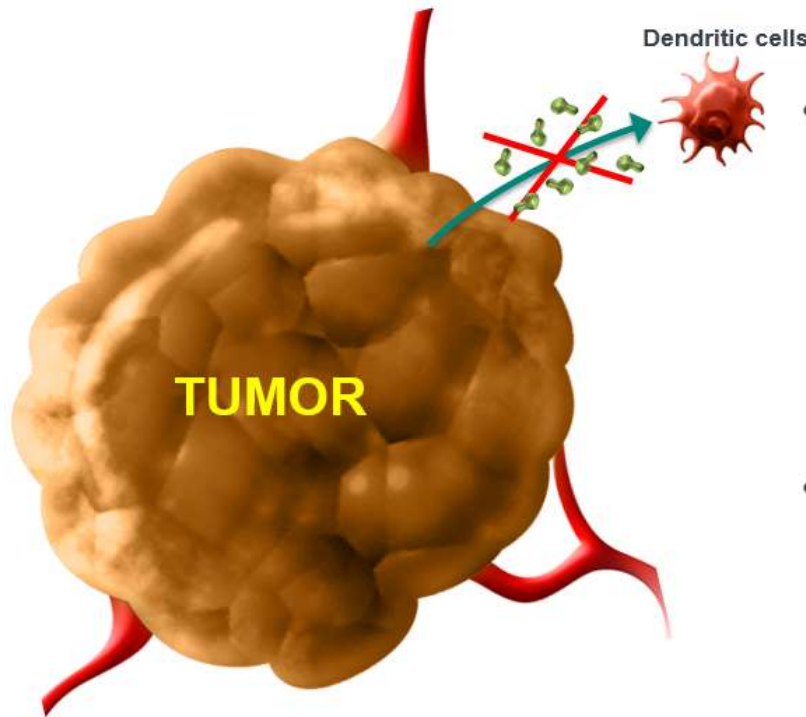
⇒ increase in efficiency



Evasion of the Immune Response Is One of the Emerging Hallmarks of Cancer¹



1. Loss of Antigen Expression



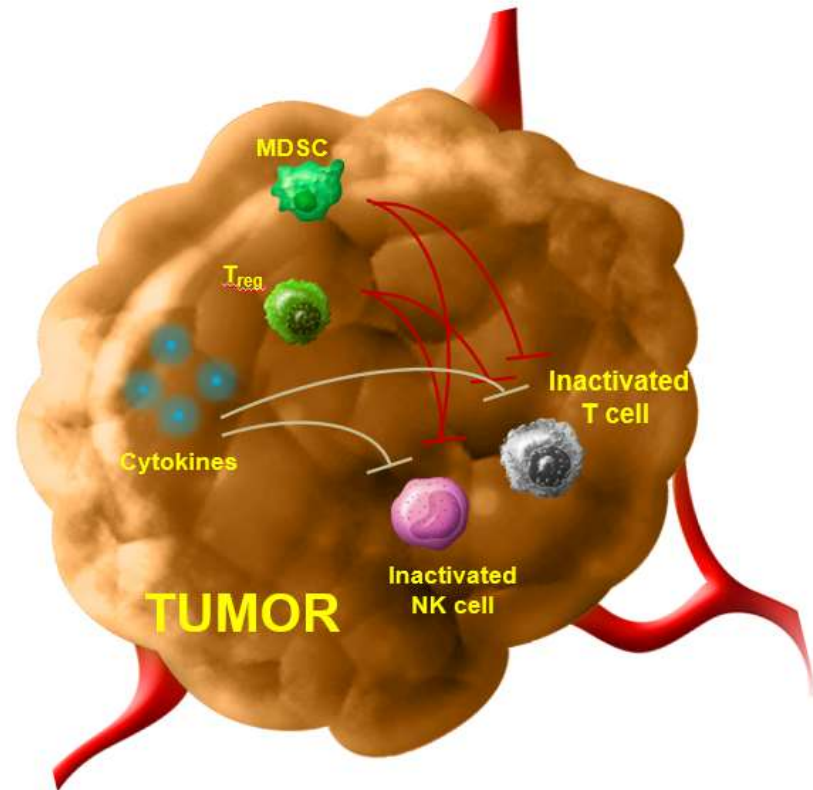
- In the adaptive immune response, the first step of tumor cell detection is antigen capture and presentation by dendritic cells¹
- Tumors can escape detection by decreasing or completely shutting down antigen expression²

1. Pinzon-Charry A et al. *Immunol Cell Biol.* 2005;83:451–461.

2. Ahmad M et al. *Cancer Immunol Immunother.* 2004;53:844–854.

2. Secreting Immunosuppressive Cytokines and Recruiting Immunosuppressive Cells

- Tumor cells can secrete cytokines (TGF- β , IL-10, VEGF) that have an inhibitory effect on T and NK cell function¹
- Tumor cells can be infiltrated by immunosuppressive cells that can inhibit T cell function²:
 - T_{reg} cells
 - MDSCs



TGF- β = transforming growth factor β ; IL-10 = interleukin10; VEGF = vascular endothelial growth factor; NK = natural killer; T_{reg} = T regulatory; MDSCs = myeloid-derived suppressor cells.

1. Zou W. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:295–307; 2. Finn OJ. *N Engl J Med*. 2008;358:2704–2715.

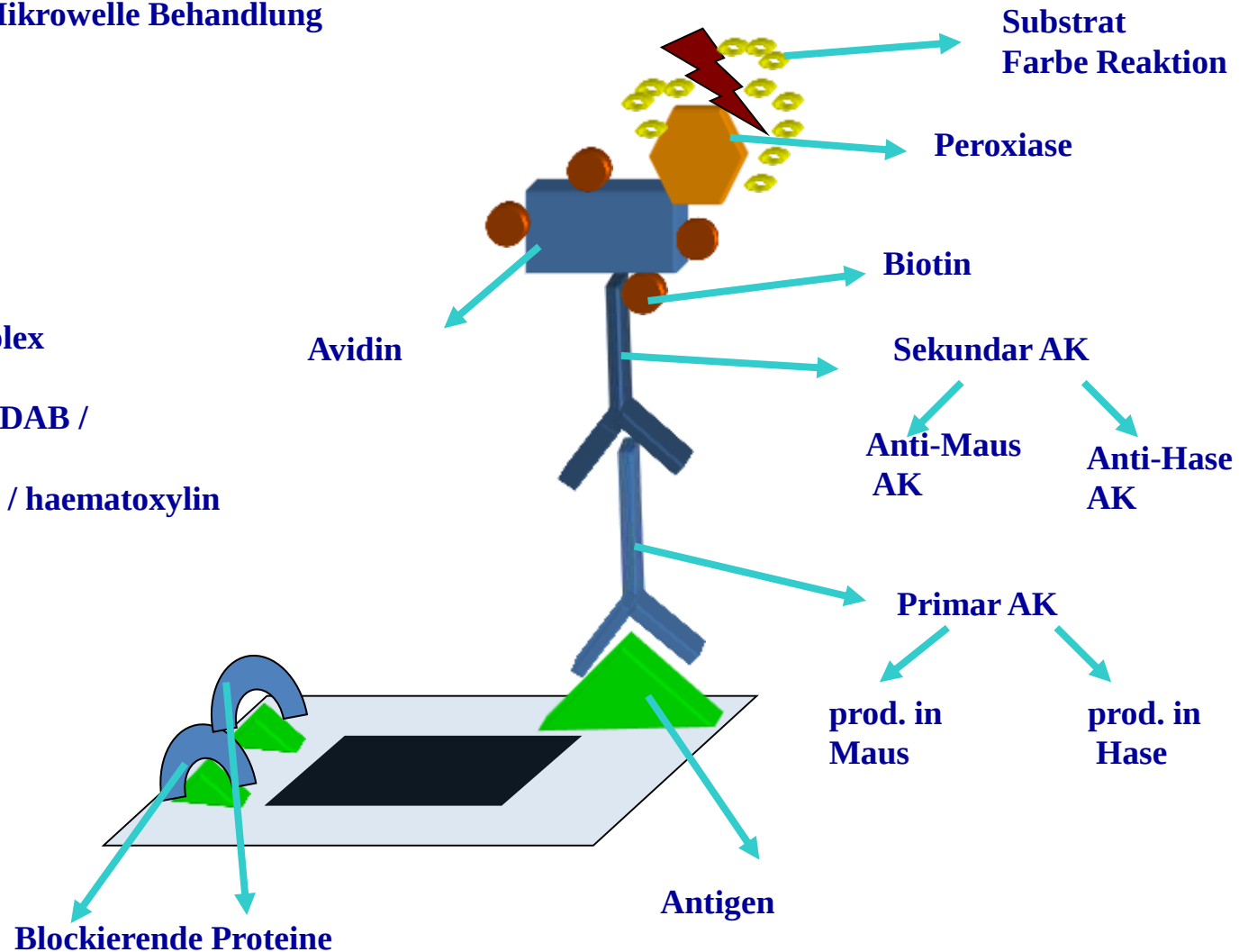
Immunpathologie

Immunhistochemie



Immunhistochemie

- Deparaffinization
- Antigen Eröffnung / Mikrowelle Behandlung
- Blockierendes Serum
- Primar AK
- Sekundäre AK
- Avidin - Biotin - Komplex
- Peroxidase Reaktion / DAB /
- Hintergrund Färbung / haematoxylin (Nuklei sind blau/)





The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984

Niels K. Jerne, Georges J.F. Köhler, César Milstein

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984



Niels K. Jerne



Georges J.F. Köhler



César Milstein

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984 was awarded jointly to Niels K. Jerne, Georges J.F. Köhler and César Milstein *"for theories concerning the specificity in development and control of the immune system and the discovery of the principle for production of monoclonal antibodies"*.

Immunpathologie

Hypersensitivität Reaktionen



Typ I. Hypersensitivität Reaktion

1. Antigen Exposition
2. Antigen Exposition

IgE Produktion
IgE Produktion/Anhaftung
(Mastzellen, basophyle Leukozyte FcεR)

DEGRANULATION

LTB4
Chemotaktische
Faktoren
Zytokine

Histamin
PAF

Histamin
LTD4

Kemotaxis/Exsudation

PGE2
LTD4E4
Vasodilatation
Erhöhte Gefasspermeabilitat

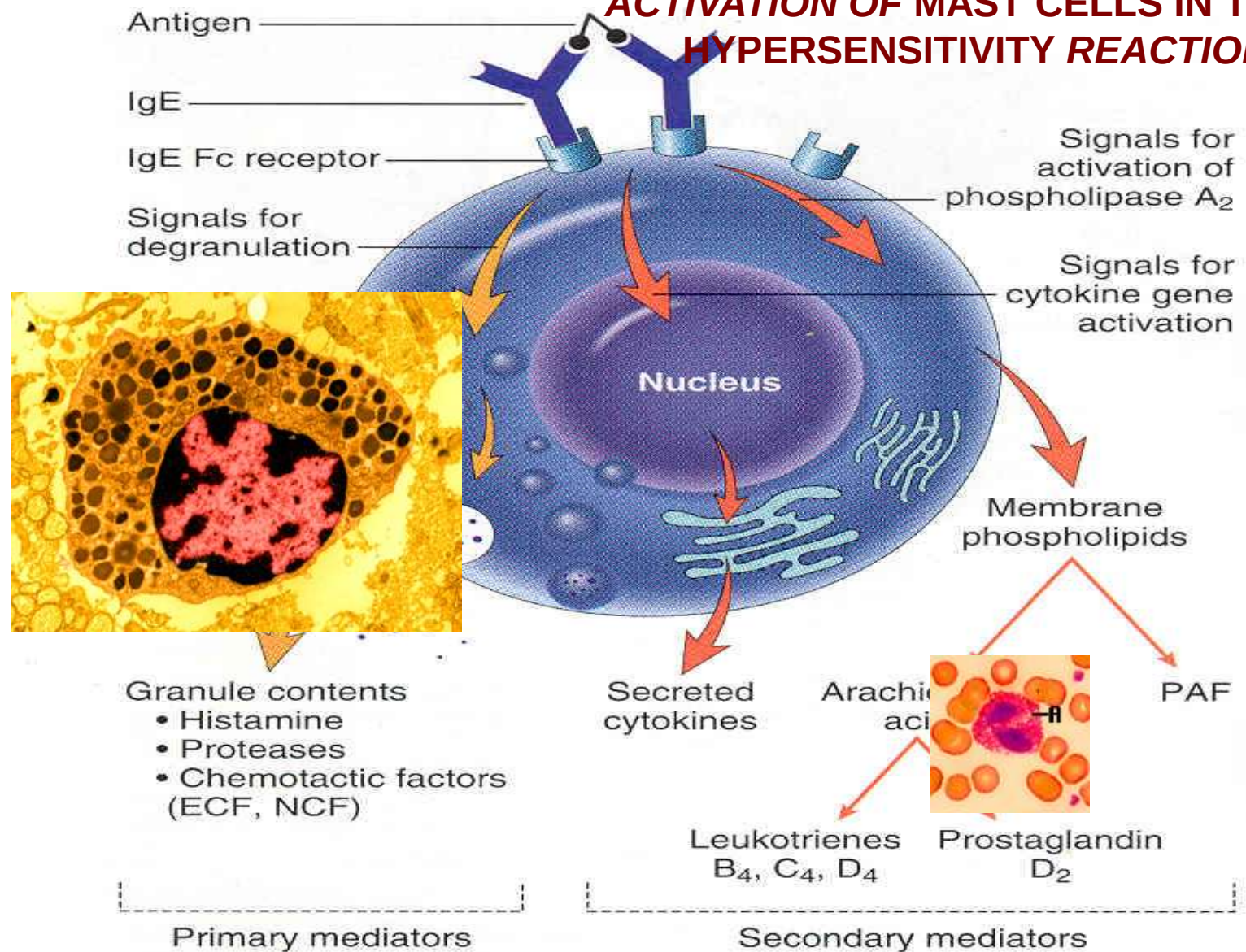
PE
PAF
Spasmus der Glattmuskulatur

Neutrophile
Eosinophyle
Makrophag

Ödem

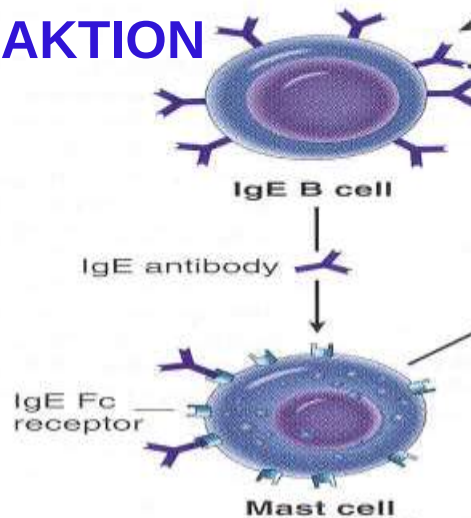


ACTIVATION OF MAST CELLS IN TYPE I HYPERSENSITIVITY REACTION

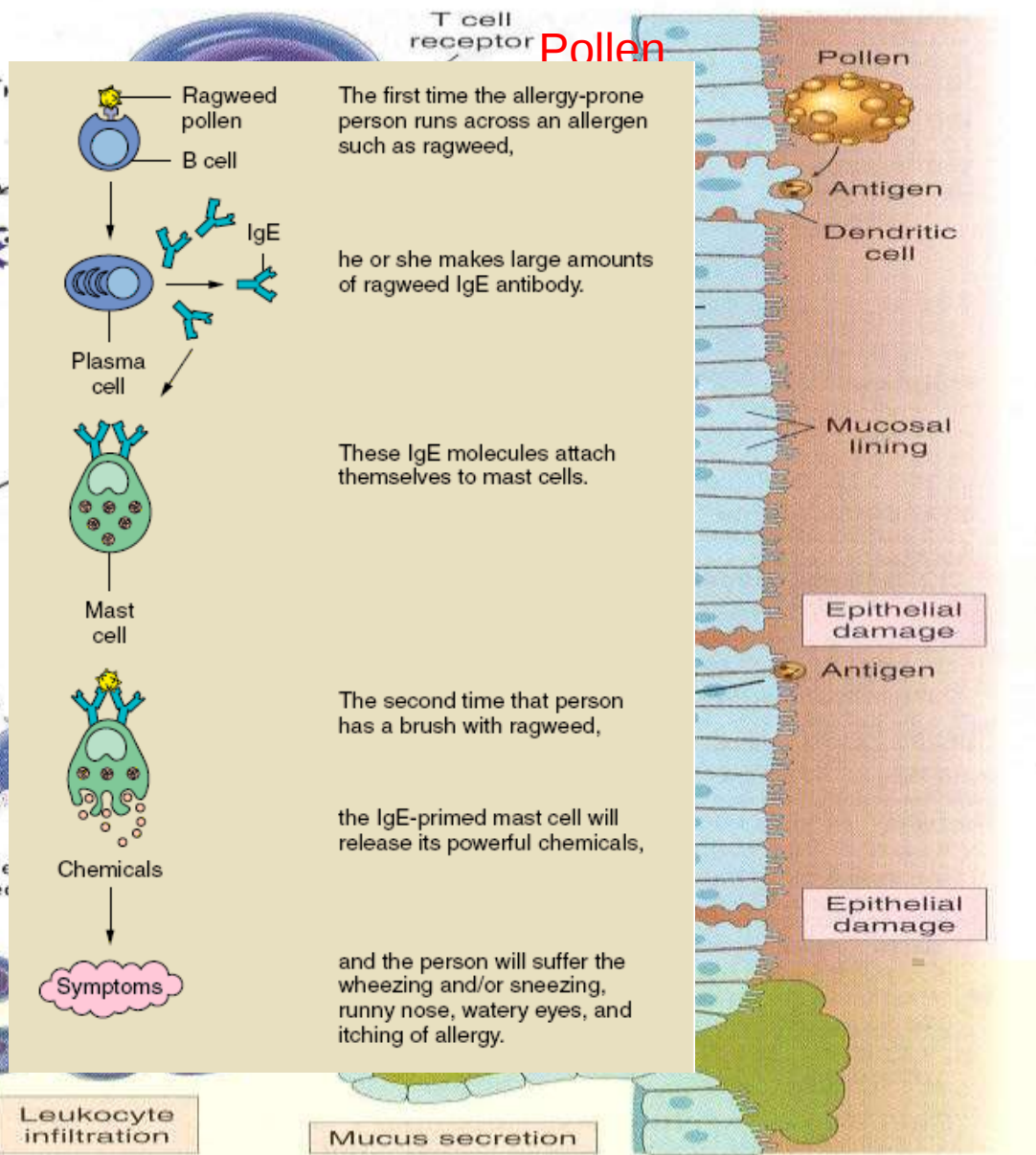
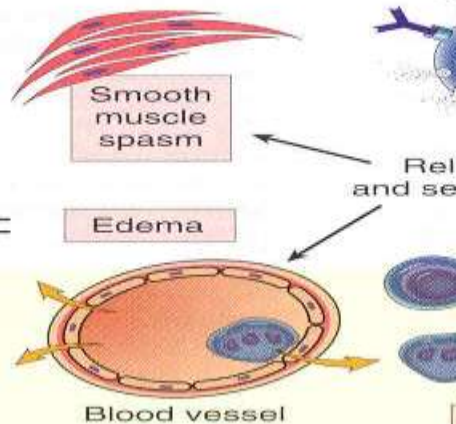


PATHOGENESE der TYP I HYPERSENSITIVITÄT REAKTION

INITIAL RESPONSE



LATE PHASE RESPONSE



Allergie

- ↳ Lokal: Rhinitis, Asthma, Konjunktivitis
 - ↳ Haut: Urticaria, Ekzem, Angioneurotisches
 - ↳ Ödem
- ↳ Systemisch: Anaphylaxischer Shock
- ↳ (Adrenalin: Relaxation der Glattmusk., kein Vasospasmus)



Generalized anaphylactic Reaction



Typ II. Hypersensitivität Reaktion

Komplement-Abhängig

Zielzell AK Bindung

C5-9

Komplement-Abhängiger Zelltod

C1423

Opsonisation/Phagozytose

AK abhängige zelluläre Zytotoxizität

Zielzell AK Bindung (Fc Exposition)

FcR+ Effektorzell-Kontakt (NK Zell, Makrophag)

