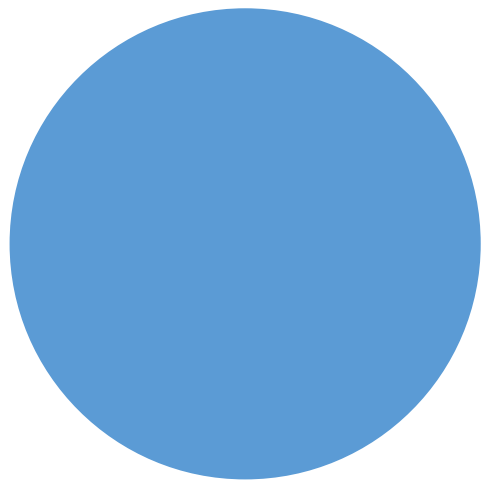


Μη ειδική ανοσιακή απάντηση

Κατερίνα Ψαρρά

Τμήμα Ανοσολογίας
Ιστοσυμβατότητας

Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»



ΕΝΩΣΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΥ
Γ.Ν.Α. «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ» (Ε.Ε.Π.Ν.Ε.)

25^ο

ΕΤΗΣΙΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ
ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ
Γ.Ν.Α. «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ»

Δεν υπάρχει σύγκρουση συμφερόντων με τις Χορηγούς Εταιρείες:



Bristol-Myers Squibb

abbvie



AMGEN®



Baxter



φυσική ή
μη ειδική ανοσία
(Innate,
Natural, Non-
Specific
Immunity)

- το αρχαιότερο εξελικτικό σύστημα
- παρέχει προστασία σε πολυκύτταρους οργανισμούς έναντι πληθώρας παθογόνων μικροοργανισμών, χωρίς προηγούμενη έκθεση σε αυτούς
- πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού

κύρια χαρακτηριστικά μη ειδικής ανοσίας

- Άμεση και ταχεία δράση και καταστροφή του παθογόνου
- Αναγνώριση δομών κοινών σε πολλούς μικροοργανισμούς, οι οποίες δεν ανευρίσκονται στο μακροοργανισμό (άνθρωπο) → δεν διεγείρει αντιδράσεις αυτοανοσίας
- Έκλυση πάντα με την ίδια ένταση (μεγίστη)

κύρια χαρακτηριστικά μη ειδικής ανοσίας

- ανεξάρτητη από τη παρουσία του αντιγόνου (βασίζεται σε δομές που προϋπάρχουν)
- χωρίς ειδικότητα για το αντιγόνο
- χωρίς ανοσολογική μνήμη
- ικανότητα να ενεργοποιεί και να καθορίζει τον τύπο (T1 ή T2) της ειδικής ανοσιακής απάντησης

κύρια συστατικά της μη ειδικής ανοσίας

ανατομικοί φραγμοί (επιθήλια)

- δέρμα
- βλεννογόνοι

κύτταρα

- φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα, μακροφάγα)
- NK

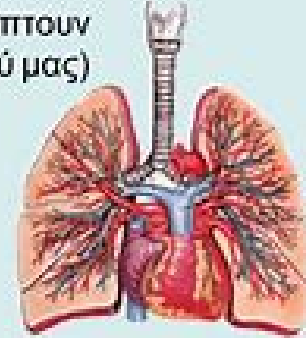
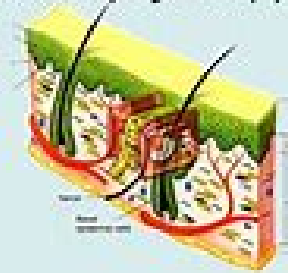
χημικοί μεσολαβητές

κυτταροκίνες

Μηχανισμοί που παρεμποδίζουν την είσοδο
μικροοργανισμών στον οργανισμό μας.

Οι μικροοργανισμοί εισέρχονται στο σώμα μας από:

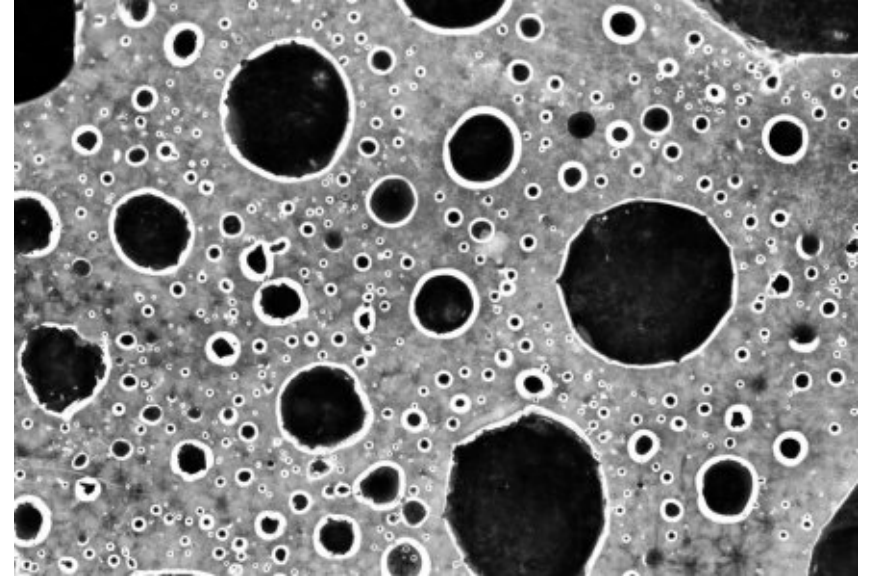
- Το δέρμα
- Τους βλεννογόνους (καλύπτουν
κοιλότητες του οργανισμού μας)



φυσικοί (ανατομικοί) φραγμοί

Δέρμα

- Μηχανικός φραγμός - εμποδίζει την είσοδο των παθογόνων
- Όξινο pH (παρουσία γαλακτικού οξέος , λιπαρών οξέων) - αναστέλλει την ανάπτυξη των περισσότερων παθογόνων



Βλεννογόνοι μηχανικοί φραγμοί

- ισχυρή σύνδεση των επιθηλιακών κυττάρων
- παγίδευση σωματιδίων και μικροοργανισμών από τη βλέννα εμποδίζει την προσκόλλησή τους στα επιθηλιακά κύτταρα
- κίνηση του κροσσώτου επιθηλίου της αναπνευστικής οδού
- ροή υγρών στο ουροποιητικό σύστημα
- ροή αέρα στους αεραγωγούς
- κινητικότητα (περισταλτισμός) του εντέρου

Βλεννογόνοι

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΪ ΦΡΑΓΜΟΪ

ενδοεπιθηλιακά T κύτταρα

- στην επιδερμίδα και στα επιθήλια των βλεννογόνων
- TcR υποδοχείς στην πλειονότητα γδ - περιορισμένη ποικιλότητα
- άμεση αναγνώριση (χωρίς να προηγηθεί κλωνική εξάπλωση) πολλές φορές χωρίς MHC περιορισμό
 - αντιγόνα των επιθηλίων που εκφράζονται μόνο όταν τα κύτταρα μολυνθούν
 - μικροβιακές δομές
- πιθανή λειτουργία (έκκριση κυτταροκινών, φαγοκυττάρωση, καταστροφή μολυσμένων κυττάρων)