Zielzell Tod

Anti Rezeptor AK mediert

Anti-rezeptor-AK Produktion

Zielzell AK Bindung

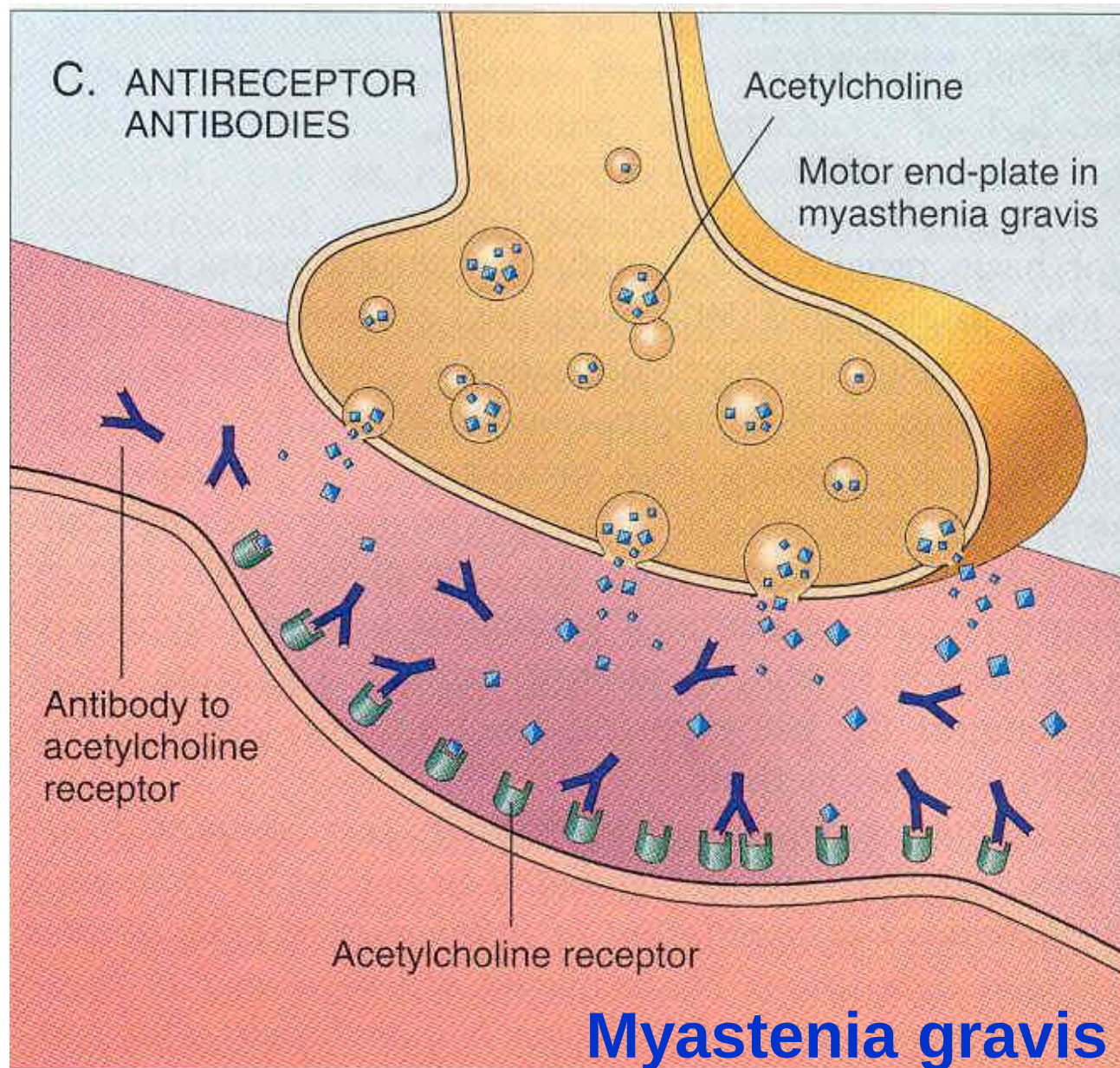
Rezeptor-Hemmung

(AChR, myasthenia)

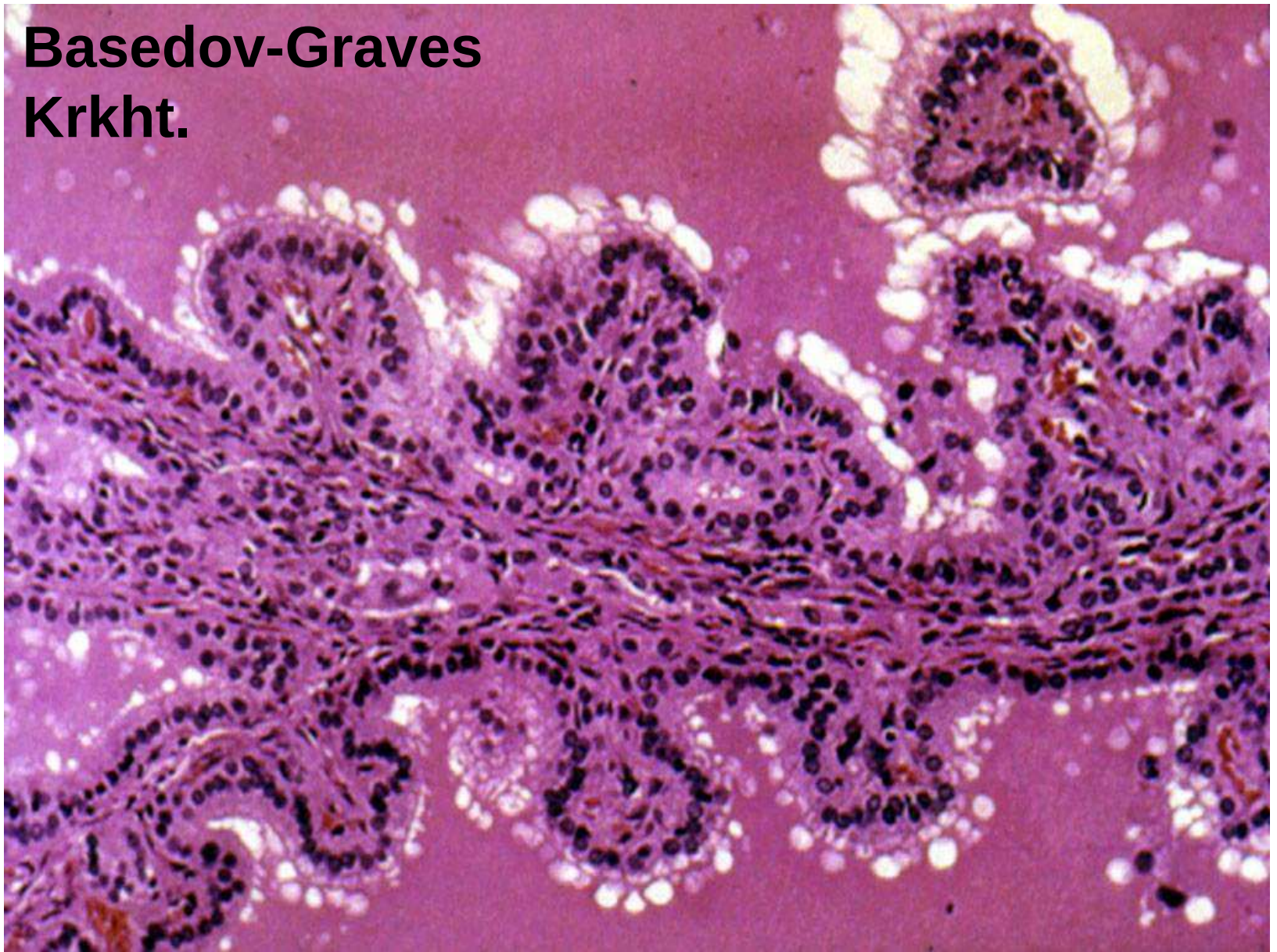
Rezeptor-aktivierung

(TSHR, Hyperthyreose)

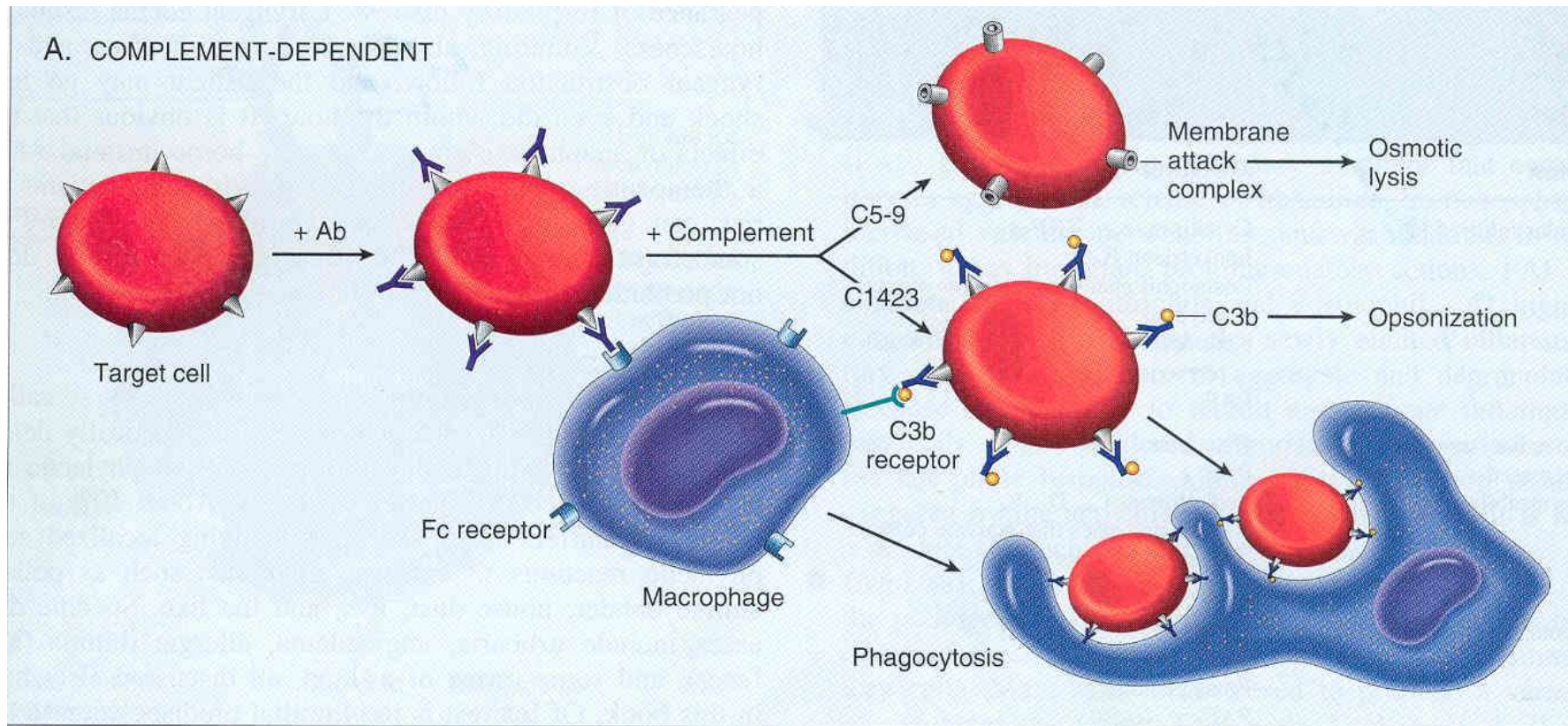




Basedov-Graves Krkht.



Typ II. Hypersensitivitat Reaktion (*zytotoxisch*)

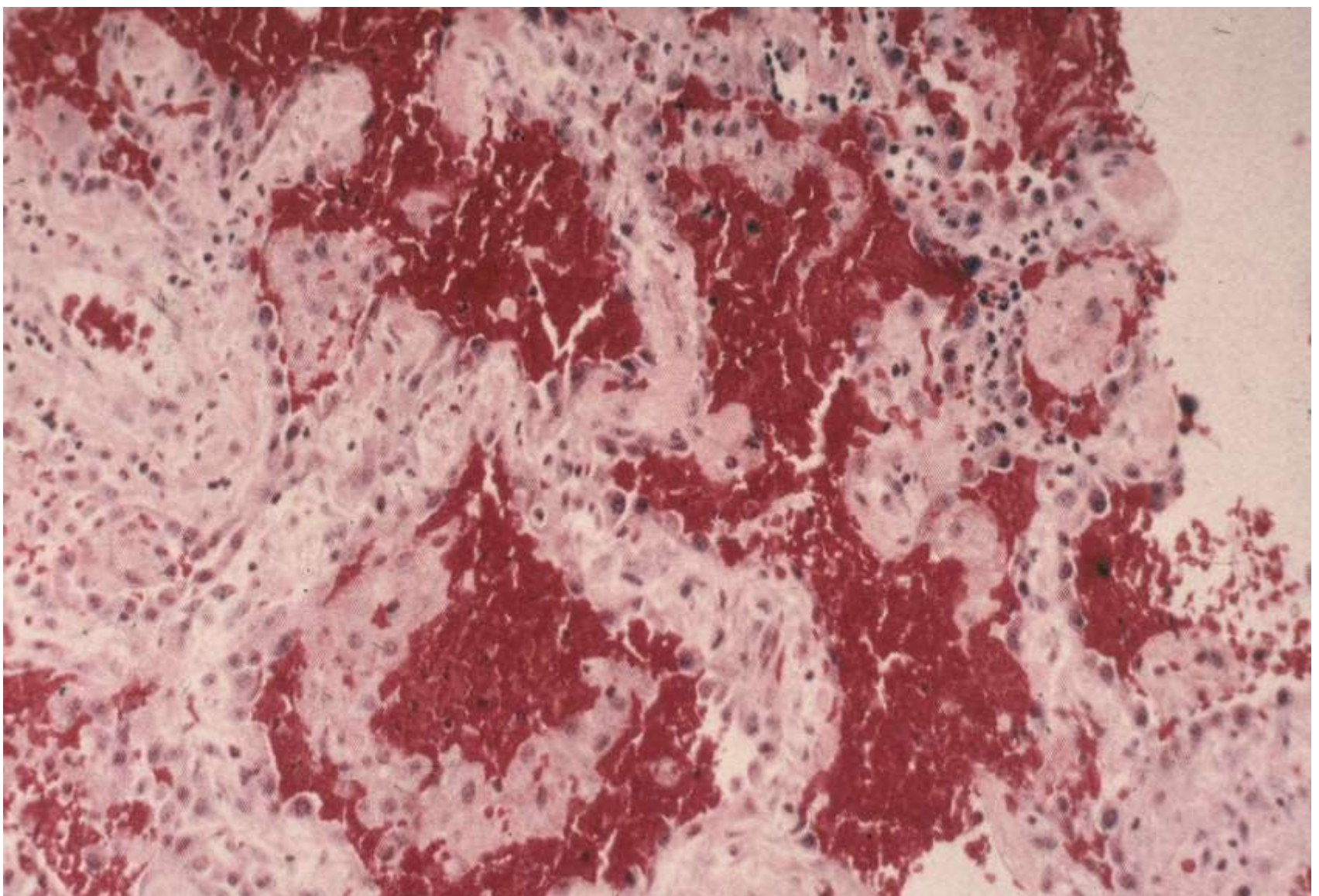




Hydrops foetus universalis

Rh
Inkompatibilitat

(Parvovirus B 19
Infektion)



Lungenblutung. Goodpasture Syndrom



Semmelweis Universität
<http://semmelweis.hu/>

Immunpathologie I.

Prof. Dr. András Kiss
Med. habil., Ph.D., D.Sc.

Typ III. Hypersensitivität Reaktion

2. Antigen-Exposition

Antigen/AK Komplex Entstehung (Zirkulation)
Immunkomplex Ablagerung
(Niere, Leber, seröse Haute, Gefasswand)

Vasodilatation

Neutrophil Migration
Degranulation

Thrombozyt Aggregation
Mikrothrombus

Ödem

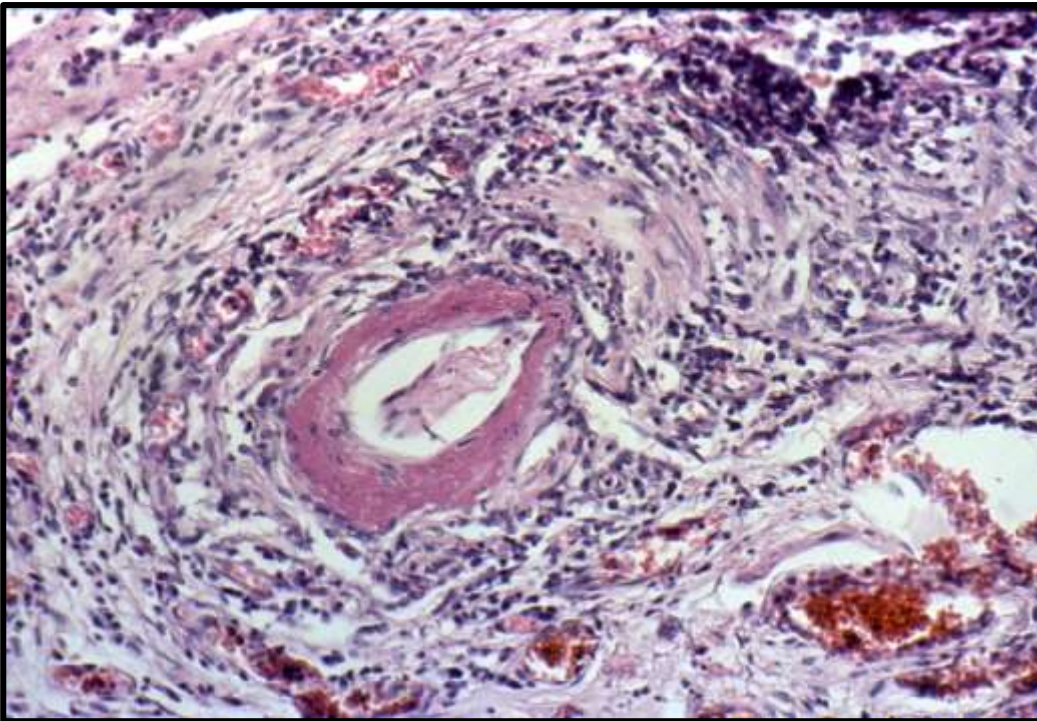
Ischemie

Gewebsnekrose



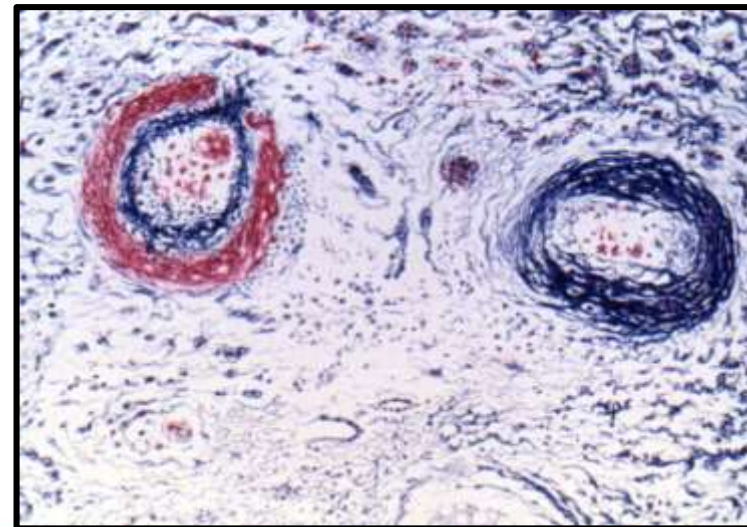
Patomechanismus

- ⇒ Akut:
- ⇒ AG/AT Komplex (Se), Ablagerung, Entzündung.....C3b (Phagozytose)C5b,6/7: Chemotaxis, (Entzündung), C5-9 Membran Attak Komplex...Zelltod
- ⇒ Fibronoide Gefasswandnekrose, Vaskulitis (neu)



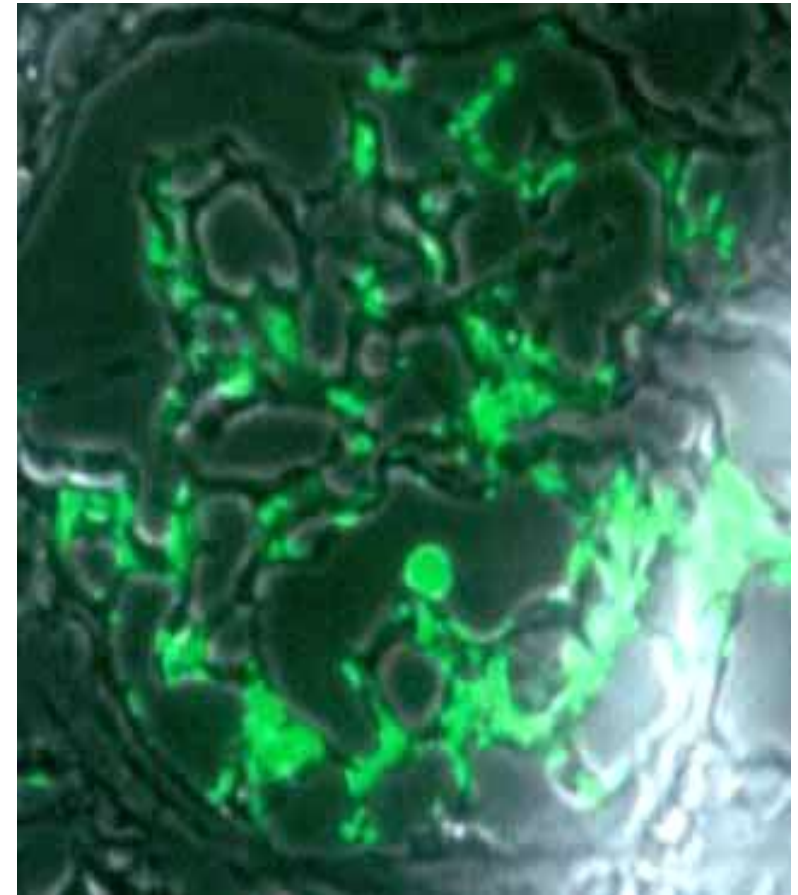
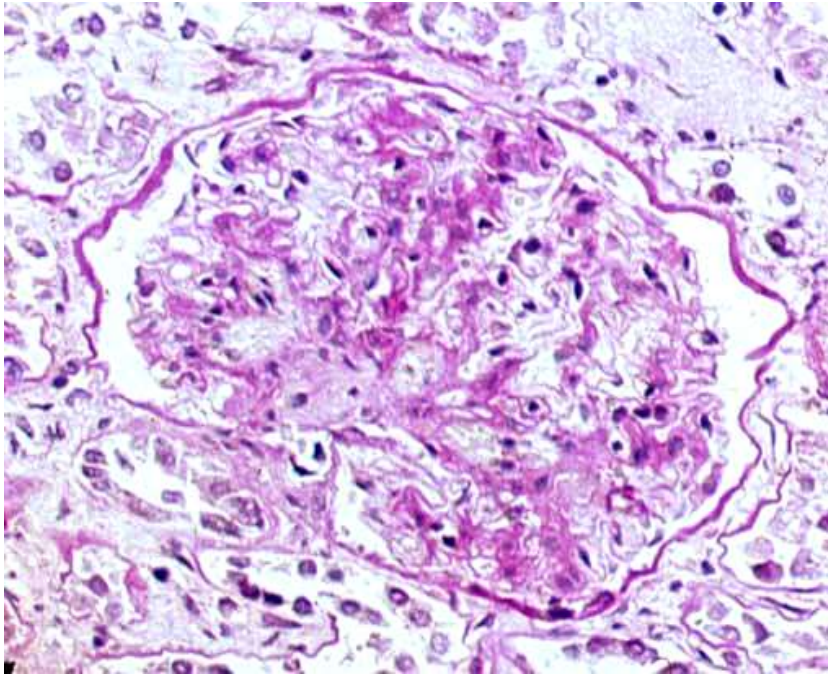
Hauptbefund:

Nekrotisierende Vaskulitis



III. Patomechanismus

- ↳ Chronisch: persistierender Antigen
- ↳ Ursache: „autoimmune Krankheit“
- ↳ Schlangengift Antisera, Maus anti-human T Zell Serum, bakterielle Streptokinase, iv. Penizillin



Typ IV. Hypersensitivität Reaktion

A. Späte Hypersensitivität

2. Antigen-Exposition
TNF α , IFN γ)

Lymphozytare Akkumulatio

dendritische Zell – T Zell Kontakt/Kopplung (IL-2,

Fibroblast-Proliferation Makrophag-Aktivierung

Gefäßneubildung epitheloide Zelle

Riesenzell –Bildung

(Langhans-sche, Fremdkörper Typ)

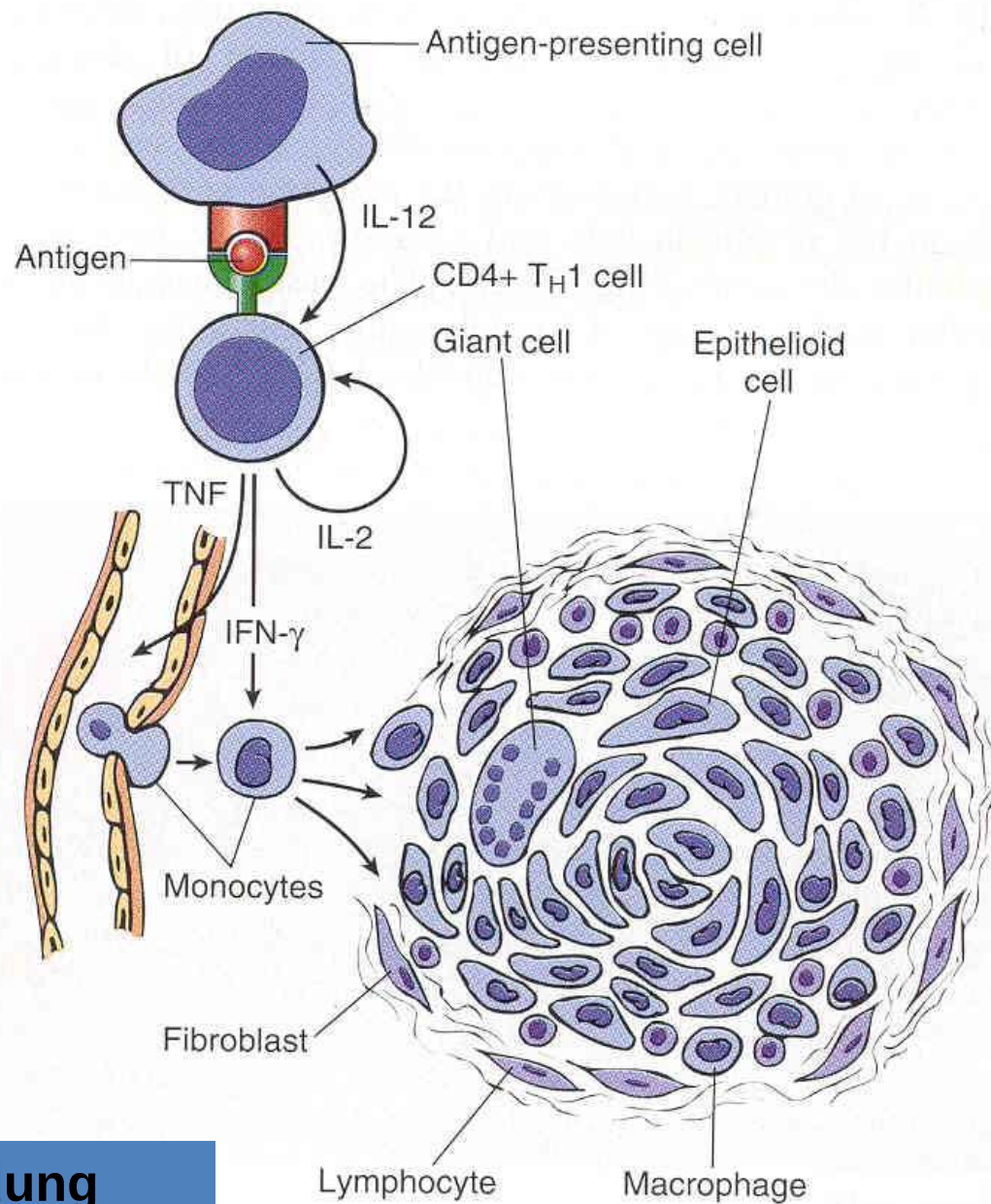
B. T-Zell medierte zelluläre Zytotoxizität

Fremd-Antigen-tragende Zielzell (virus-infizierte Zelle, Allograft)

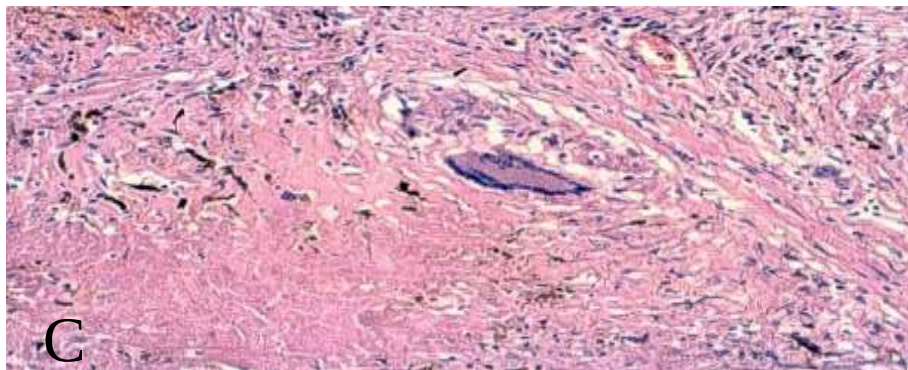
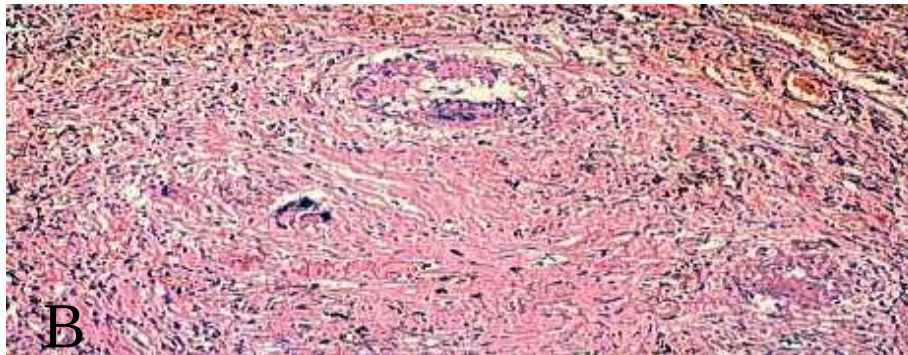
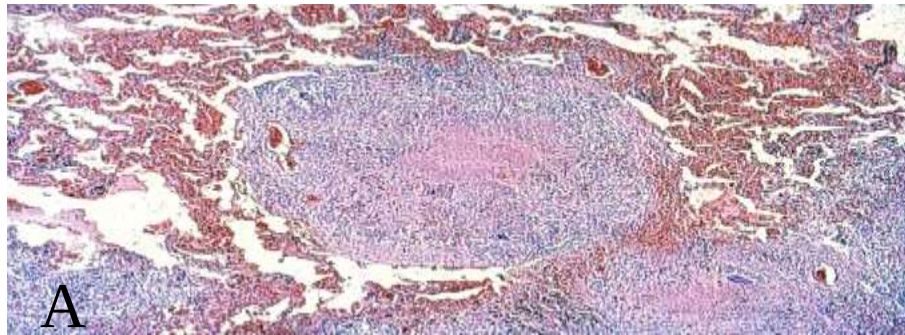
CD8+ T sejt aktiváció

Zell/





Granulom Bildung



TBC-Lunge



Semmelweis Universität
<http://semmelweis.hu/>

Immunpathologie I.

Prof. Dr. András Kiss
Med. habil., Ph.D., D.Sc.

Immunpathologie



Defektimmunopathien

Angeborene

Stammzelldefekte → schwere kombinierte Immundefizienz

z. B. Schweizer Typ der Agammaglobulinämie
thymische Alymphoplasie

Tod innerhalb der ersten zwei Lebensjahre

B-Zell-Defekte → bakterielle Infektionen

Agammaglobulinämie: fehlen die B-Zell-Areale

Selektiver Antikörpermangel - Dysgammaglobulinämien

IgA und IgG-Mangel (IgM oft erhöht)

IgA-Mangel → Sprue. Vorsicht bei Substitution

IgA ist ein starkes Antigen

T-Zell-Defekte → virale und Pilz-Infektionen

gehäuft maligne Tumoren

DiGeorge-Syndrom: Thymus-Aplasie, kardiovaskuläre Def.

Ursache: virale Embryopathie

Nezelof-Syndrom: Hypoplasie des Thymus

fehlen T-abhängiger Immunphänomene

Tuberkulinreaktion, Transplantatabstoßung

Ataxia teleangiectatica (Luis-Bar-Syndrom)

Thymushypoplasie, Teleangiektasien

Degeneration der Purkinje-Zellen



Phagozyten-Defekte, Defekte der Bildung aktiver O₂-Radikale

Chediak-Higashi-Syndrom

Autosomal rezessive Vererbung

Riesenlysosomen in Granulozyten und Makroph.

Pyogene Infektionen, Lymphomen (85 %)

Besserung durch Vitamin C

Komplementdefekte (hereditär)

C1 Inaktivatormangel → C1 Spontanaktivierung nicht

gebremst, Bildung von C2 Kinin →

Permeabilitätssteigerung → Urticaria, Ödem

C2-Defekte assoziiert mit Lupus erythematosus

disseminatus, Glomerulonephritis

Dermatomyositis

C3-Defekte → eitrige Entzündungen – Sepsisneigung

Defekte der terminalen komponenten (C5 bis C9)

machen wenige klinische Erscheinungen



Erworbenes Immundefektsyndrom

Defekte des humoralen Systems:

Hypoproteinämie durch gestörte Proteinzufuhr
durch Proteinverlust
B-Zell-Tumoren → Gammopathien

Defekte des Zellulären Systems:

Proliferationsstörungen: Immunsuppression
 Zytostatika
 T-Zell-Tumoren
Abnorme T-Zell-Funktion: Viren, AIDS
 chronische Infekte



Immunsuppression = therapeutische Unterdrückung der
Immunreaktion bei Autoaggressionskrankheiten
Transplantatabstoßungsreaktionen

Gefahr: schwere Infektionen, erhöhtes Tumorrisiko

Ursachen: Zytostatika (z. B. Azathioprin) zerstören die
proliferierenden Lymphozyten

Bestrahlung des ganzen Körpers oder der zentralen
Immunorgane → Lymphopenie

Corticosteroide → Schwund der immunkompetenten
B- und T-Lymphozyten

Antilymphozytenserum → Agglutination und Zytolyse
der B-Zellen

Cyclosporin A unterdrückt die von den T-Helferzellen
propagierte Interleukin-I-Synthese
macht die T-Zellen für Interleukin II
unempfindlich



Vererbte Immundefizienz, humoral

- ↪ X-verbundene Hypogammaglobulinaemia (Bruton), BTK Defizienz, nur propreB Zelle

Enterale Infektionen (Viren, Giardia, Mycopl.)

- ↪ vorübergehende Hypogammaglobulinaemie (T helper)
- ↪ Hyper-IgM (CD40L Defizienz)

Kein Isotyp Wechsel, Ursache: CD4+T Zell Funktionsstörung (IgA, IgE IgG Defizienz), pathologische IgM, kein Keimzentrum ...

- ↪ Variablen Hypogammaglobulinaemie (B und T Störung)
- ↪ Selektive IgA Defizienz (häufigste !!)

C4A-del, CD8+T Störung, Isotypwechsel Störung: Darm und Haut Infektionen ...

- ↪ 5'-nukleotidase Defizienz: nur preB Zelle



Vererbte Immundefizienz, zellulär

↳ Di-George (Thymus Aplasie, 22q11del)
Herzentwicklungsstörungen+ Hypoparathyr.),
Entwicklungsanomalierendellenesség (3/4
Rachenring), nur preT Zelle

↳ Chr. mukokutane Candidiase



Vererbte Immundefizienz, gemischt

↪ SCID: CYKR g-Kette Mutation

Hauptsächlich T Zell Problem (X-verbunden, Junge)

↪ Adenosin deaminase Defizienz (autos.-rezessiv)

dATP toxisch für die T ZelleDNA Läsion!!

↪ Purinnukleotid foszforilase-Defizienz (dGTP toxisch, T, DNS!!!)

↪ Wiskott-Adrich syndrom (X-verbunden, Junge)

Xp1123 Gen Defizienz

Infektionen, Thrombocytopenie, Ekzem

↪ Ataxia teleangiectasia .

Thymus hyoplasie, Lymphknote Atrophie, T+IgG/IgA Defizienz (DNS Repair Gen)

↪ Retikuläre Dysgenese (Myel., Ly. Stammzell Störung)

↪ Nackte Lymph. Syndrom (HLA-II Defizienz), CD4T Problem: CIITA, RFX Transkriptionsfaktor Störung

↪ Niedrige HLA-I Expression (Peptidtransporter Störung) CD8 Störung.....



Erworbene Immundefizienz, AIDS

- HIV1/2 INfektion verursacht selektive CD4 Defizienz
- Sexuelle, hamatogene, transplazentare Übertragung
- Zielzelle: CD4+T (gp120HIV), zytotoxisch
- Zielzelle: Makrophag (nicht toxisch, Reservoir, Endothel ?)
- Solubile gp120+CD4T/anti-gp120 ADCC

A I D S - acquired immune deficiency syndrome – erworbenes Immundefektsyndrom

Defekt der zellulären Immunität → oportunistische Infektionen

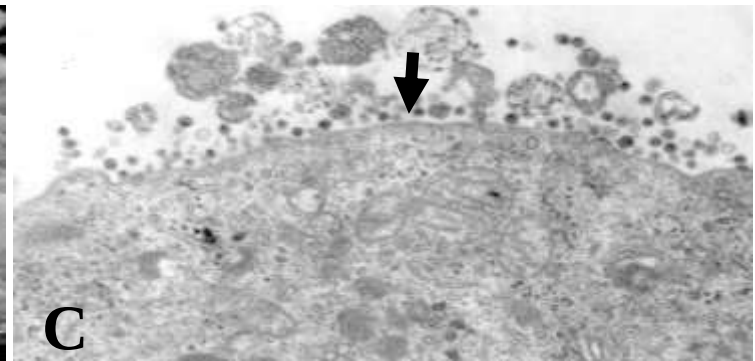
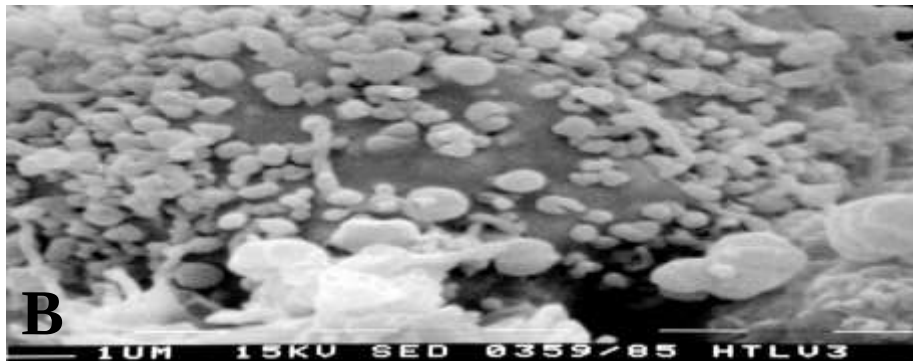
Ursache: humanes Immundefektvirus (HIV)

Übertragung: mit Blut
durch Muttermilch
transplazental
Sperma
Stechfliege?

Hauptrezeptor: CD4-Antigen auf den T4 Lymphozyten
für gp120 Makrophagen
Haut-Langerhans-Zellen
follikuläre Retikulumzellen