Βλεννογόνοι

μικροβιακοί φραγμοί (φυσιολογική χλωρίδα)

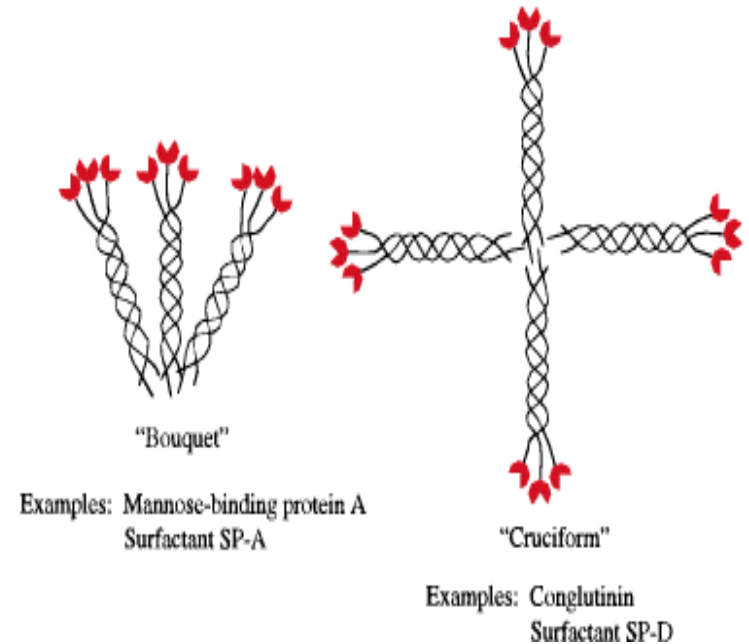
Αποικισμός επιθηλίων από μη παθογόνα (σαπρόφυτα)
ανταγωνίζεται τα παθογόνα:

- περιορίζοντας τη διάθεση θρεπτικών ουσιών
- καταλαμβάνοντας τις θέσεις προσκόλλησής τους στα επιθήλια
- παράγοντας ουσίες (π.χ. **Colicins** από την *E. coli*) που εμποδίζουν τον αποικισμό άλλων μικροβίων

καταστροφή χλωρίδας (χορήγηση αντιβιοτικών)
→ κατάληψη από παθογόνα
→ λοιμώξεις

Βλεννογόνοι χημικοί φραγμοί

- επιφανειοδραστικές πρωτεΐνες A & D (surfactant protein SP-A, SP-D)
- παράγονται από τον κυψελιδικό βλεννογόνο
- ανήκουν στις **collectins** (collagen + lectin)
- συνδέονται και καλύπτουν τα παθογόνα, διευκολύνοντας την κάθαρσή τους από τα φαγοκύτταρα (**οψωνίνες**)



Βλεννογόνοι χημικοί φραγμοί

- όξινο ΡΗ του στομάχου και πεπτικά ένζυμα
- όξινο ΡΗ του κόλπου (γαλακτοβάκιλλος)
- λυσοζύμη (σείλος, δάκρυα, εντερικό επιθήλιο) → διασπά την πεπτιδογλυκάνη των Gram(+) μικροβίων
- αντιμικροβιακά πεπτίδια (defensins α,β,θ)
μικρά κατιονικά πεπτίδια, που φονεύουν ή αδρανοποιούν ευρύ φάσμα μικροβίων, μυκήτων, παρασίτων ή ιών, πιθανόν καταστρέφοντας τη μεμβράνη των μικροοργανισμών
 - α-defensins ή cryptidins (εντερικός βλεννογόνος)
 - β-defensins (αναπνευστικός βλεννογόνος)

PAMPs (Pathogen-associated Molecular Patterns)

- η ενεργοποίηση των κυττάρων της φυσικής ανοσίας βασίζεται στην αναγνώριση μιας ομάδας οντογενετικά συντηρημένων μοριακών προτύπων που σχετίζονται με την επιβίωση και τη λοιμογόνο δράση των παθογόνων (PAMPs)
- οι δομές αυτές αποτελούν συστατικά μόνο των μικροοργανισμών και όχι του ξενιστή

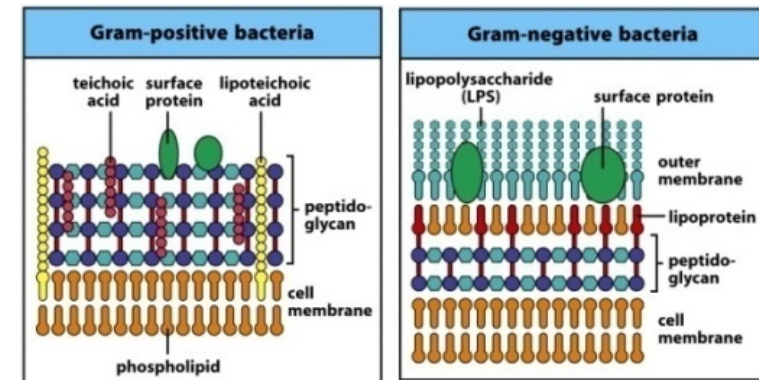


Figure 2-14 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

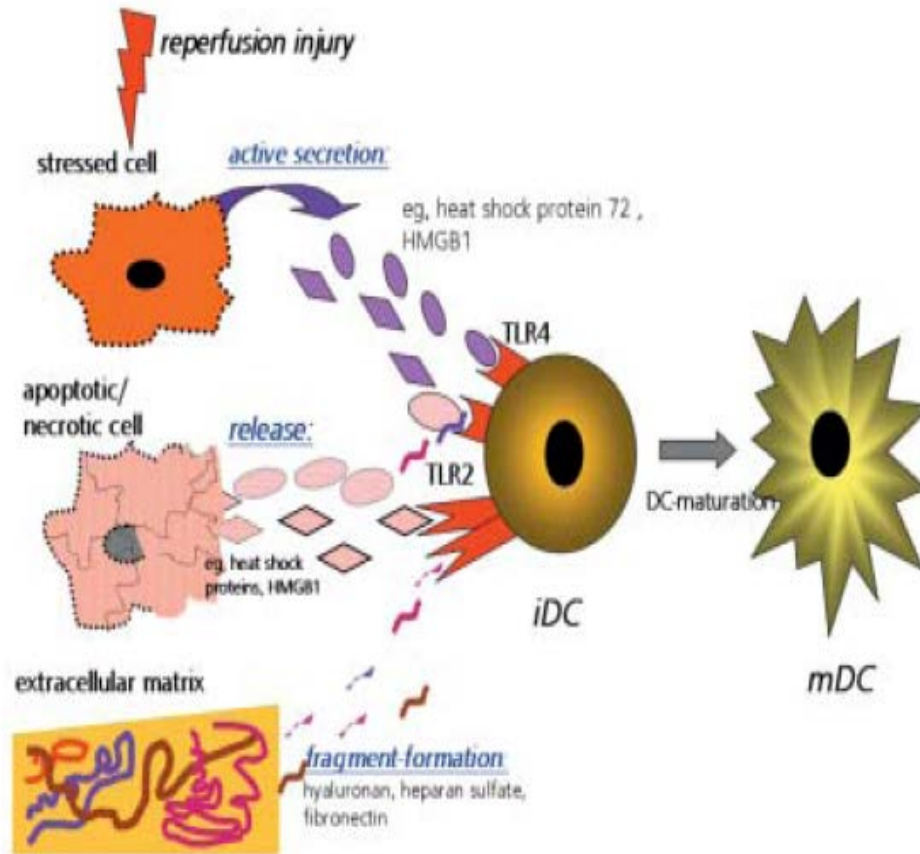
PAMPs

(Pathogen-associated Molecular Patterns)

- λιποπολυσακχαρίδη (LPS) των Gram(-) μικροβίων
- πεπτιδογλυκάνη και το τειχοϊκό οξύ των Gram(+) μικροβίων
- dsRNA των ιών
- μαννάνες των ζυμών
- μη μεθυλιωμένη CpG-ακολουθία βακτηριακού DNA
- N-φορμυλομεθιονυλ πεπτίδια (μικροβιακές πρωτεΐνες)
- φωσφορυλοχολίνη (μικροβιακές μεμβράνες)
- γλυκάνες πλούσιες σε μαννόζη (γλυκοπρωτεΐνες και γλυκολιποειδή των μικροβίων)

DAMPs

(Damage-associated Molecular Patterns)



- εκκρίνονται από κύτταρα ελαφρώς κατεστραμμένα που έχουν υποστεί *stress*
- απελευθερώνονται από αποπτωτικά ή νεκρωμένα κύτταρα (π.χ. HSP72, HMGB1)
- παράγονται από κατεστραμμένα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (π.χ. υαλουρονικό, φιβρονεκτίνη, θειική ηπαρίνη)

«Θεωρία της βλάβης» (*damage theory*)

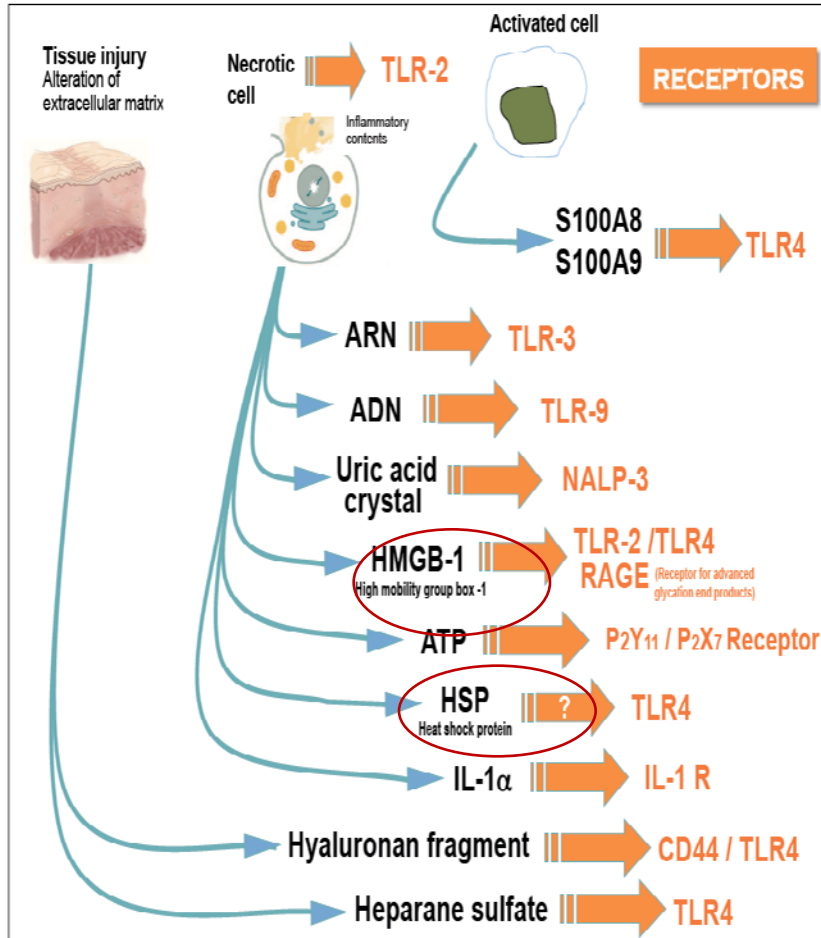
ανοσοαπαντήσεις είναι αποτέλεσμα της ιστικής

βλάβης και όχι των μηνυμάτων κινδύνου

Θεωρία της *Matzinger*

DAMPs/alarmins

(Damage/Danger-Associated Molecular Patterns)



κύτταρα που έχουν καταπονηθεί
από τραύμα, λοίμωξη ή κακοήθη
διεργασία αρχίζουν να

- **εκκρίνουν**
- **εκφράζουν στην επιφάνεια τους**
- **αποβάλλουν προς τον εξωκυττάριο χώρο** (σε περίπτωση νέκρωσης ή πυρόπτωσης) ουσίες
- ονομάζονται **DAMPs (alarmins)**
- αναγνωρίζονται από τους **PRRs**

PRRs (Pattern Recognition Receptors)

η αναγνώριση των PAMPs και DAMPs επιτυγχάνεται από τους υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs)

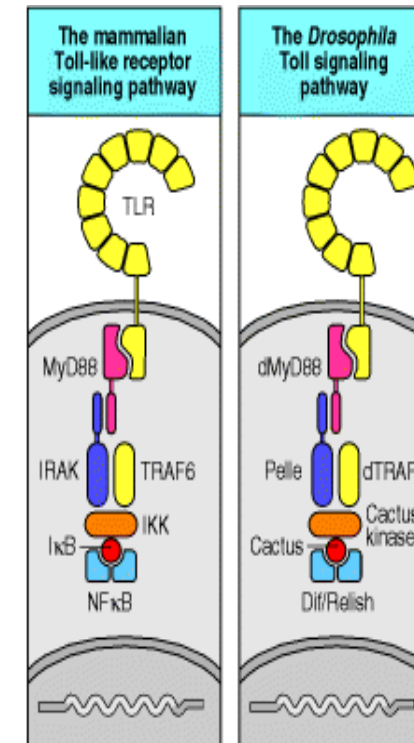
- ανήκουν σε διάφορες πρωτεϊνικές ομάδες
- κωδικοποιούνται από συντηρημένα αρχέγονα γονιδιακά στοιχεία (germline)
- μικρή ποικιλότητα - σύστημα της φυσικής ανοσίας - 10^3 PAMPs
- δεν εμφανίζουν κλωνική κατανομή