Nebenrezeptor: Galaktosylceramid Oligodendrozyten
follikuläre Retikulumzellen

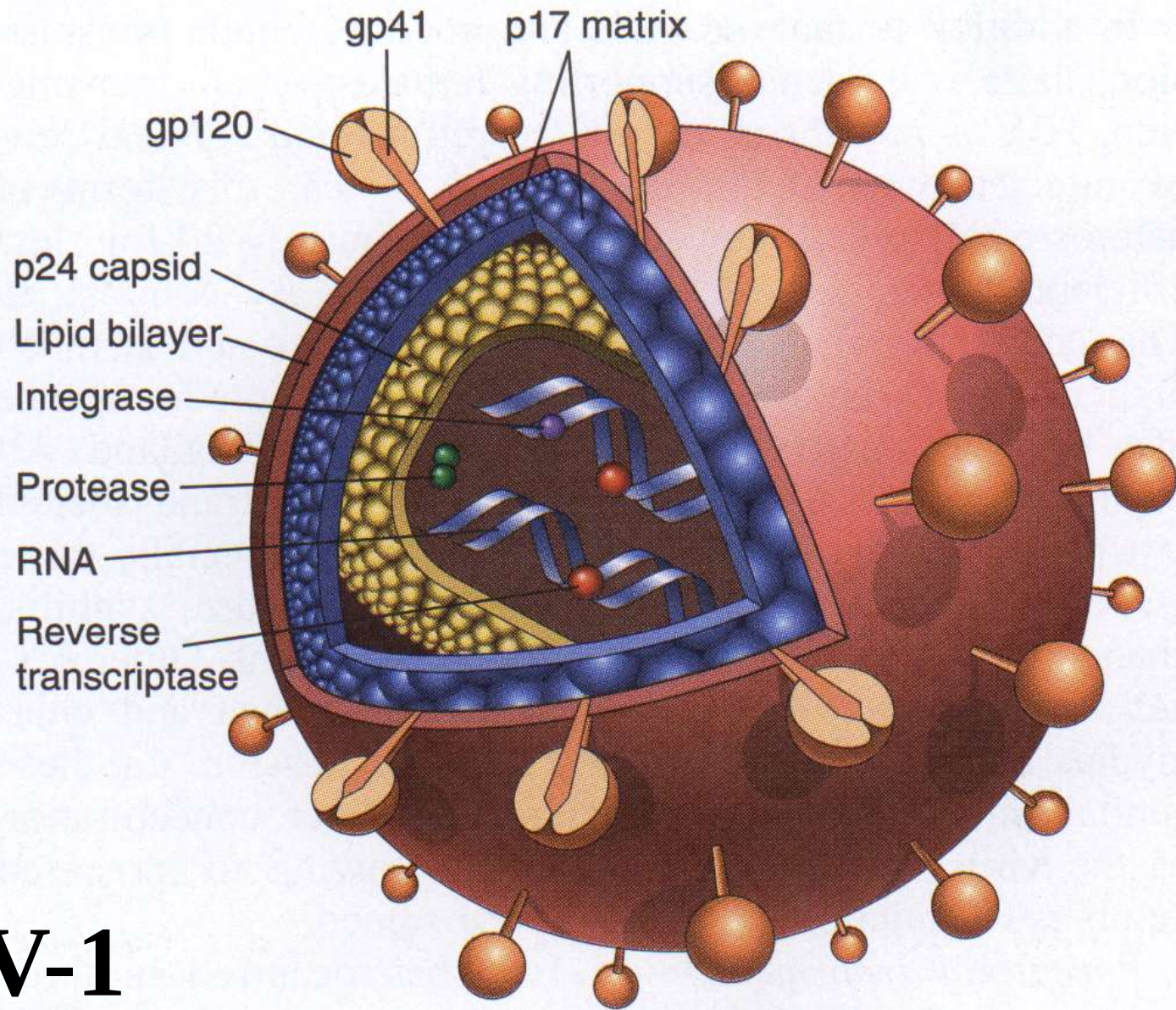




CD4/CD8 Verhaltniss: 2-4/1

HIV Infektion: ermindert / umgekehrt





HIV-1



Globale Seuche

HIV-Infizierte 2005, in Millionen

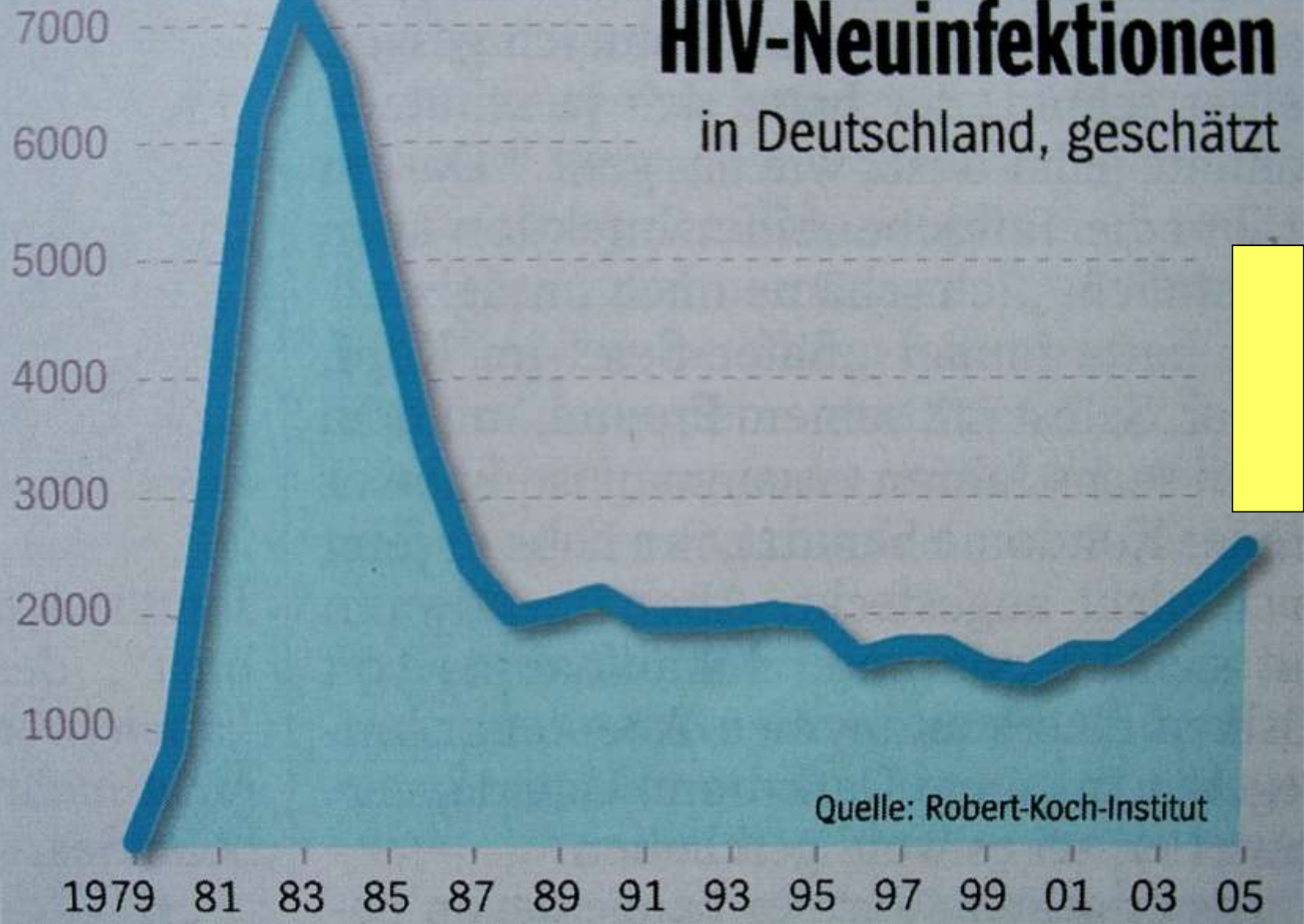




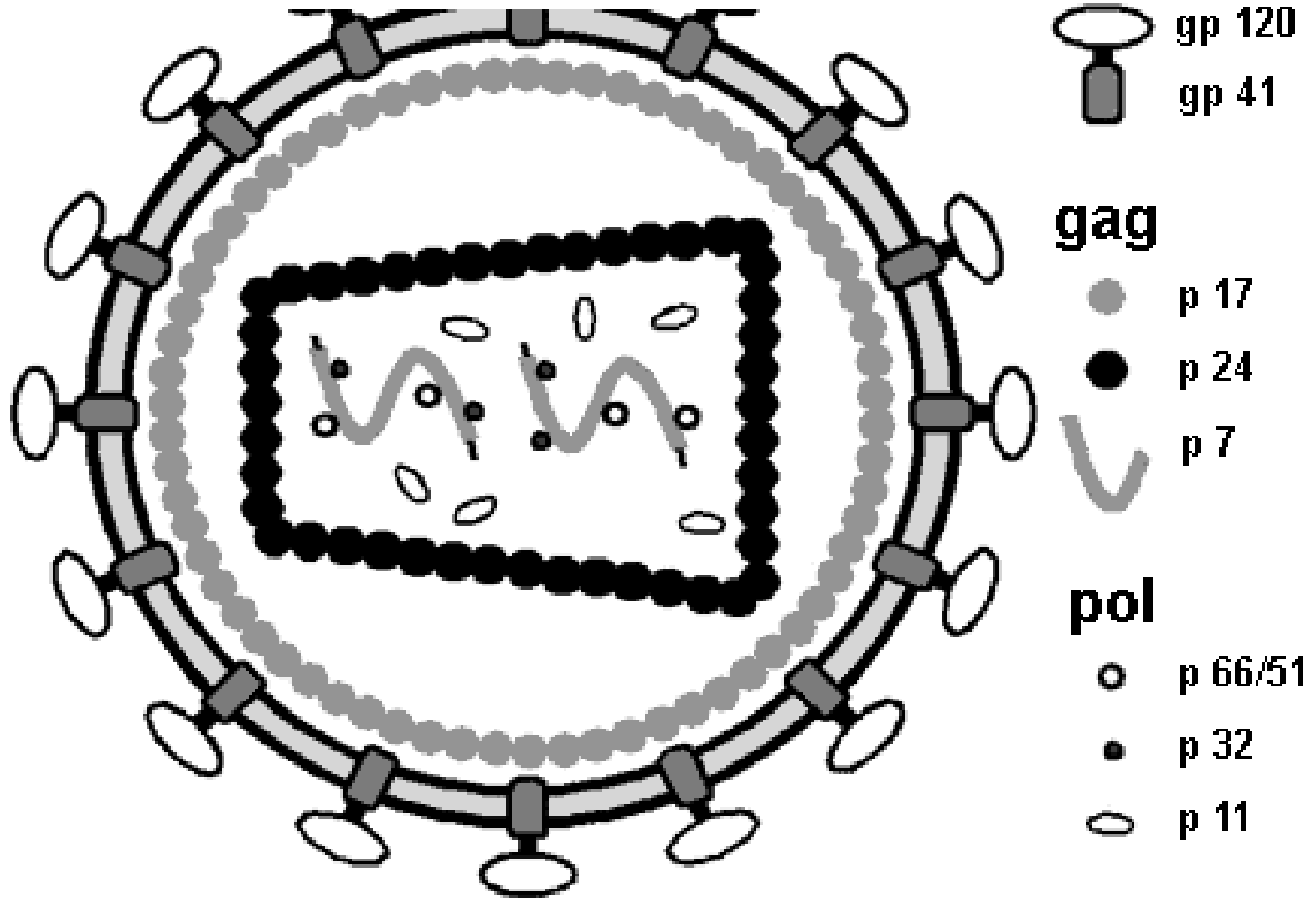
AIDS-Tote in Kenia - apokalyptischer Zustand
in Afrika verheert das Virus Völker und Volkswirtschaften

HIV-Neuinfektionen

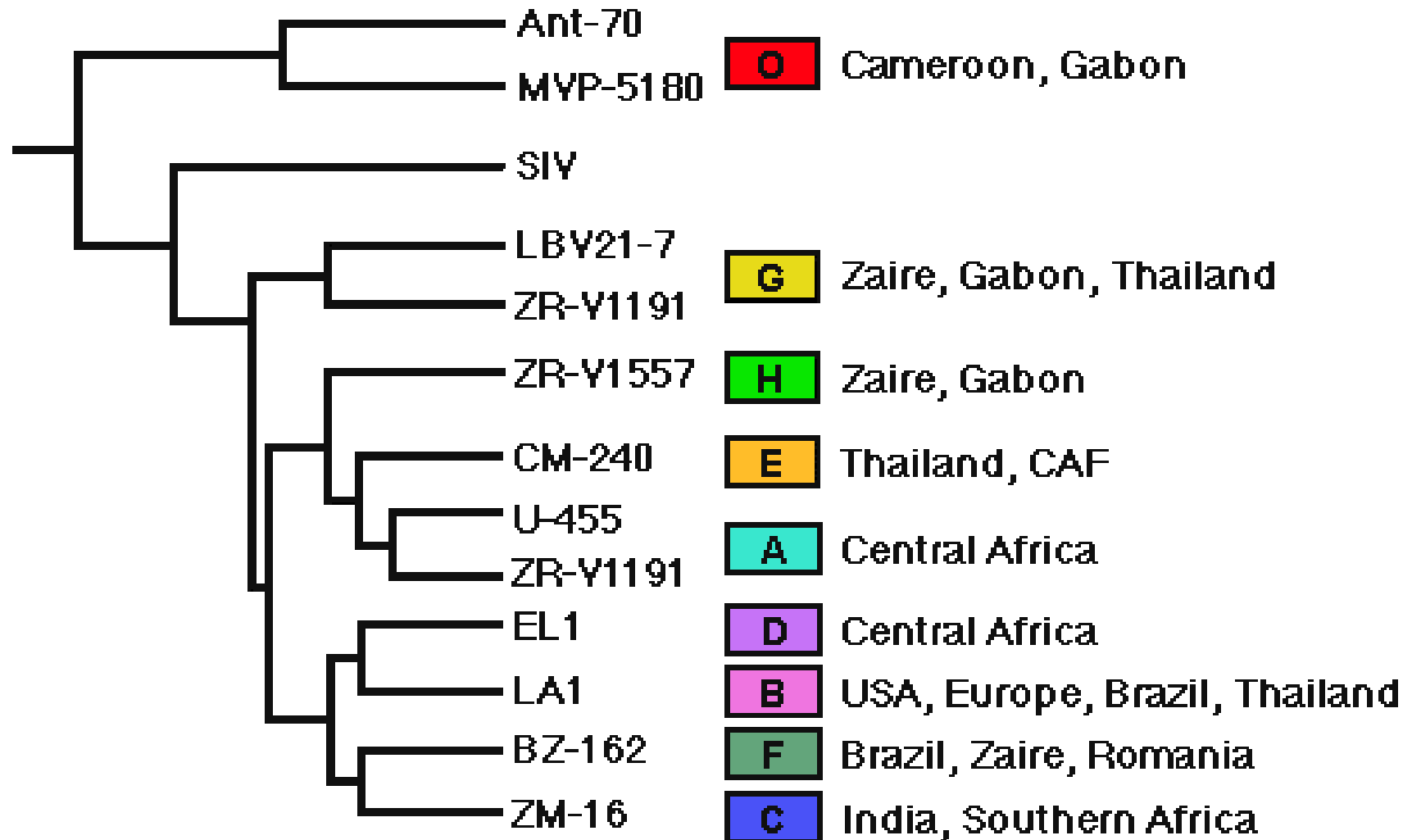
in Deutschland, geschätzt



structural components of human immunodeficiency virus,
the key antigenic components are diagrammed here



Evolutionary Relationships of HIV-1 Subtypes



the phylogeny of human immunodeficiency virus (HIV) subtypes and simian immunodeficiency virus (SIV)

- Blut: Lymphopenie T4 <<<T8
- Lunge: Pneumozystis-Pneumonie
Zytomegalie-Pneumonie
lymphoide intersitielle Pneumonie
desquamative interstitielle Pneumonie
diffuses Alveolarschadensyndrom
lymphoreticuläre Hyperplasie
- Lymphknote: Lymphadenopathie
non-Hodgkin Lymphome
- Haut: Kaposi-Sarkom
- Darm: B-Zell-Lymphome
Kaposi-Sarkom bei 25% aller AIDS-Kranken
- Leber: Portalfeld-infiltration
- Gehirn: multifokale Leukoenzephalopathie
opportunistische Infektionen
Pneumocystis carini
Candida albicans
Toxoplasma gondii
Mycobacterium tuberculosis
Herpes und Zytomegalie Viren

AIDS Ablauf

- Lymphknoten: folliculäre Hyperplasie (B), HIV+T-Zone, CD4->500/ul, p24+
- Folliculäre Involution (Störung der dendritischen Zellen), latent AIDS:CD4T ermindert, Virus is gesteckt
- Opportunistische Infektionen: Krise, Vraemie, CD4T<200/ul
- Milz, Thymus Atrophie, Demenz (Mikroglia)
- Kaposi Sarkom (HHV8-Angiosarkom), B-non-Hodgkin Lymphom (Gehirn), Zervix cc. -HPV