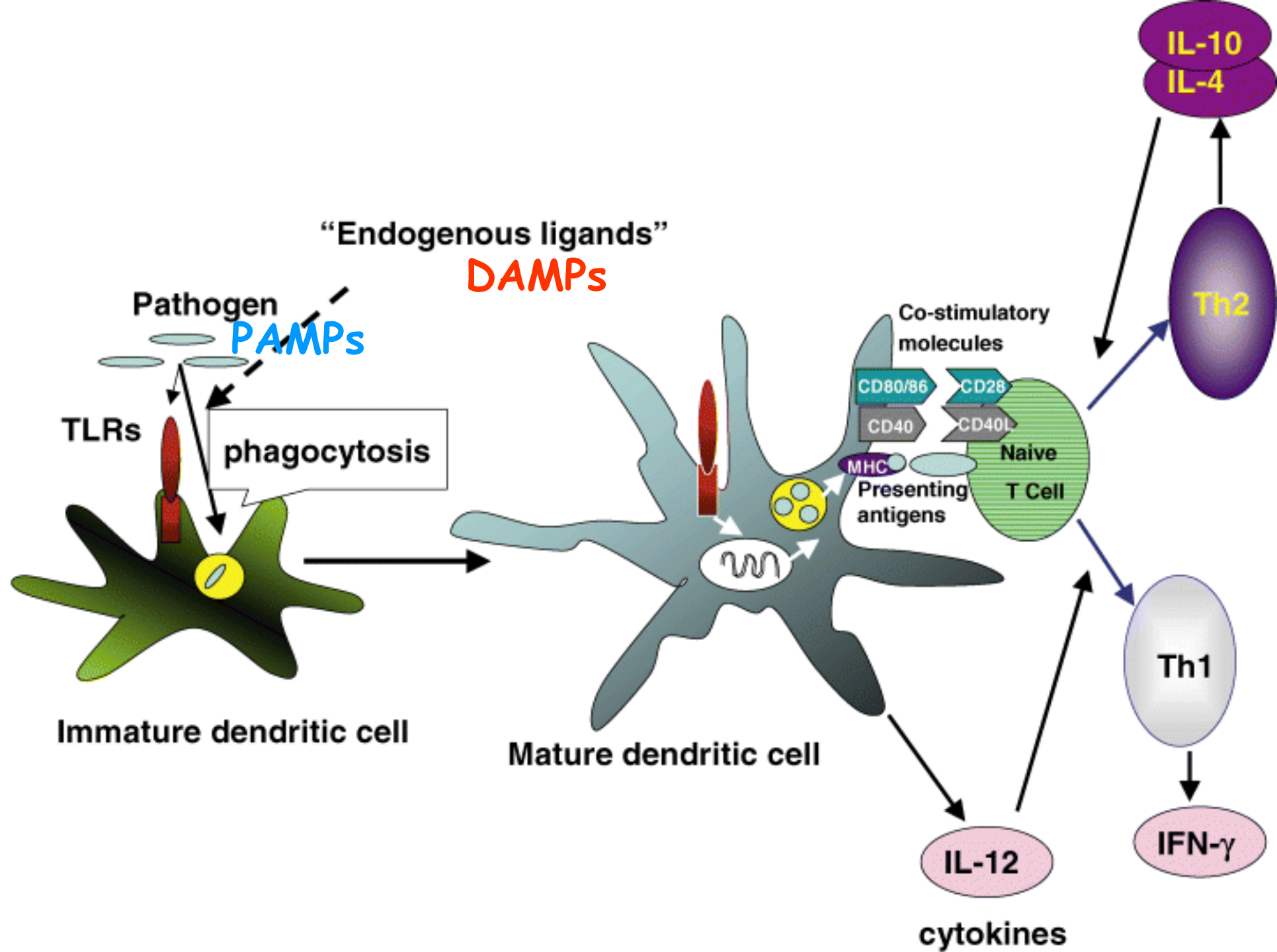
Pattern Recognition Receptors (PRRs)

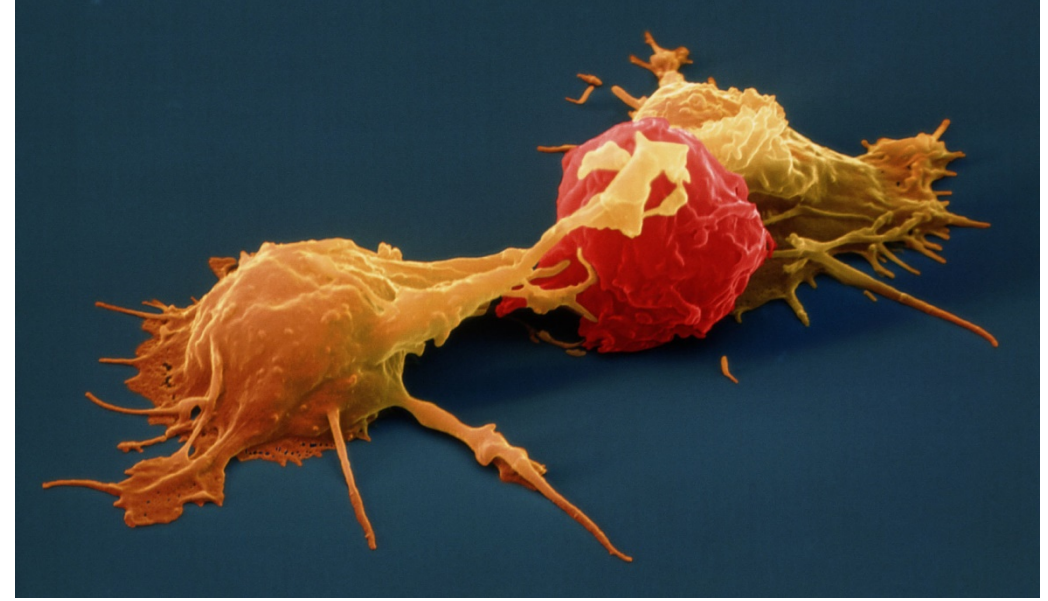
- Toll-like receptors (TLRs) - archetypical
- Non - TLRs such as
 - intracellular nucleotide-binding domains
 - leucine-rich-repeat-containing family (NLRs)
 - retinoic-acid inducible gene I (RIG-I)-like receptors
 - C-type lectin receptors (CLRs)

Toll-like receptors-TLRs

- οικογένεια (μεμβρανικών) υποδοχέων, που λειτουργούν ως PRRs
- περιγράφησαν για πρώτη φορά στη μύγα *Drosophila* (Toll)
- στον άνθρωπο έχουν περιγραφεί 10 μέλη (TLR1-10)
- στα θηλαστικά 11 μέλη

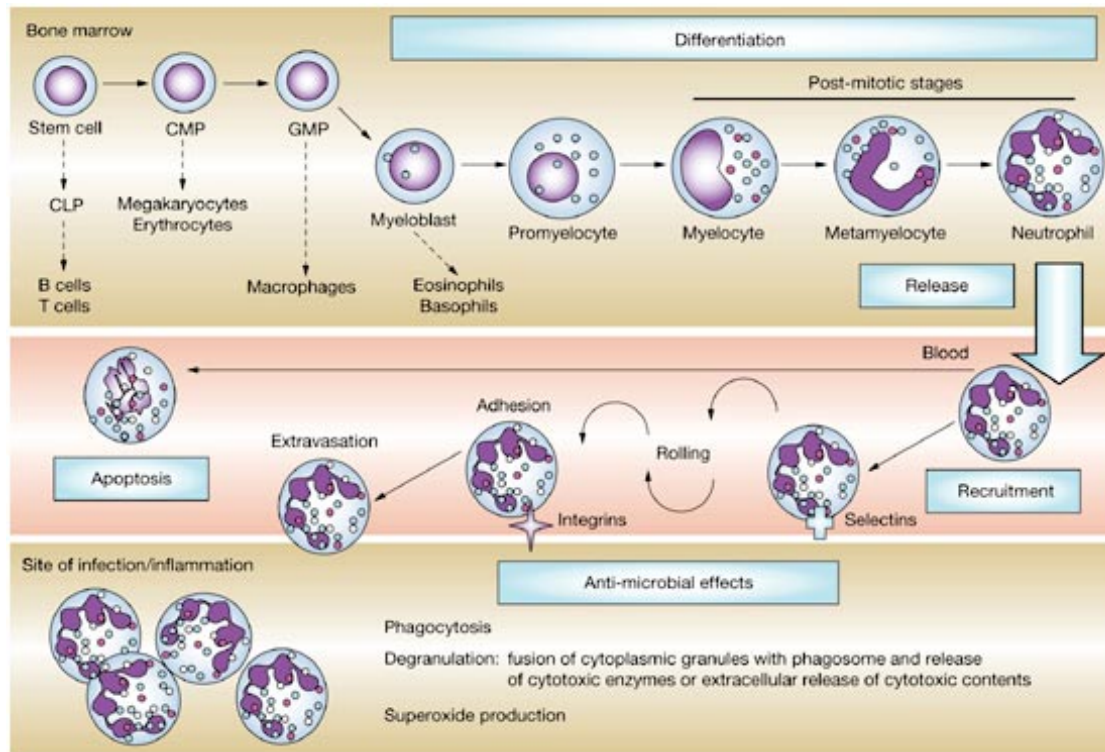






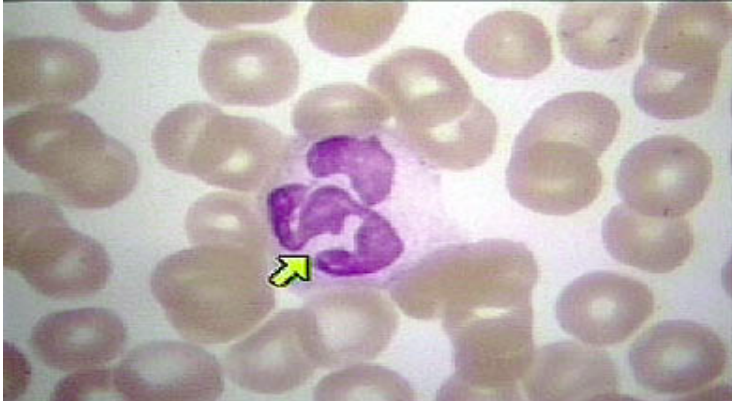
Κύτταρα φυσικής ανοσίας

ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα ή πολυμορφοπύρρηνα (ΤΜΤ)

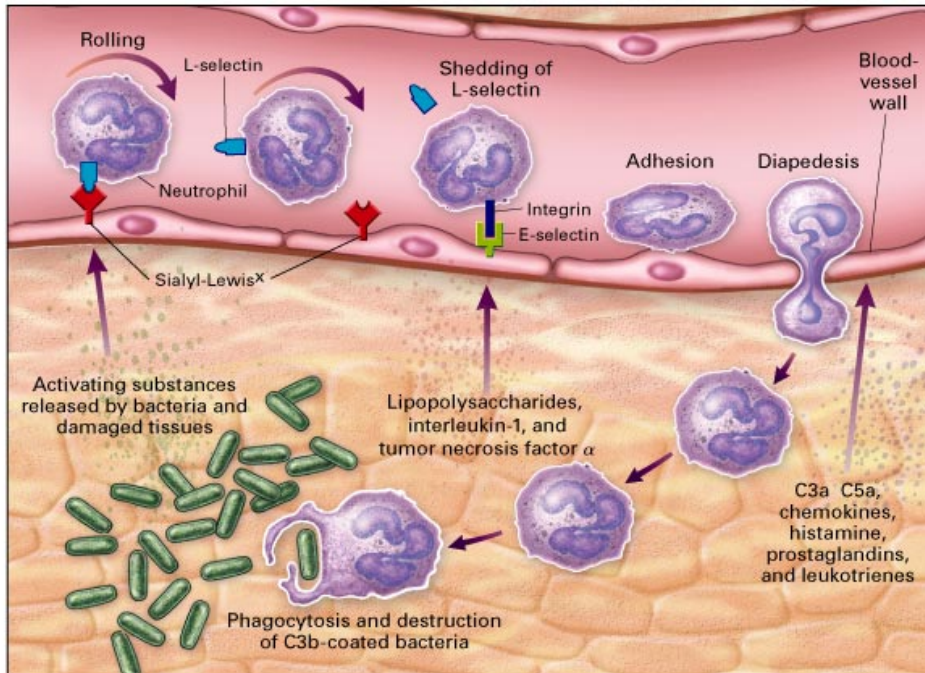


- παράγονται στο μυελό των οστών από το πολυδύναμο αρχέγονο κύτταρο (stem cell) με μια διαδικασία που διαρκεί 12-14 ημέρες
- απελευθερώνονται στην **κυκλοφορία** όπου **παραμένουν για 7-10 h**
- μεταναστεύουν στους **ιστούς** όπου έχουν **βραχεία διάρκεια ζωής**