Opportunistische Infektionen in AIDS

Helminthiase

Strongyloides

Gastroenteritis, Sepsis

Protozoa

Pneumocystis carinii

Pneumonie

Toxoplasma gondii

Enzephalitis, disseminierte Form

Cryptosporidium

Enteritis

Isospora belli

Enteritis

Pilze

Candida albicans

Ösophagitis

Cryptococcus

Meningitis

Histoplasmosis

disseminierte Form

Coccidiomycosis

disseminierte Form

Bakterien

Mycobacterium avium

disseminierte Form

Mycobacterium kansasii

Mycobacterium bovis

extrapulmonare Tuberkulose

Salmonella

Septicaemie

Bakterielle Pneumonie

Rezidivans

Viren

Herpes simplex

mucocutan

bronchial

ösophageal

disseminiert

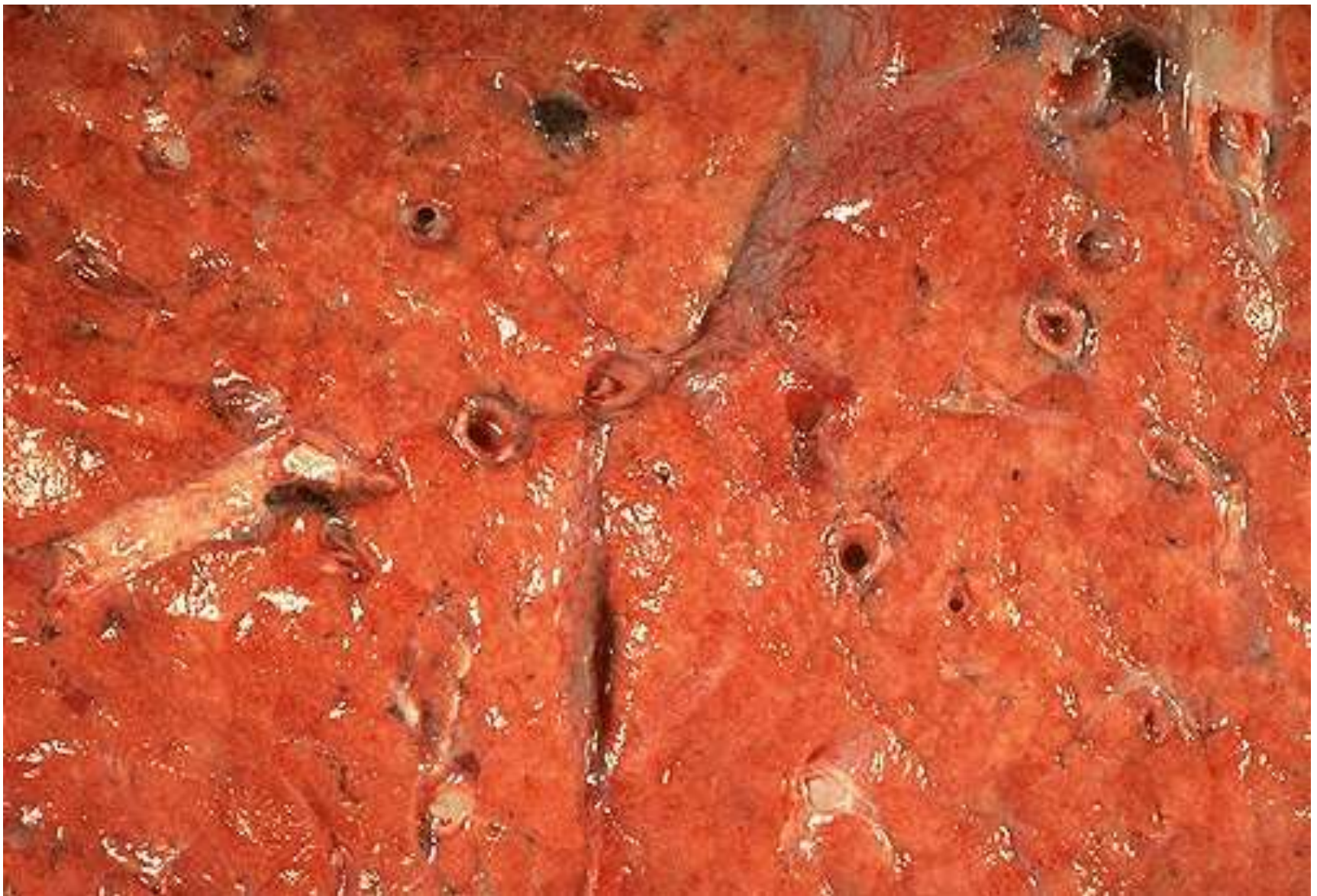
Prion

CMV

vCJ betegség

Leukoencephalopathie



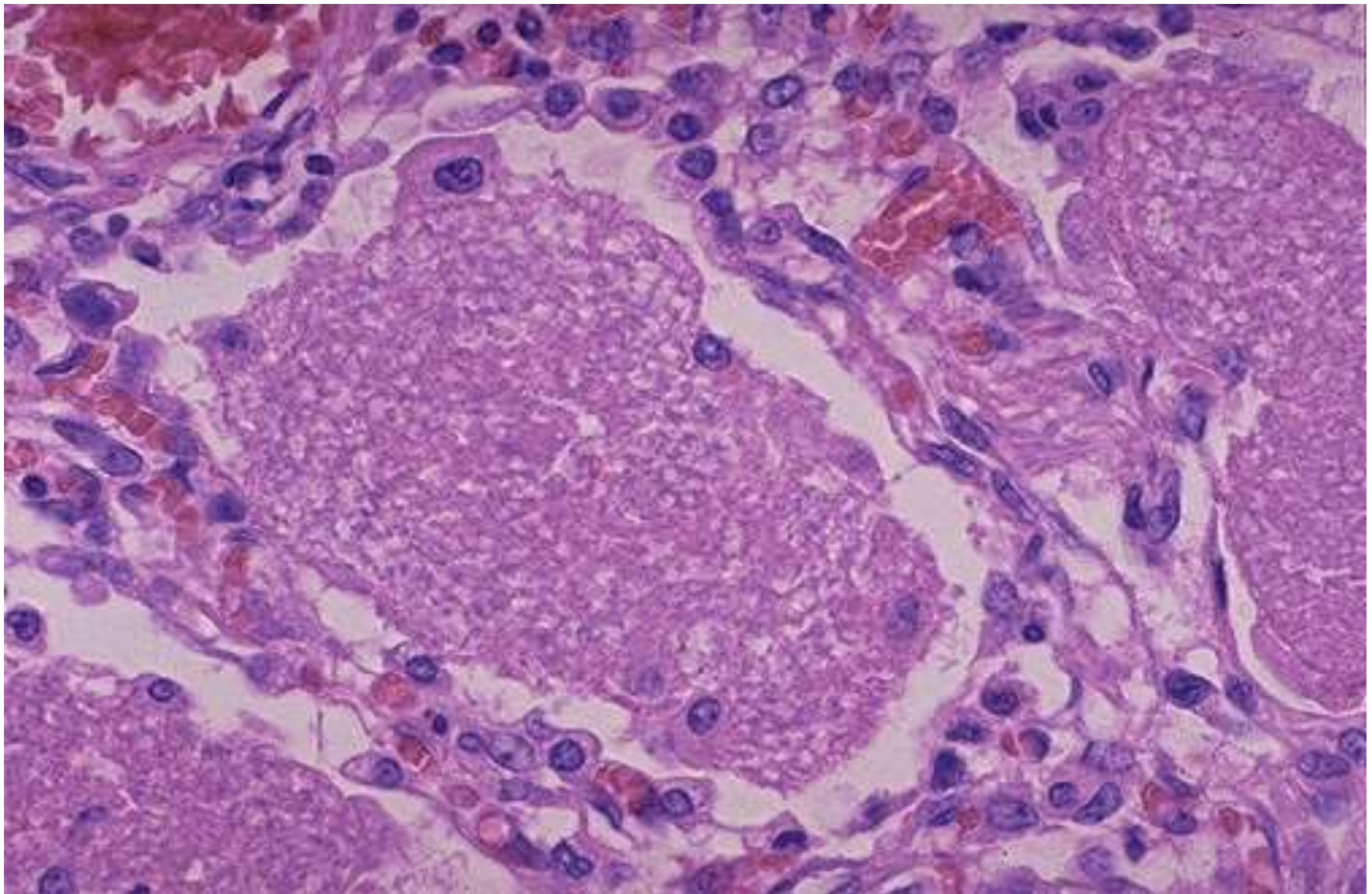


the appearance of *Pneumocystis carinii* caused extensive pneumonia

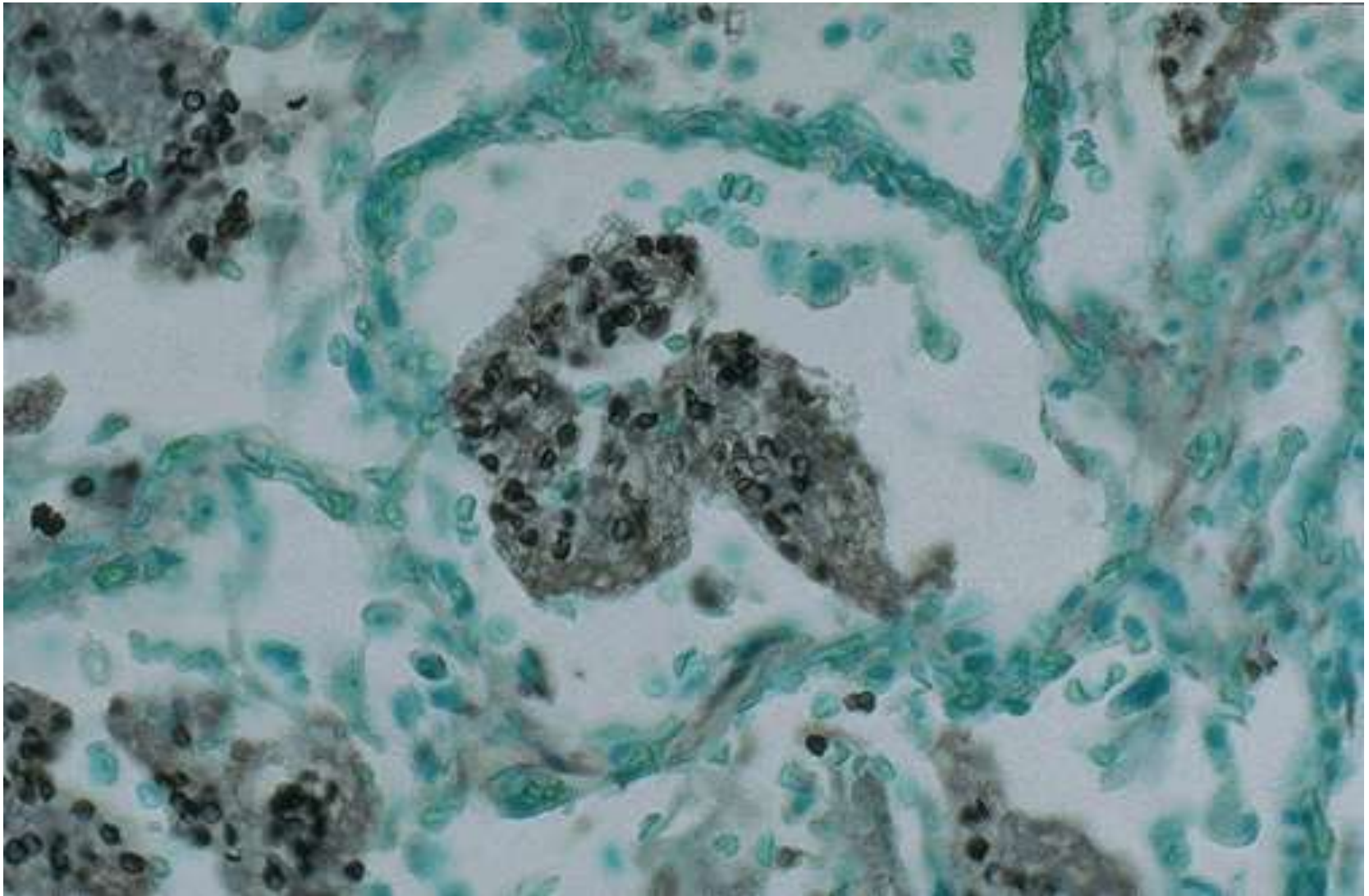




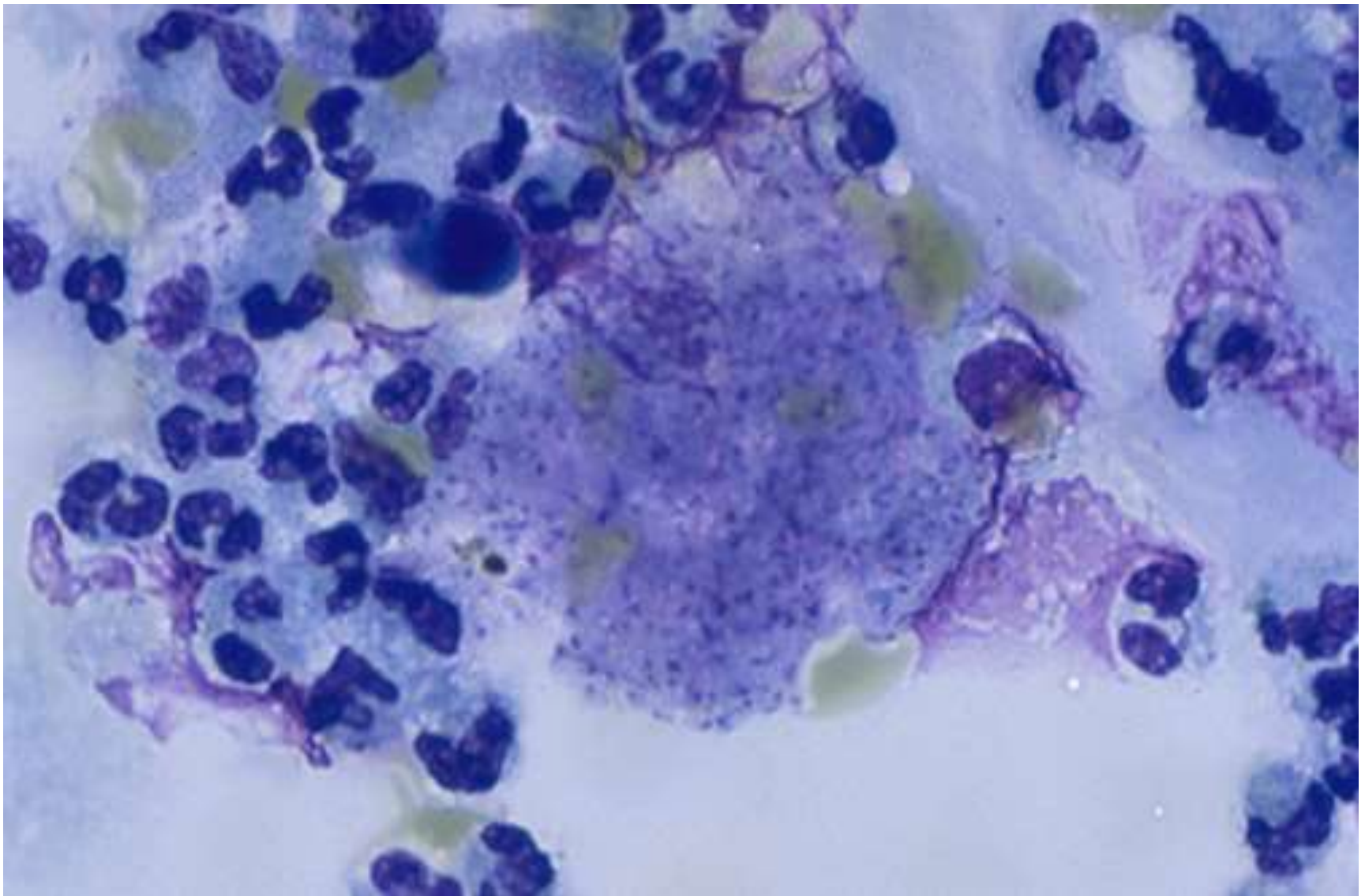
Pneumocystis carinii pneumonia
may produce cavitary change
in rare cases



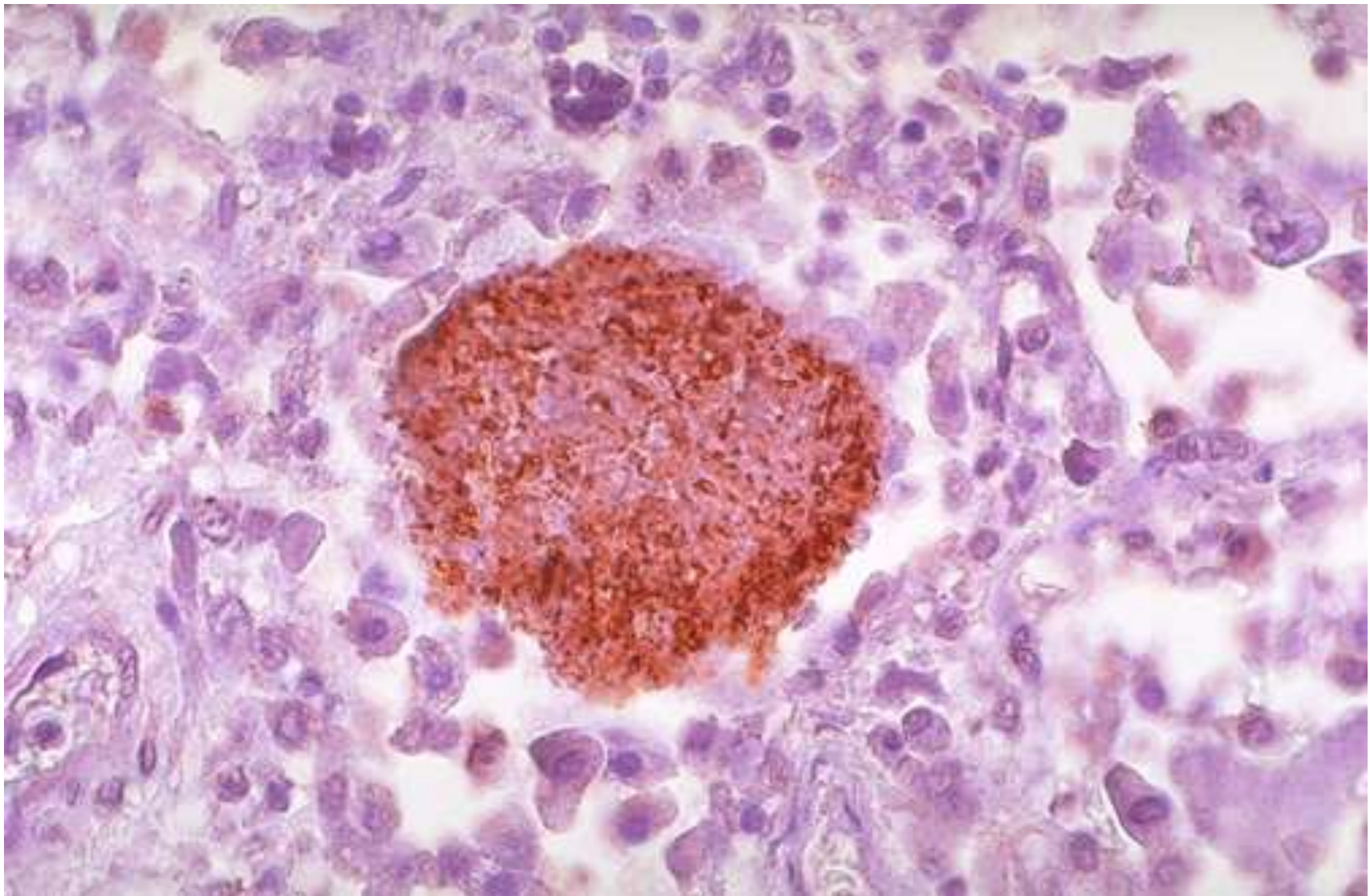
the appearance of *Pneumocystis carinii* in lung with exudate in nearly every alveolus



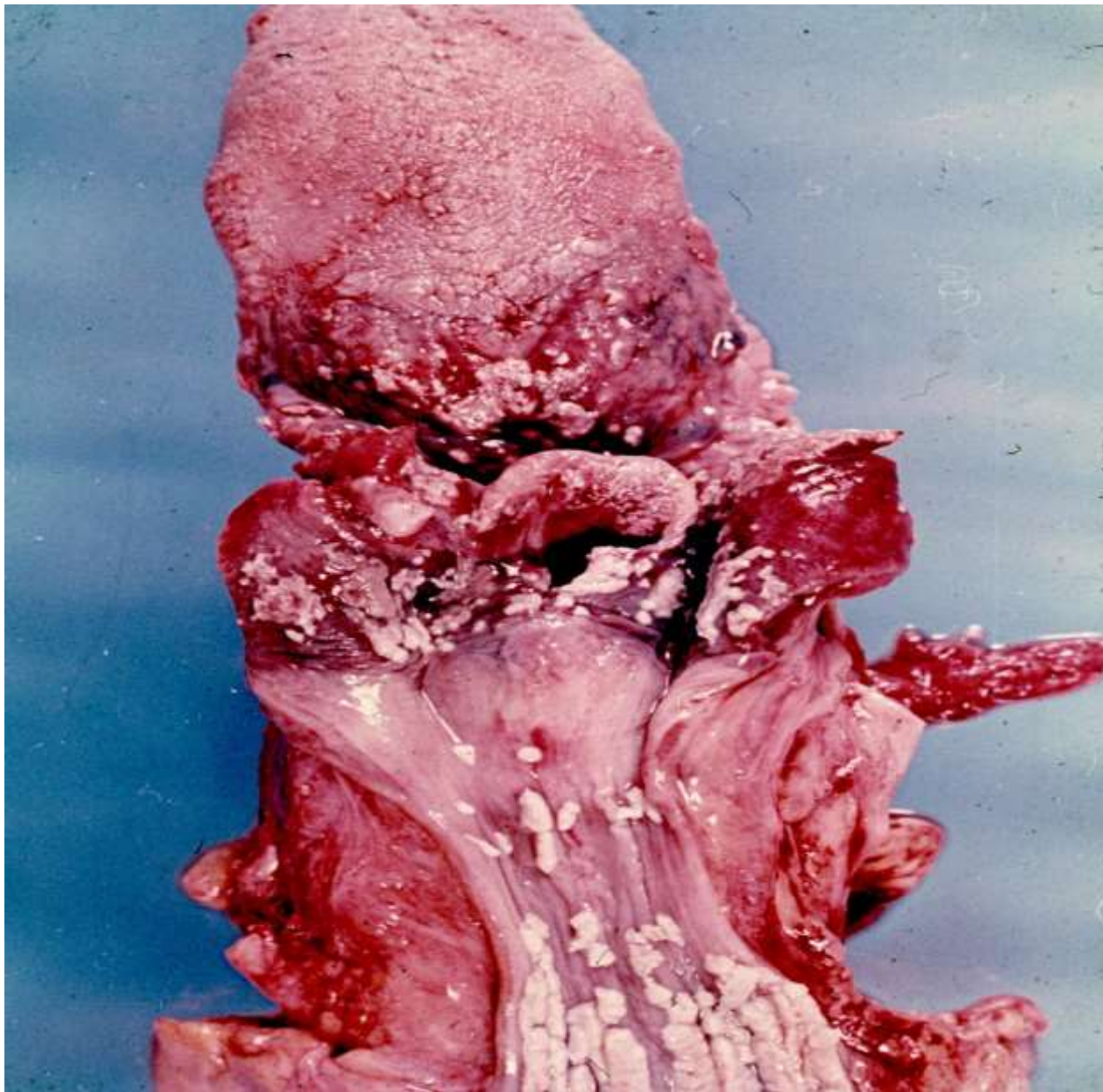
Pneumocystis carinii in lung is demonstrated by the appearance of brown to black cysts in the alveolar exudate - Gömöri stain



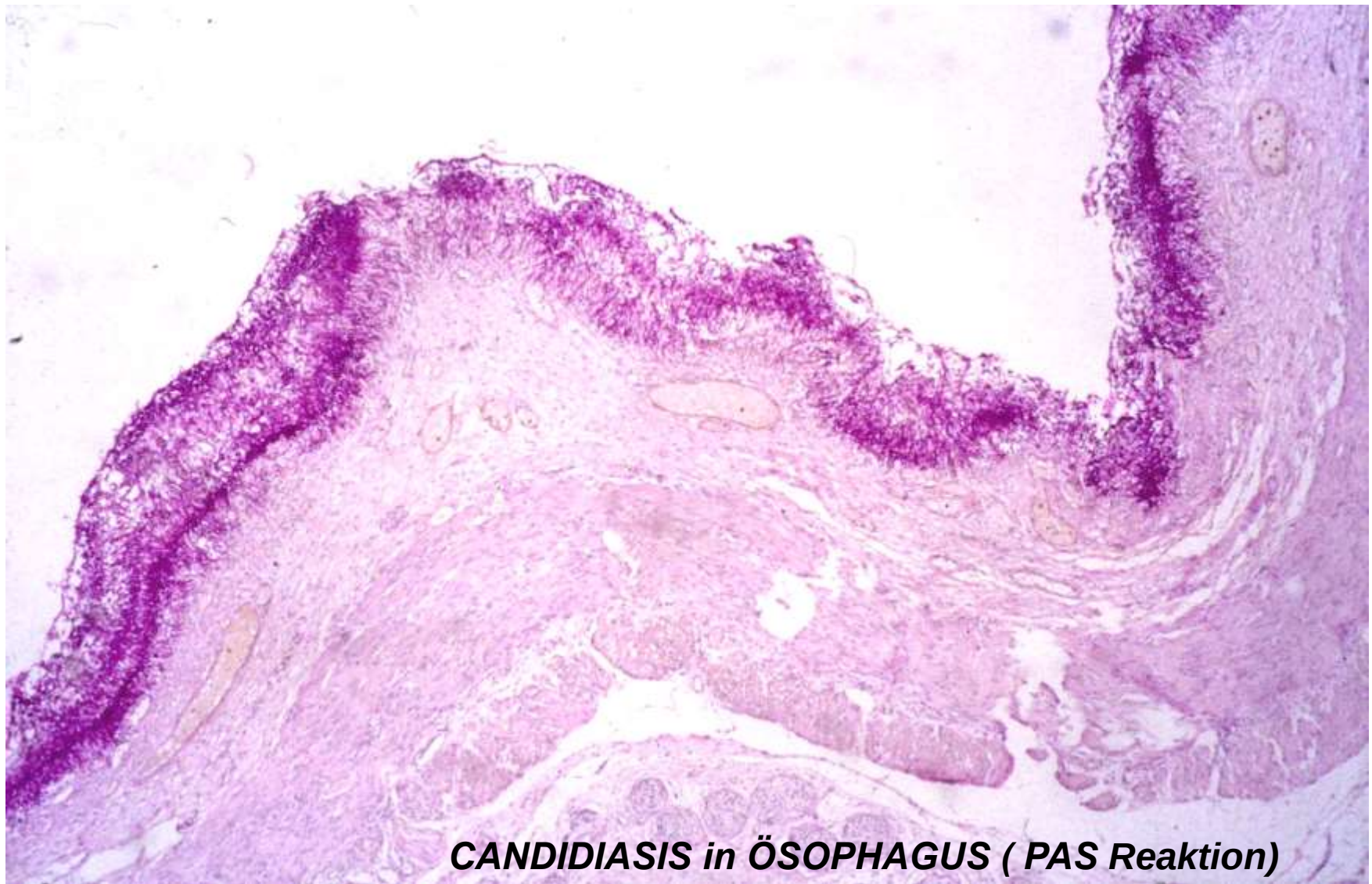
faint bluish dot-like intracystic bodies of *Pneumocystis carinii* in lung in this cytologic preparation from a BAL - Giemsa stain



immunoperoxidase stain with antibody to *Pneumocystis carinii*: the brown-red reaction product is seen highlighting the exudates



CANDIDIASIS
in
ÖSOPHAGUS



CANDIDIASIS in ÖSOPHAGUS (PAS Reaktion)



Varizellen Syn.: Varicellae, Windpocken, Spitzblattern

durch das Varicella-Zoster-Virus
hervorgerufene (Tröpfchen-,
selten Kontaktinfektion), sehr
ansteckende gutartige
Infektionskrankheit vorw. der
Kinder

juckendes Exanthem (auch an
Mundschleimhaut, selten an
Genitale und Konjunktiva):.
Ausbreitung vom Rumpf auf
Gesicht, Kopf und rumpfnahen
Gliedmaßen (Handteller u.
Fußsohlen meist frei); in 3-4
Tagen Eintrocknen der Bläschen
zu Krusten, die am 5. und 8.
(bis 20.) Tag abfallen Narben
depigmentiert