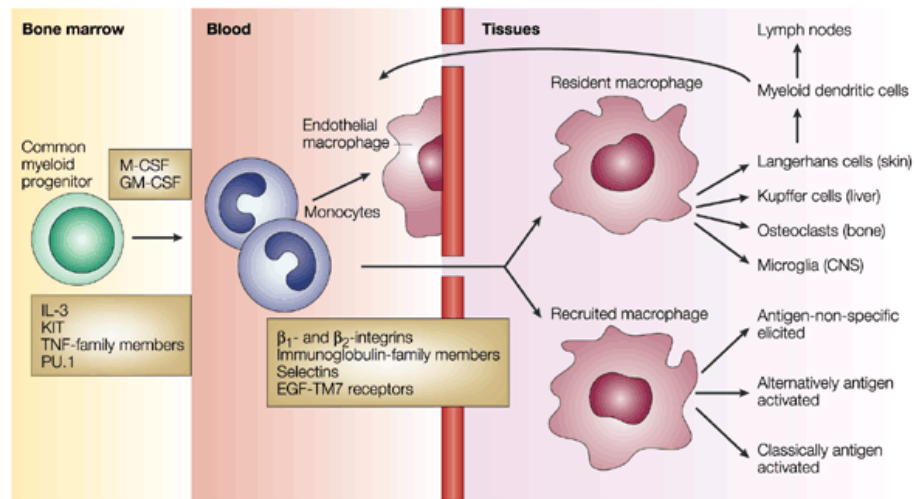
ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα ή πολυμορφοπύρρηνα (ΤΜΤ)



- κυρίαρχα φαγοκύτταρα του αίματος
- πρώτα κύτταρα στο σημείο της φλεγμονής (σε λίγες ώρες) απαντώντας σε χημειοτακτικά ερεθίσματα



σύστημα μονοκυττάρων/μακροφάγων



Nature Reviews | Immunology

μονοκύτταρα του αίματος
μεταναστεύουν στους ιστούς
όπου διαφοροποιούνται σε
εξειδικευμένα

μακροφάγα των ιστών

- κύτταρα Kupffer (ήπαρ)

- κυψελιδικά μακροφάγα
(πνεύμονες)

- κύτταρα μικρογλοίας
(νευρικό σύστημα)

- ιστοκύτταρα (συνδετικός
ιστός)

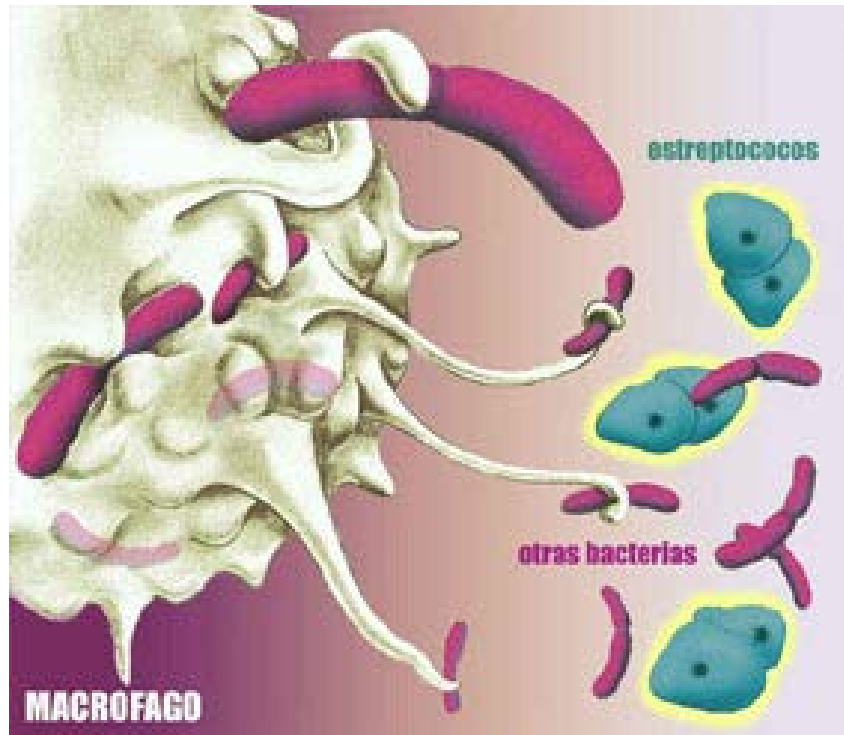
- μεσαγγειακά κύτταρα
(νεφρός)

- οστεοκλάστες (οστά)

μακροφάγα

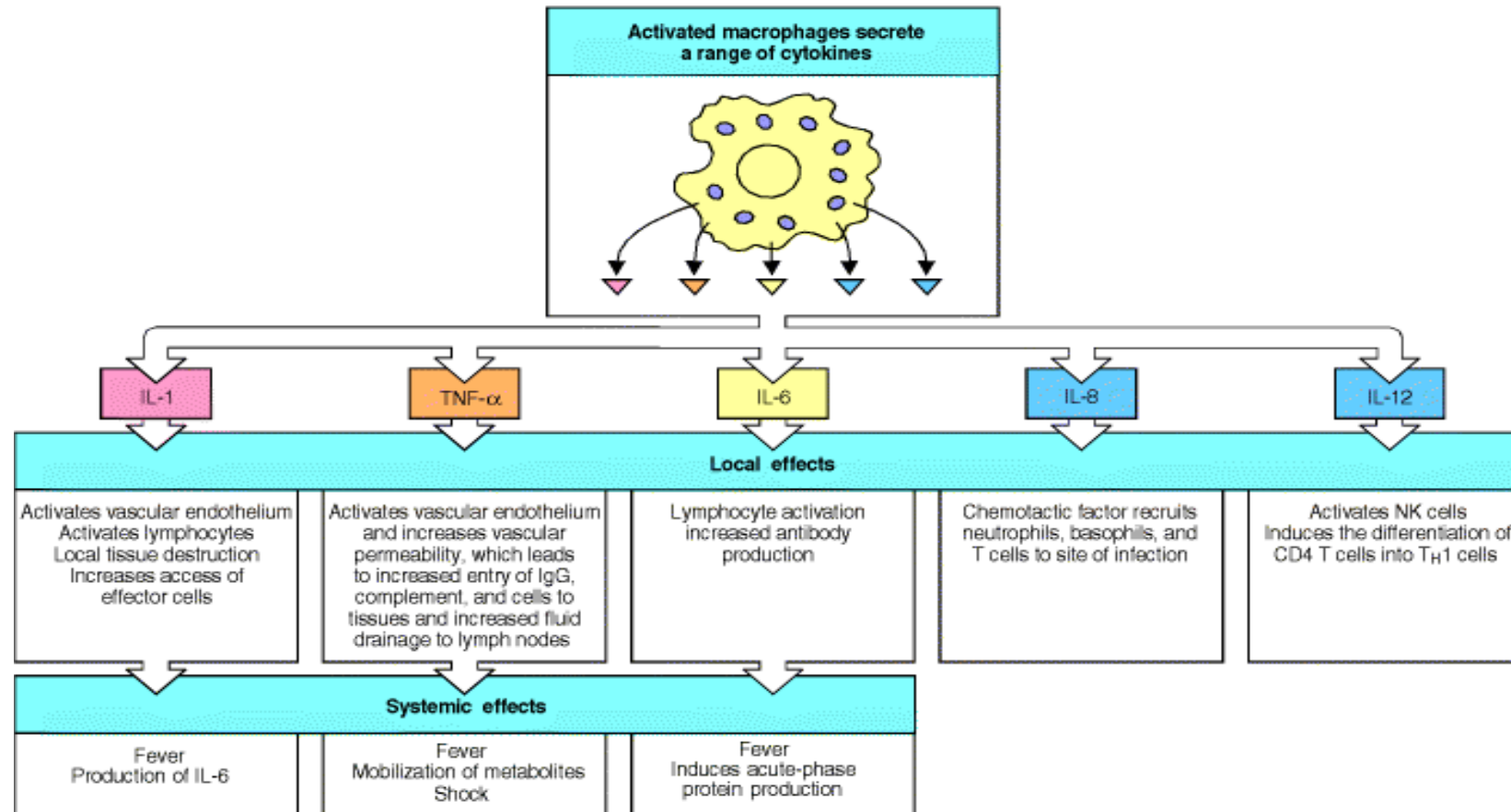
- απαντούν ταχέως σχεδόν όπως και τα ΤΜΤ
- παραμένουν περισσότερο στο σημείο της φλεγμονής (έχουν μεγαλύτερο χρόνο ζωής)
 - κύρια δραστικά κύτταρα στα όψιμα στάδια της φυσικής ανοσίας (1-2 μέρες μετά τη λοίμωξη)
- μπορούν να διαφοροποιηθούν περαιτέρω στο σημείο της λοίμωξης

κύριες λειτουργίες μακροφάγων



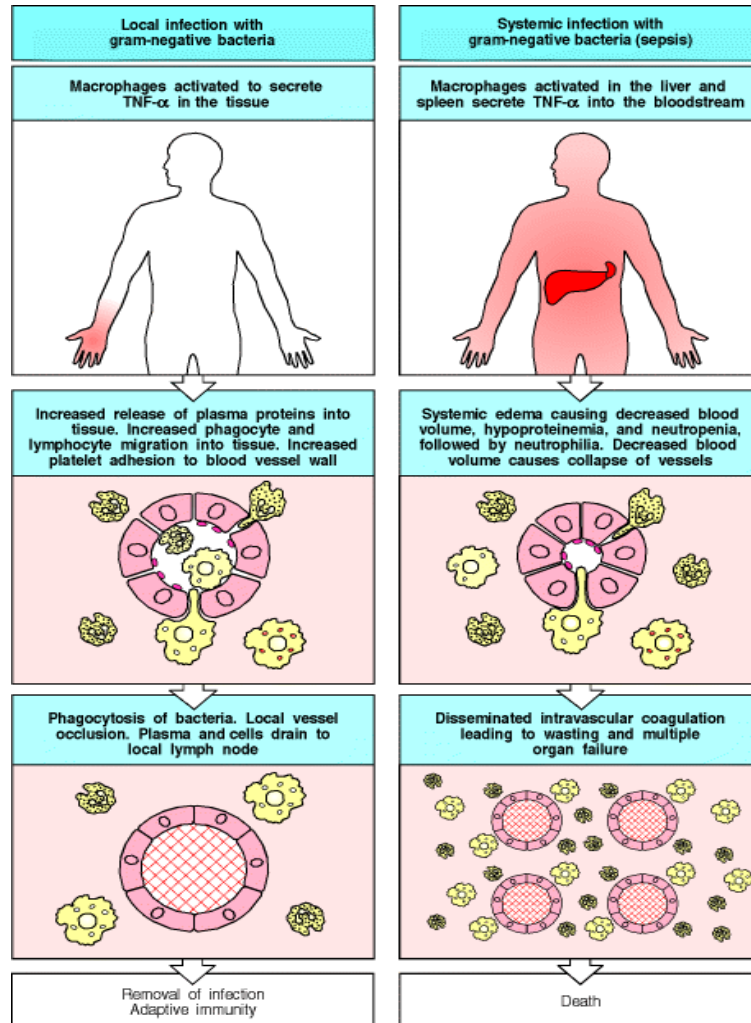
- φαγοκυττάρωση
- παρουσίαση του αντιγόνου στα Τ κύτταρα **λειτουργούν ως APC** → **συμμετέχουν στην ειδική ανοσιακή απάντηση**
- έκκριση κυτταροκινών

έκκριση κυτταροκινών από τα μακροφάγα



μόνο τα ενεργοποιημένα μακροφάγα παράγουν κυτταροκίνες

έκκριση TNF-α από τα μακροφάγα



Τοπική: ευεργετική

- φαγοκυττάρωση
- επαγωγή επίκτητης ανοσίας

Συστηματική: καταστροφική

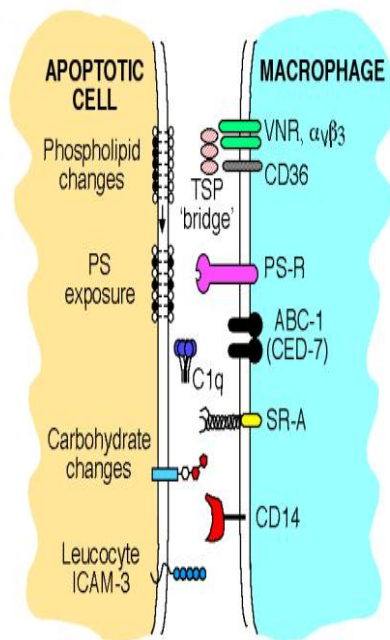
- σηπτικό shock
- διάχυτη ενδαγγειακή πήξη
- θάνατος