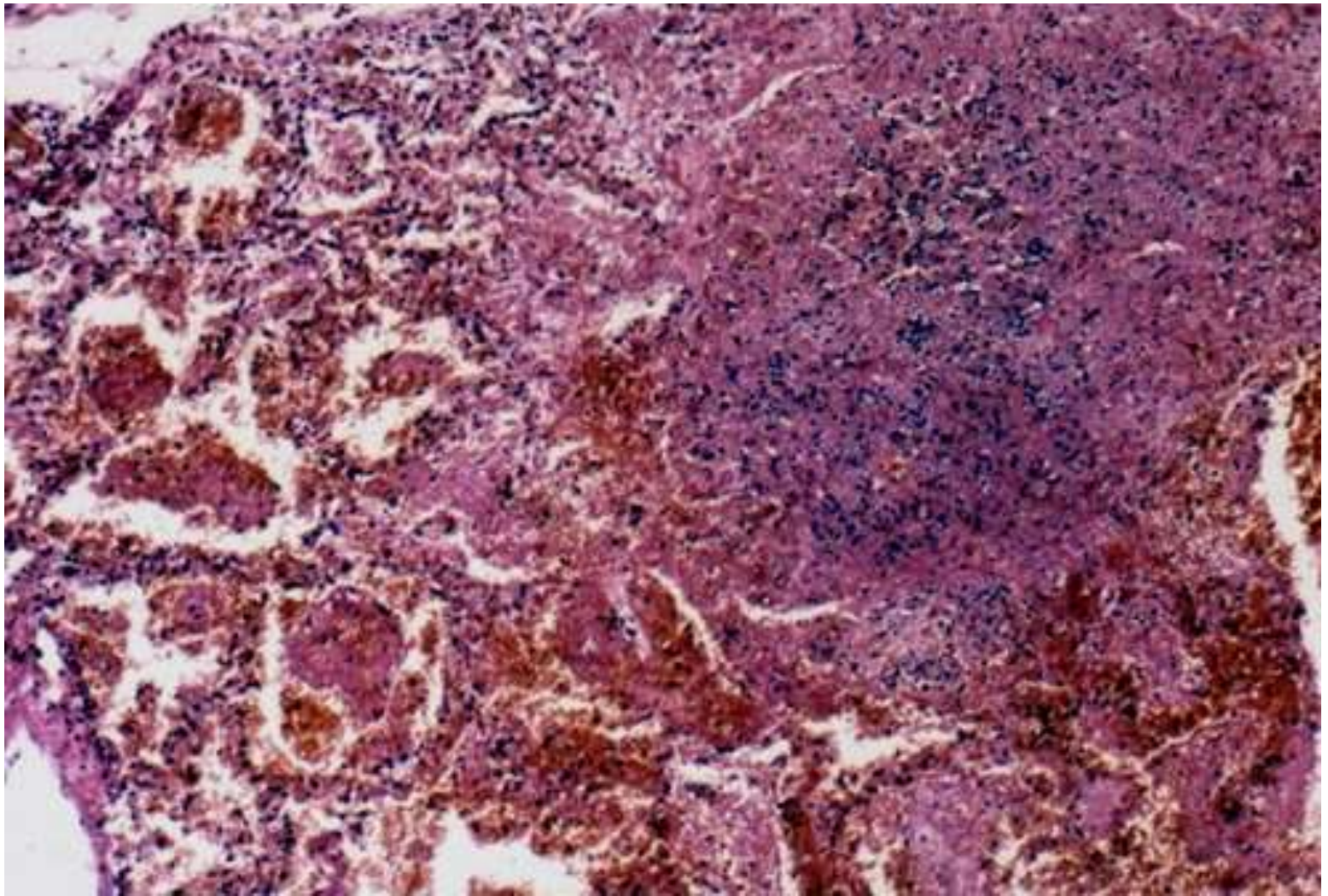


Varizellenexanthem am Körperstamm

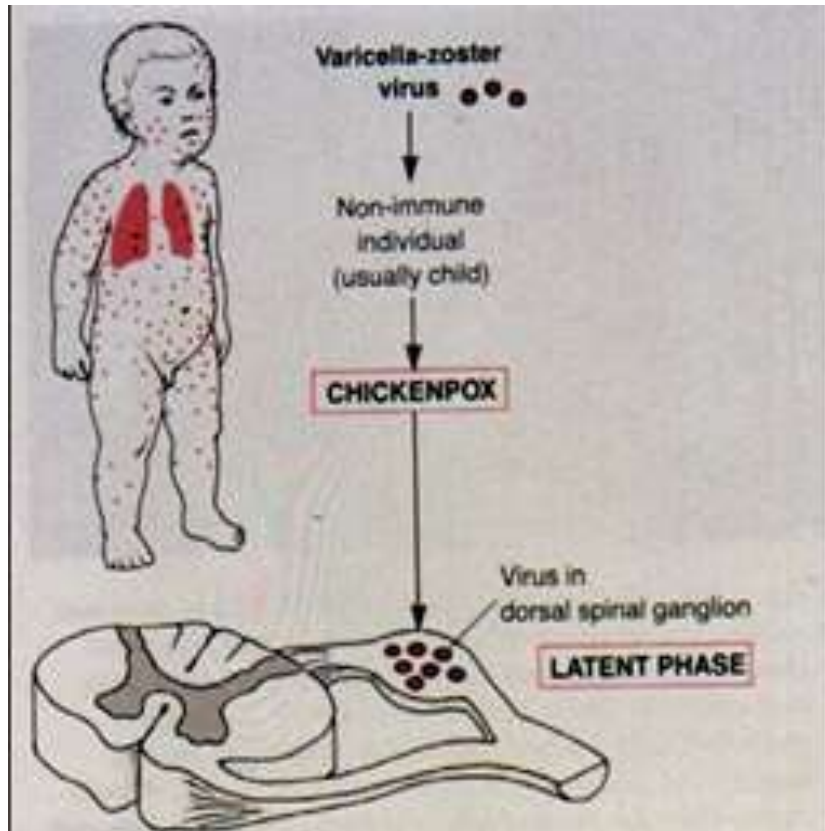


Schafblattern und akut lymphoid Leukämie - ALL

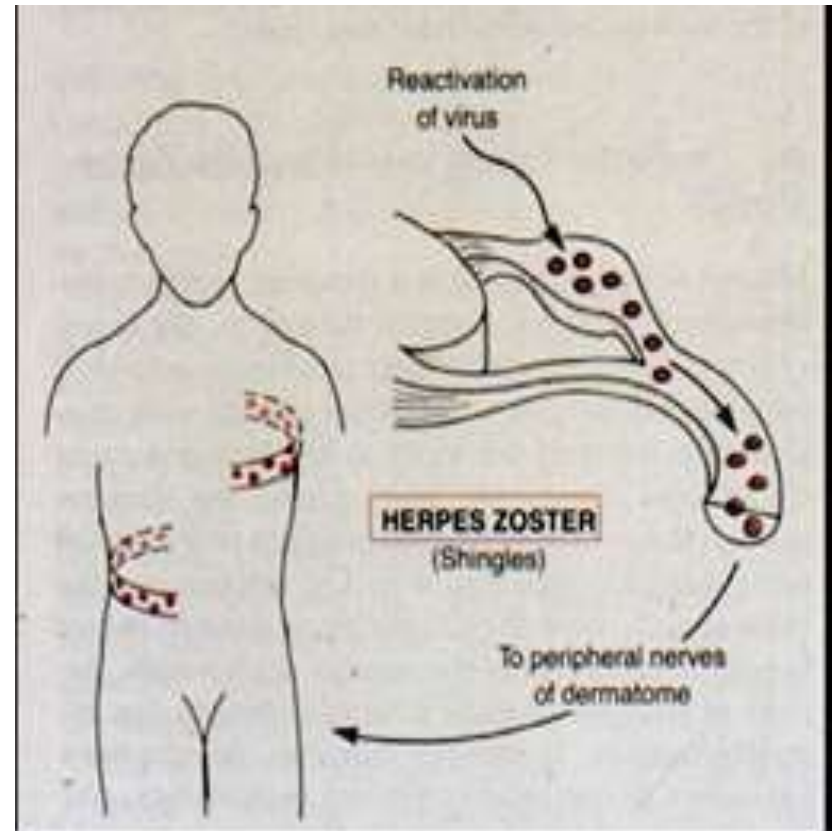




necrotizing pneumonia in varicella generalisata



Windpocken, Spitzblattern
Schafblattern



Herpes zoster



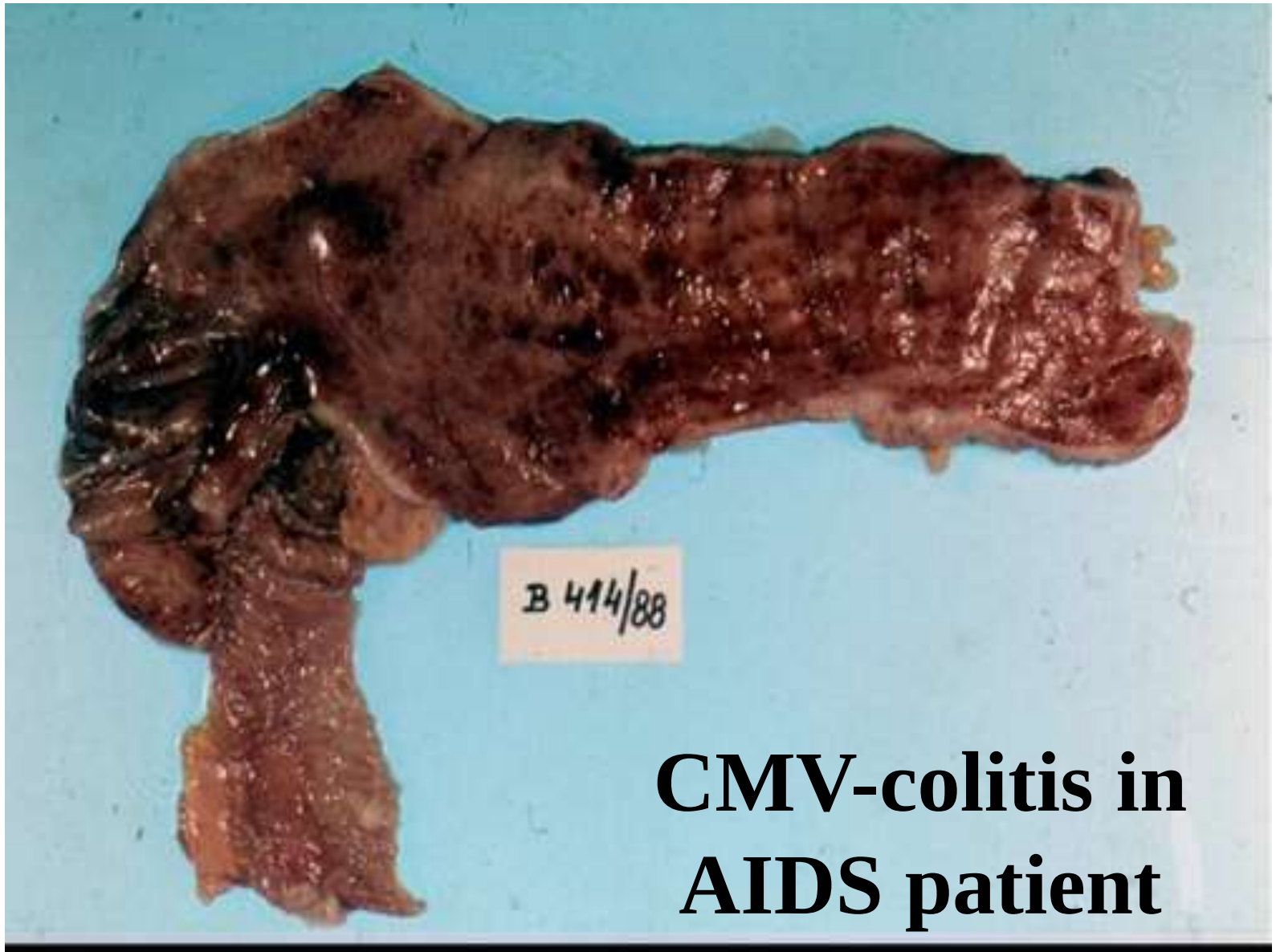
thorakaler Herpes zoster (Zoster intercostalis)



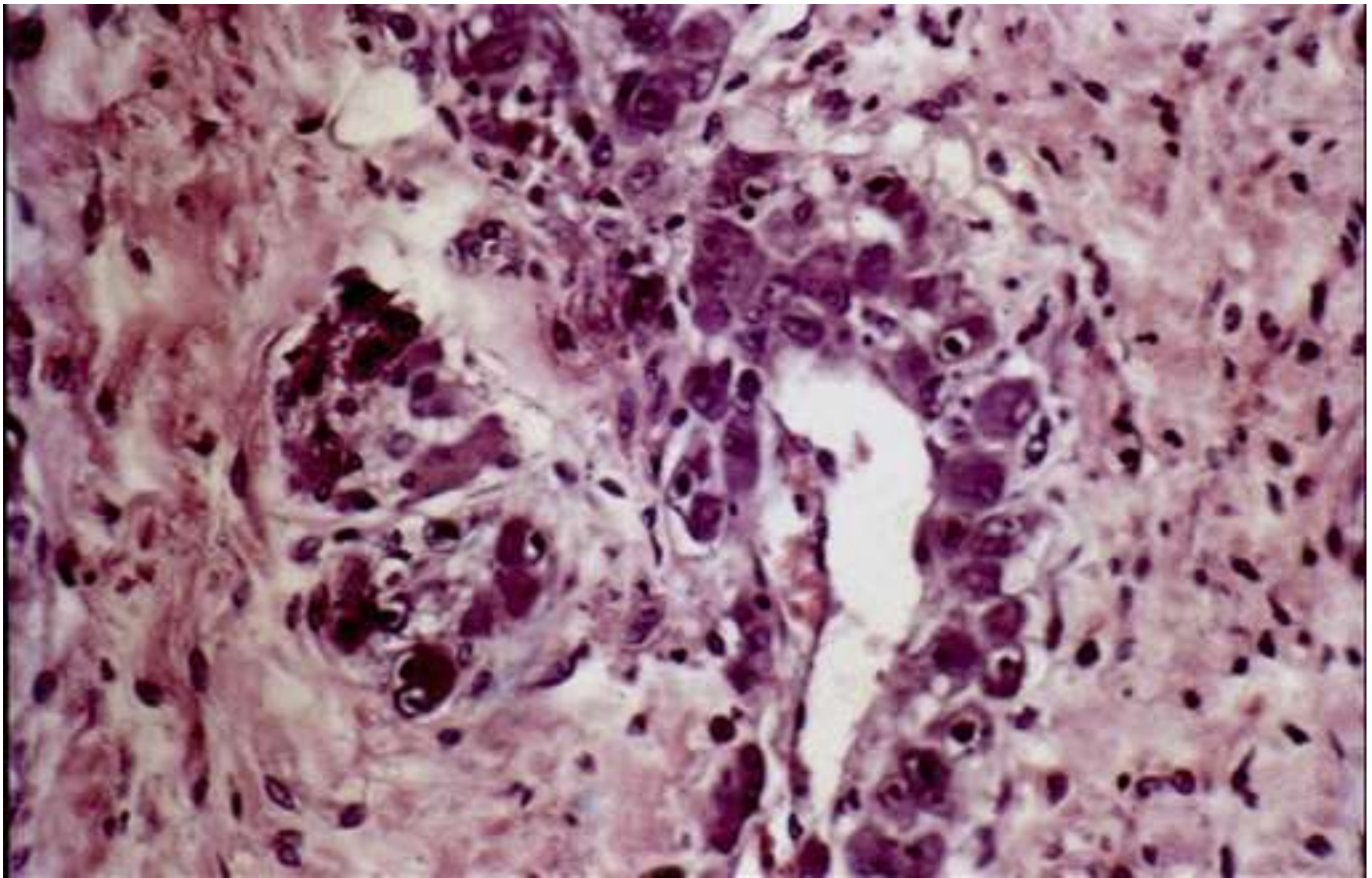
herpes zooster ophthalmicus



CMV infection has no characteristic gross appearance in any organ -
cecal ulceration

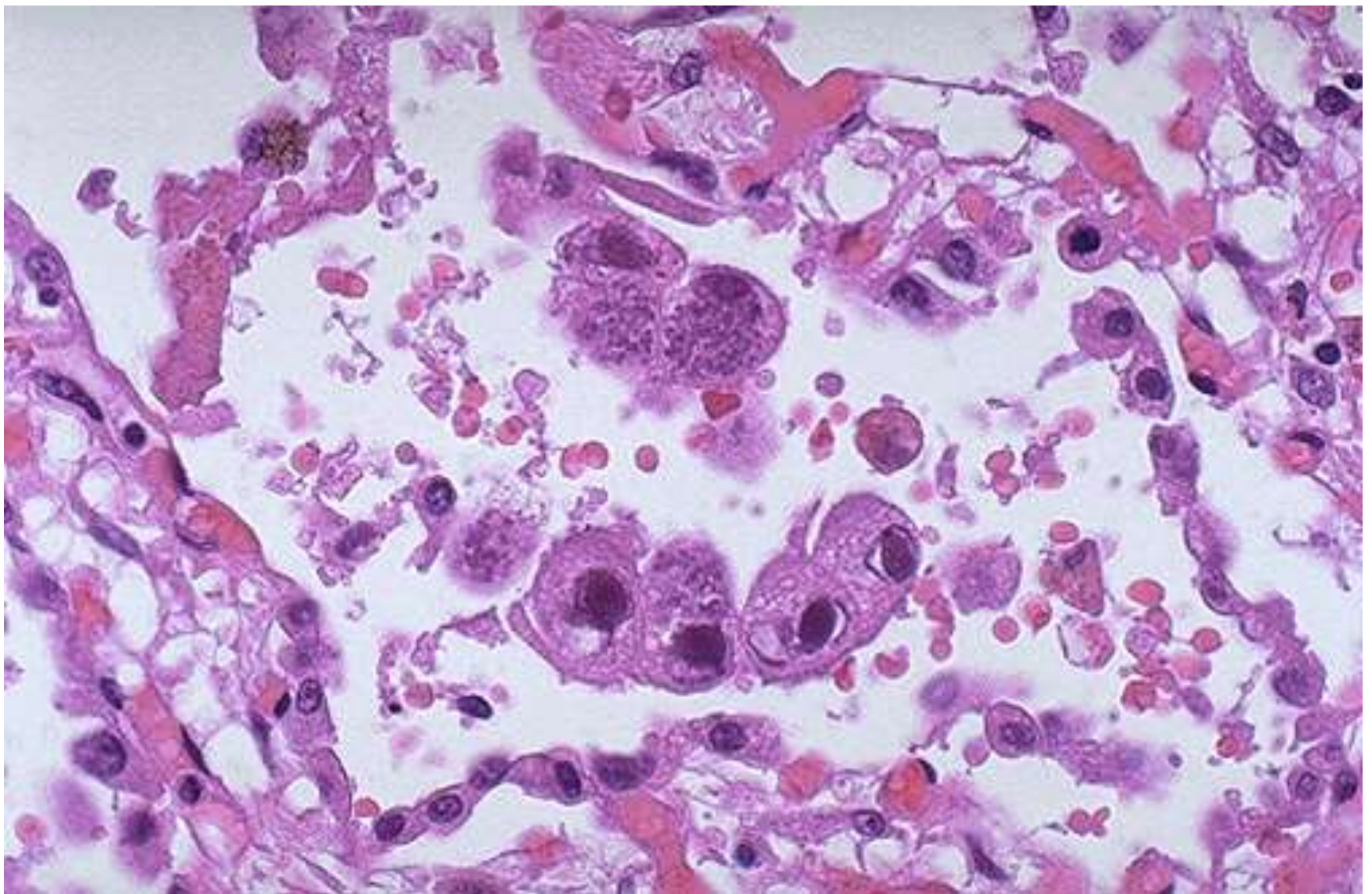


CMV-colitis in AIDS patient



CMV-vasculitis in AIDS patient





CMV often produce a pneumonia - CMV inclusions in lung

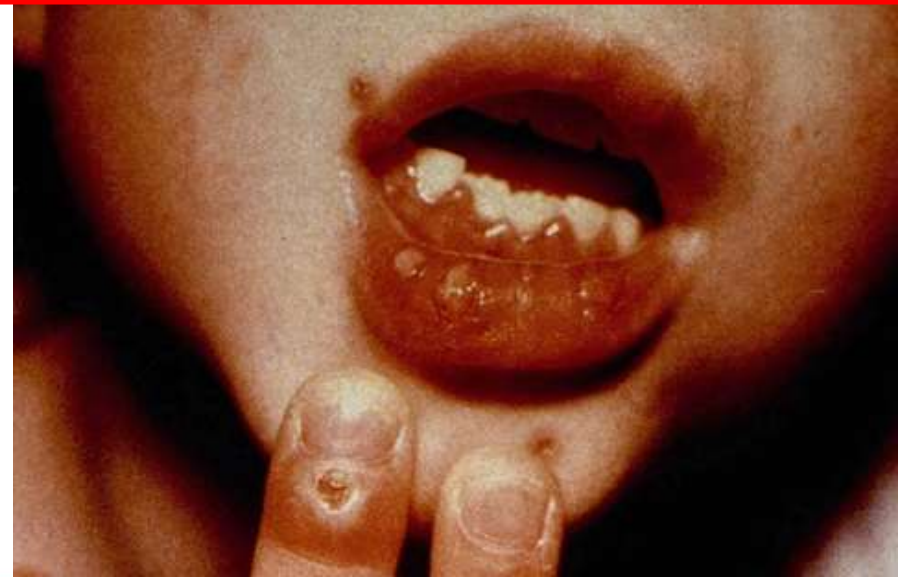


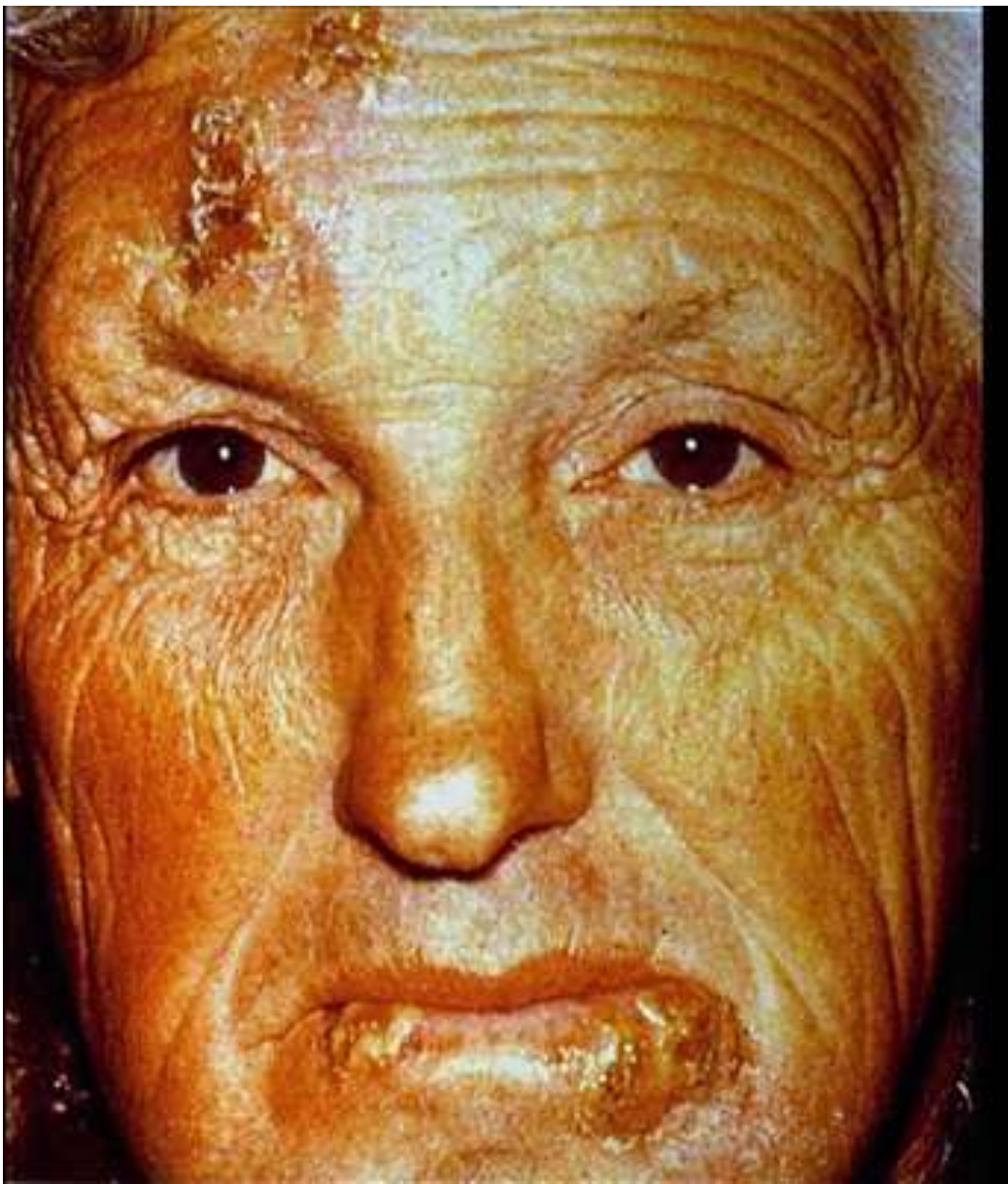
Herpes
simplex
der Lippe



HSV-1 Infektion

Cold sore

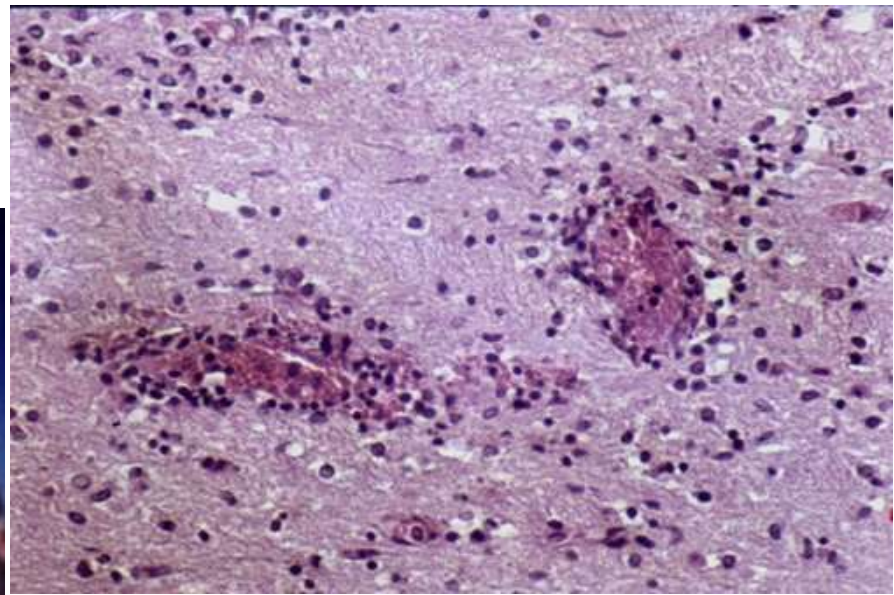




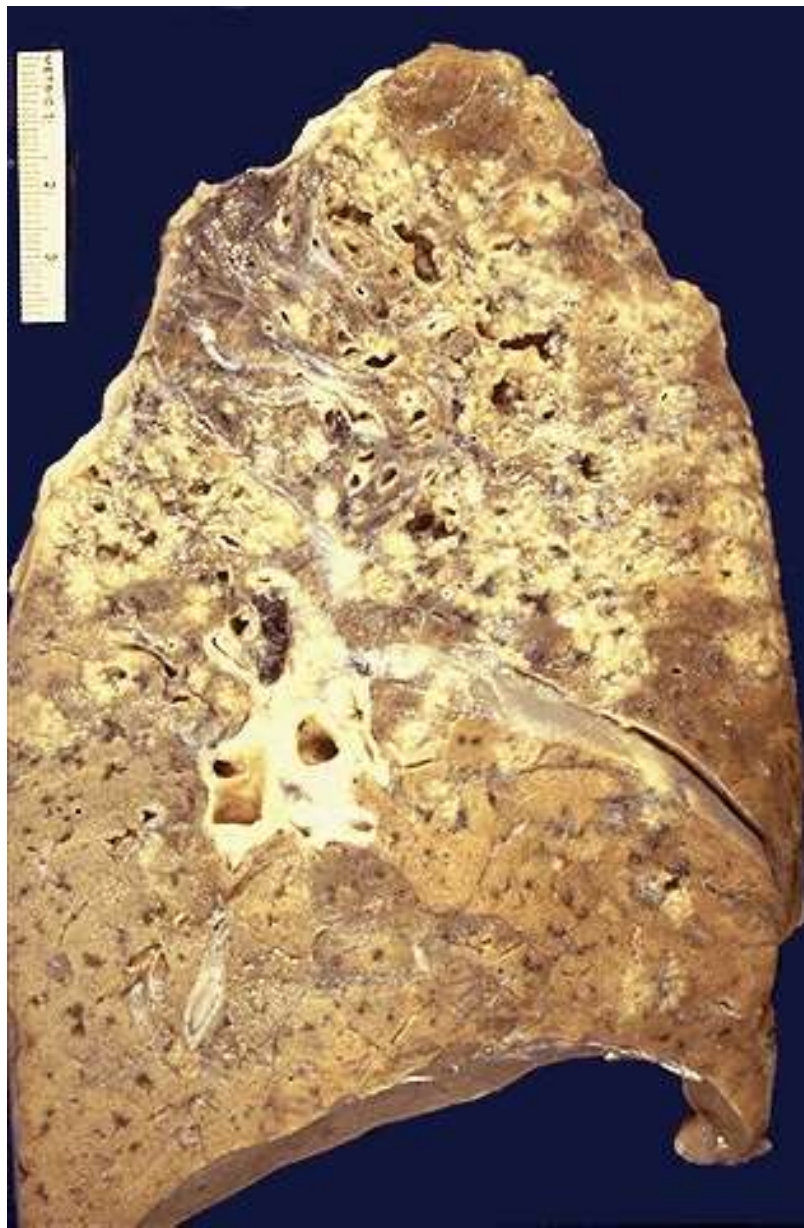
HSV-1 Infektion in Leukamie- Patient



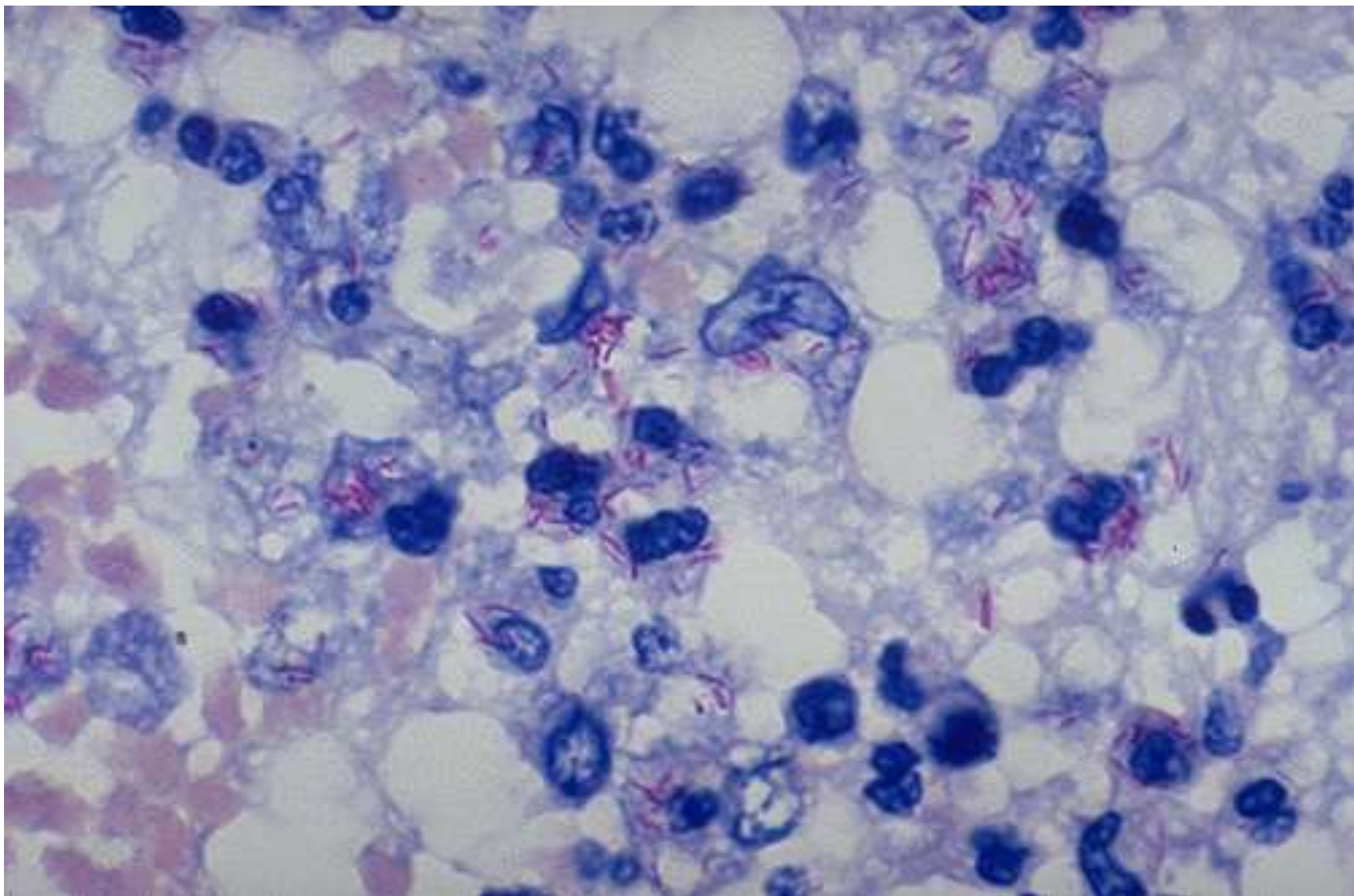
HSV-1 Infektion







Mycobacterium tuberculosis
infection of lung, with upper
lung field granulomatous and
cavitary disease - AIDS patient

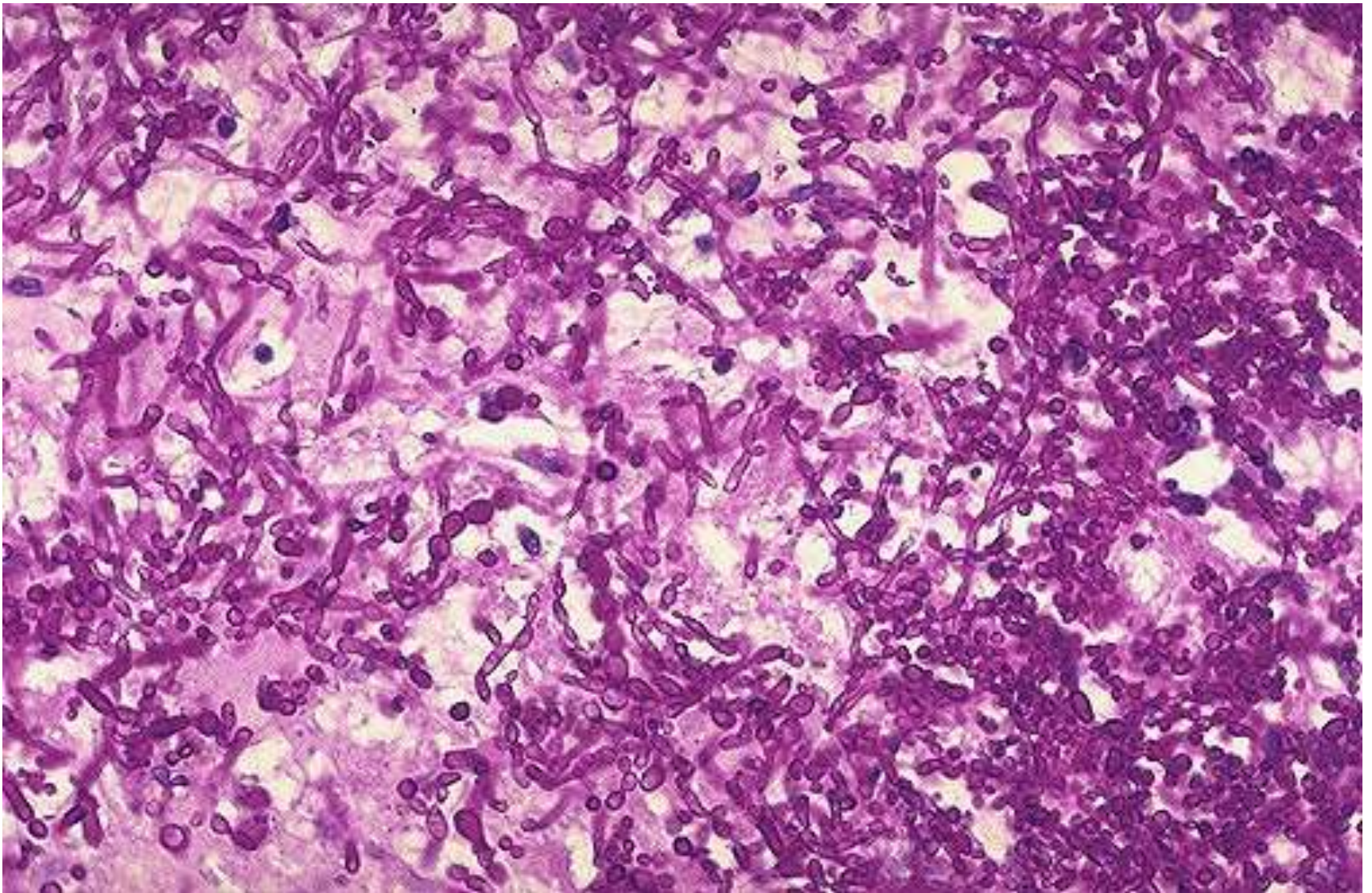


Mycobacterium tuberculosis - Ziehl-Neelsen Färbung

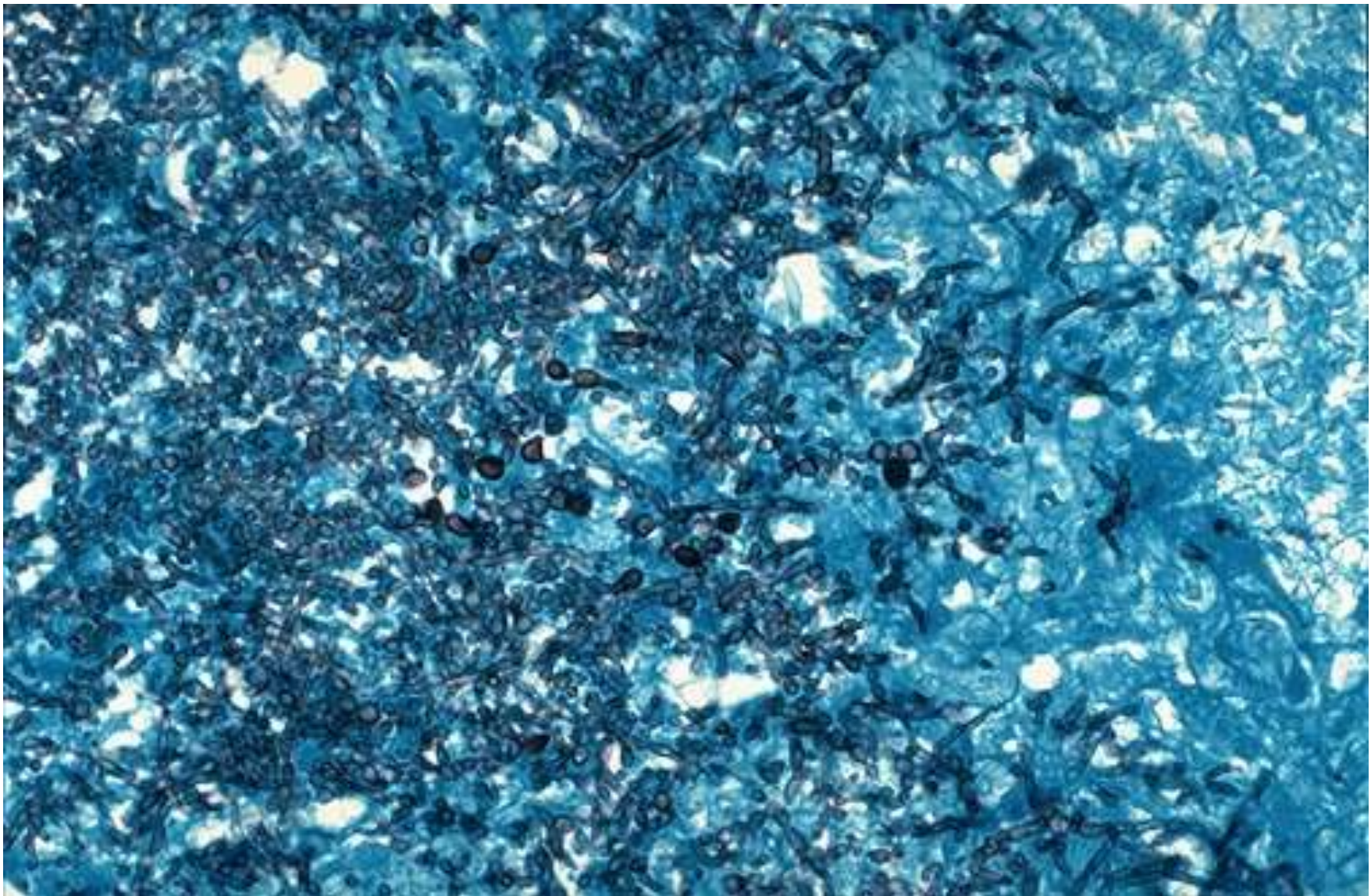


candida infections are common with AIDS, but most often appear as oral thrush, which is a nuisance but not life-threatening.

disseminated infections are uncommon, but here is a rare Candida pneumonia, which resembles a bacterial bronchopneumonia



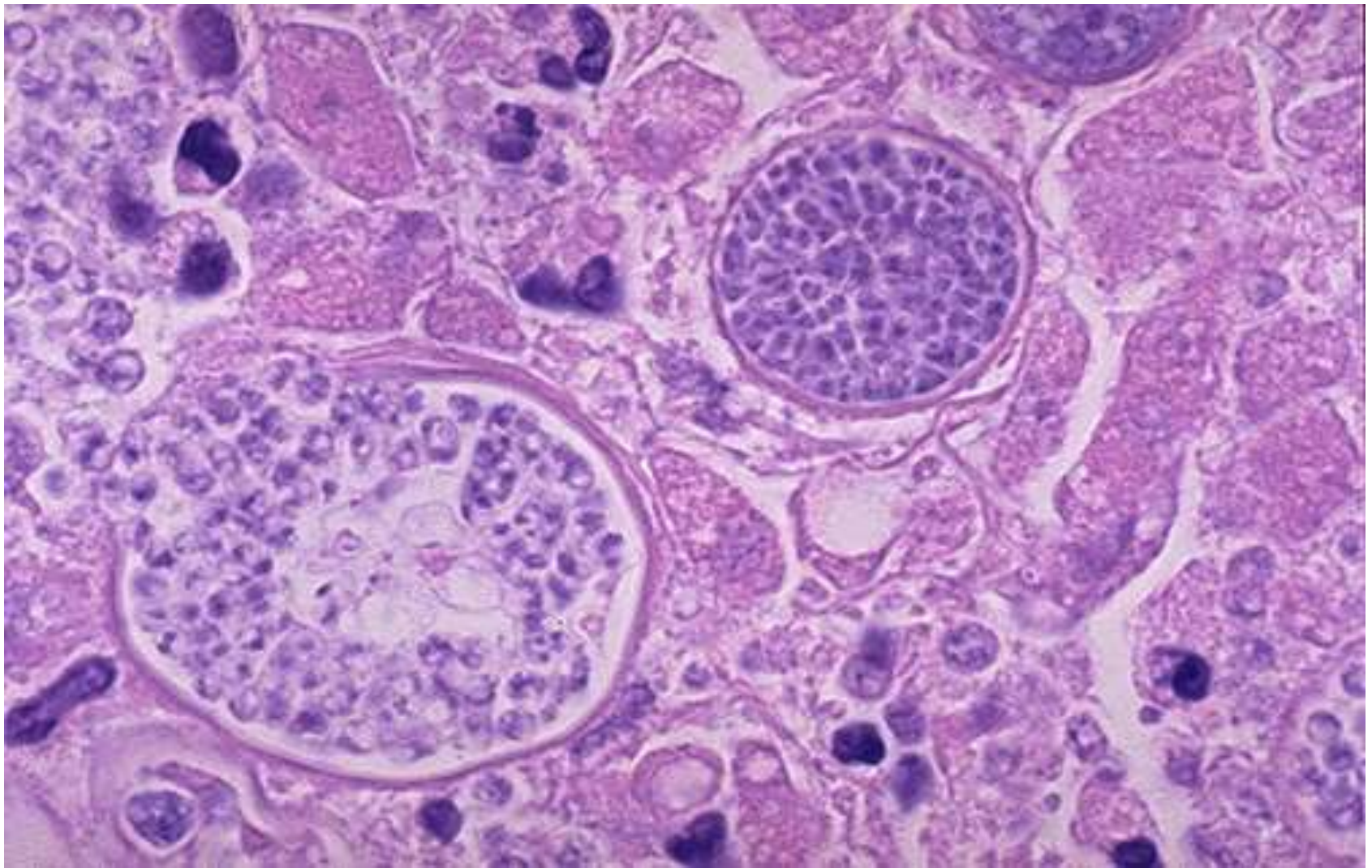
Candida albicans as an invasive process in the esophagus
PAS staining.



Candida albicans in the esophagus with GMS staining



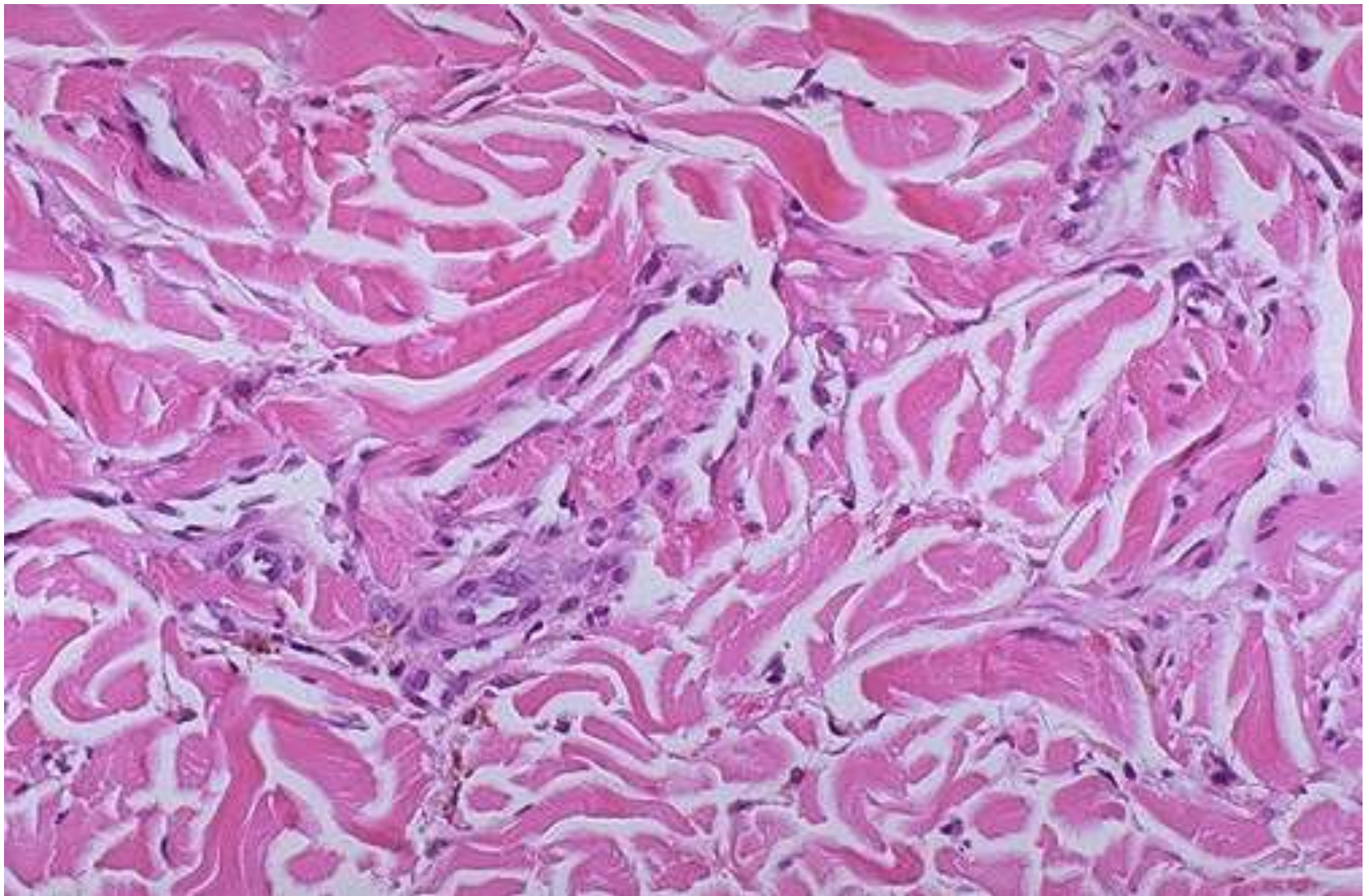
Histoplasma capsulatum may lead to formation of visible granulomas
- here in the liver



spherules of *Coccidioides immitis* in liver with H and E staining - thick wall of the spherules containing endospores - one spherule is rupturing to release the endospores



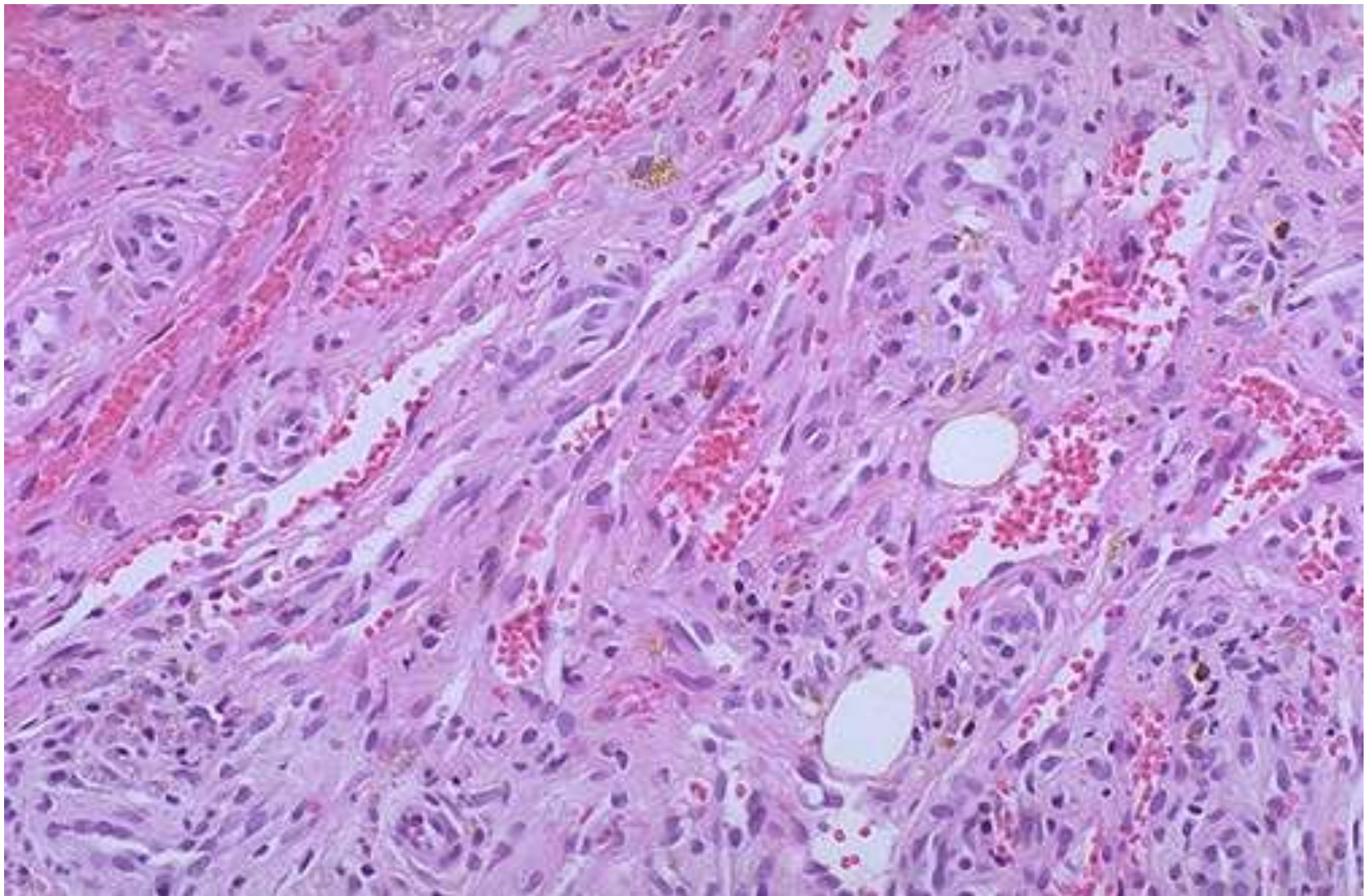
Kaposi's sarcoma: reddish purple nodules on the skin - sarcoma idiopathicum multiplex haemorrhagicum



Kaposi's sarcoma: slit-like vascular spaces in the dermis of the skin



Kaposi
Sarkom
der Haut



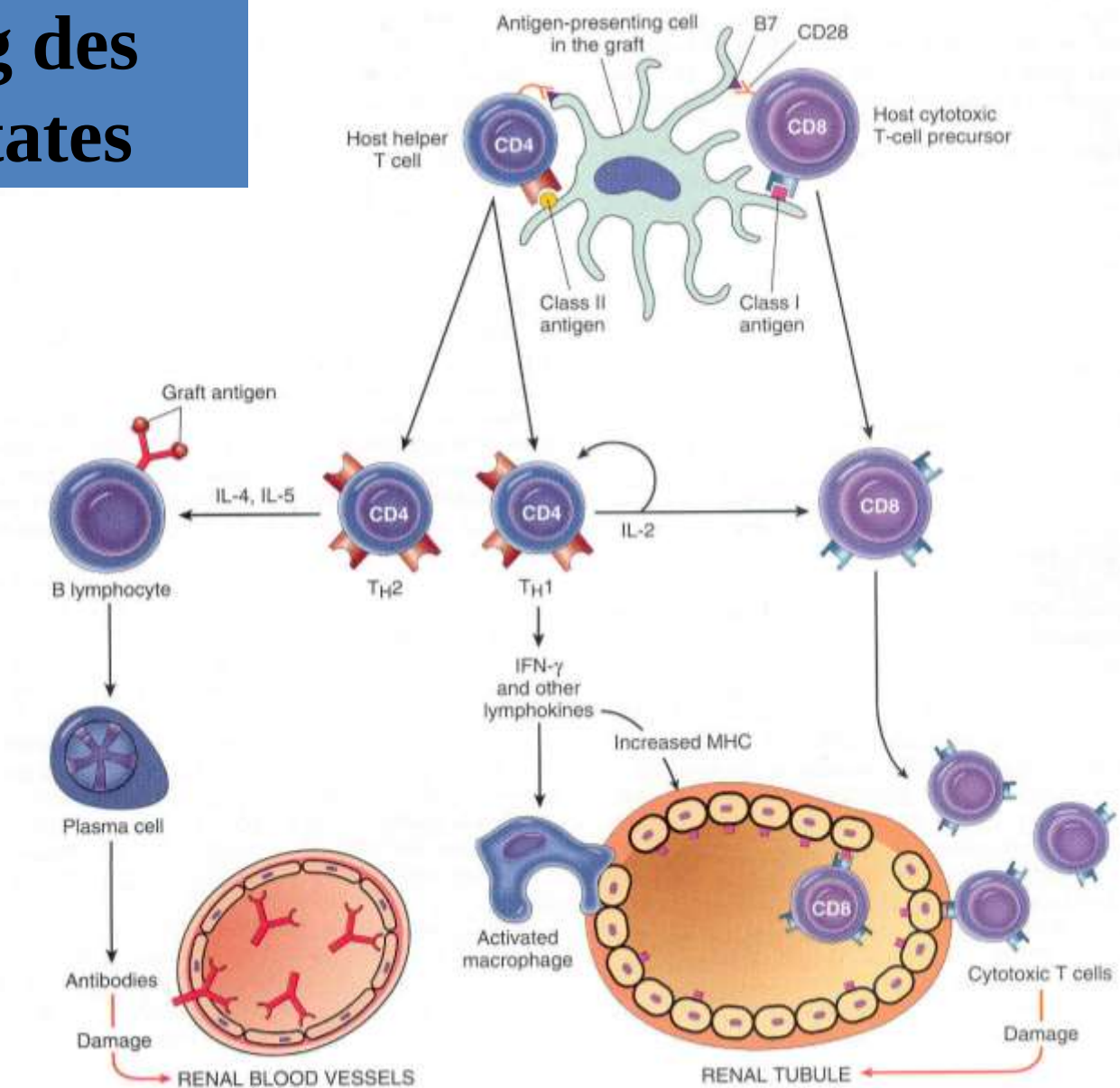
Kaposi's sarcoma: slit-like vascular spaces in the dermis of the skin with extravasation of red blood cells

Transplant-Pathologie

- ↪ Host-versus Graft: Organtransplantation
- ↪ Graft-versus host (Knochenmark TX)



Abstossung des Transplantates



Abstossung des TRANSPLANTATES (REJECTIO, NIERE)

HYPERAKUT

in einigen Minuten
(preformierte AKs in
Rezipient)

AKUT

Woche- Monate
plötzliche
Niereninsuffizienz

Therapie!!!

Therapie
resistent!!!

CHRONISCH Monate- Jahre

Azotaemie
Oligurie
Hypertonie

ARTHUS-REAKTION

fibrinoide

Nekrose in Gefasswand

1./ Zellular

interstit. nephr.

II.-IV. h.r.

(mononukl., Ödem)

fokale

Nekrose des tubulares Epith. Cyclosporin

A Toxizität!!!

2./

Vascular

_____necrotisierende Vaskulitis

Glomerulus Nekrose

III.

h.r.

a cortex a. thrombosisa

subakute Vaskulitis (Intima

Prolifer.)

Gefassveränderungen

Intima-fibrose

sec.

Ishaemie



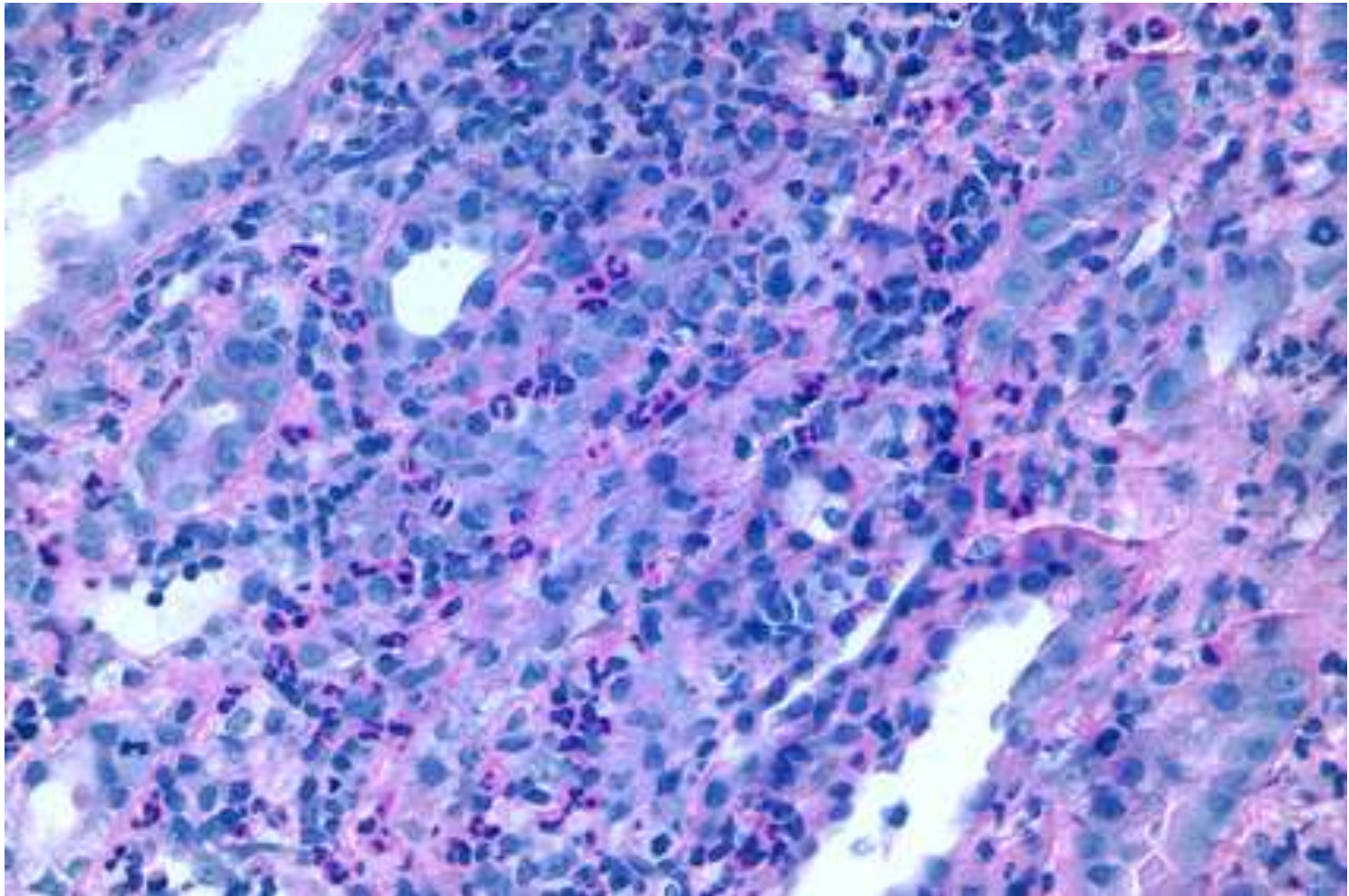
↓
Tubulare Atrophie

interstit. Fibrose-

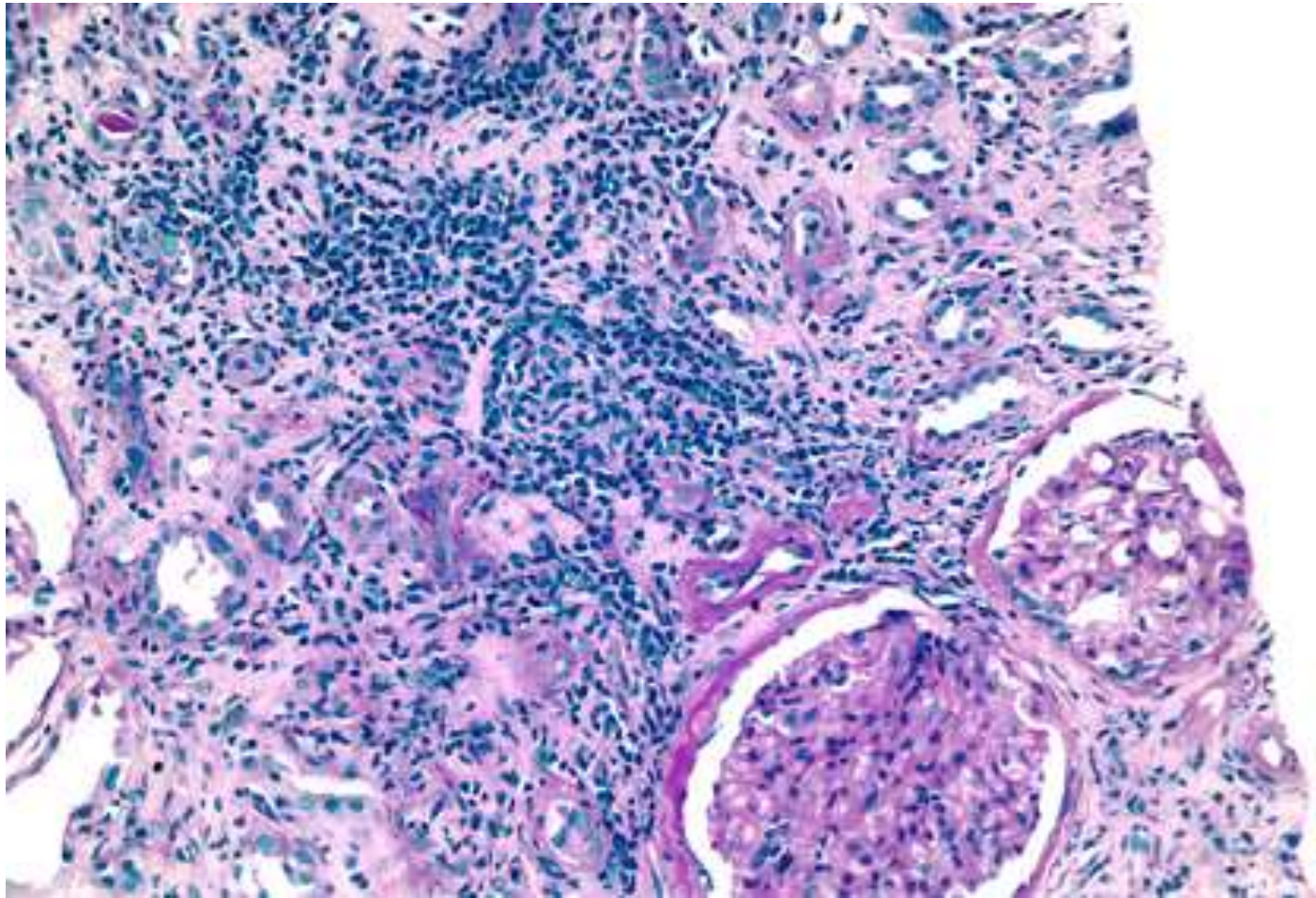
Nierenschrumpfung !



Akute Rejektion



Chronische Rejektion



Danke für *Ihre*
Aufmerksamkeit!