μακροφάγα

φαγοκυτταρώνουν

➤ αποπτωτικά κύτταρα

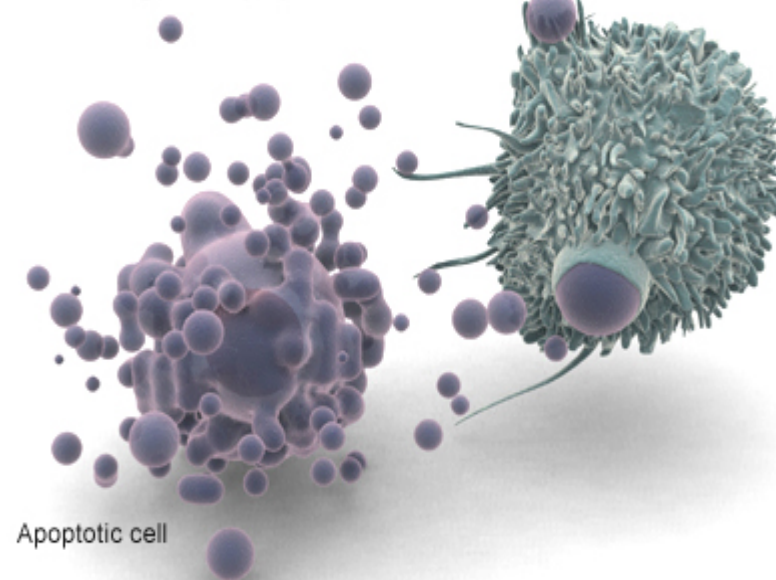
➤ κύτταρα όγκων



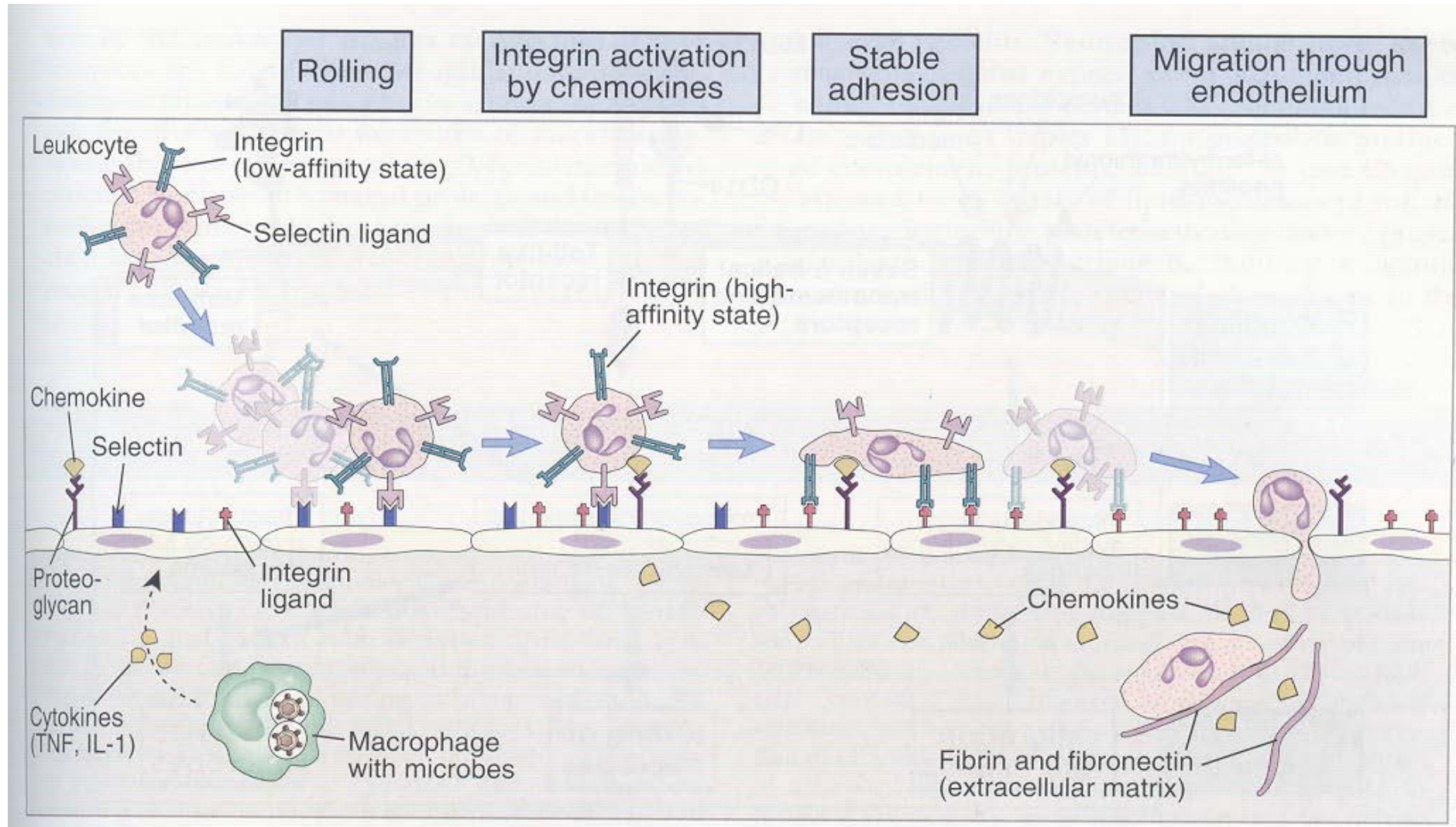
Gregory CD Non-inflammatory/anti-inflammatory
CD14 responses: CD14 in apoptosis. Chem Immunol 2000;74:122-40

Final stage of apoptosis

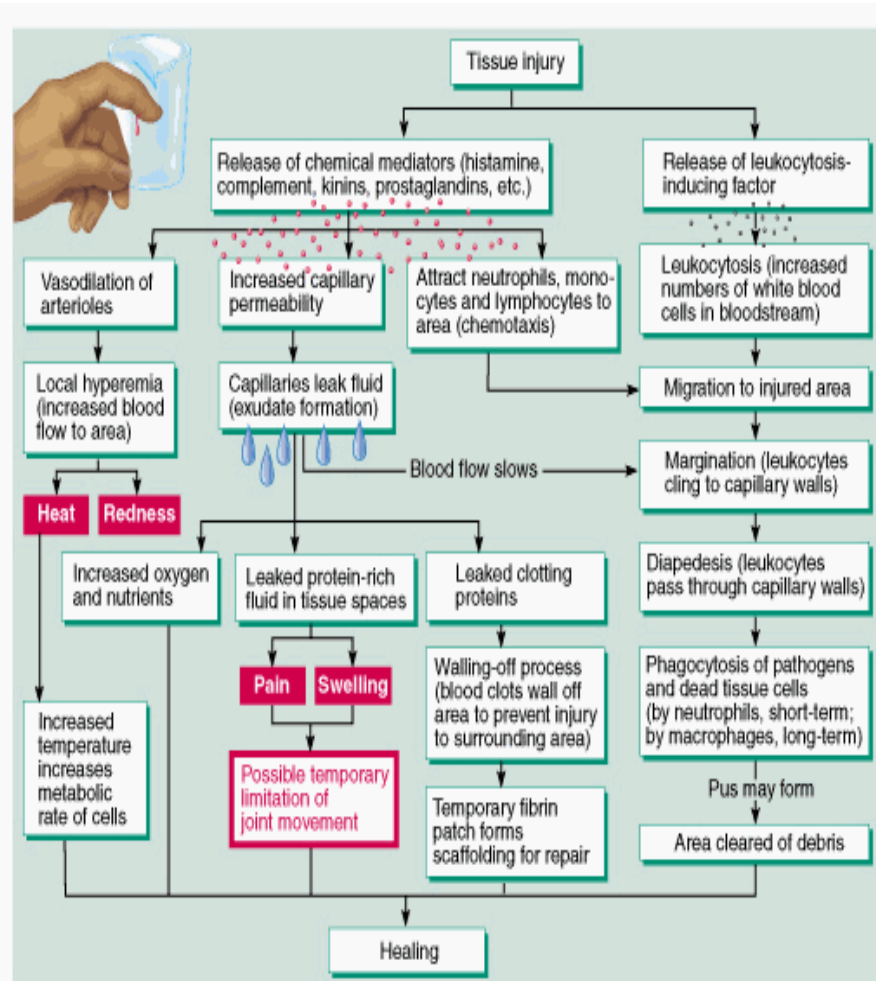
White blood cell



προσέλκυση στο σημείο της φλεγμονής



φλεγμονώδης απάντηση

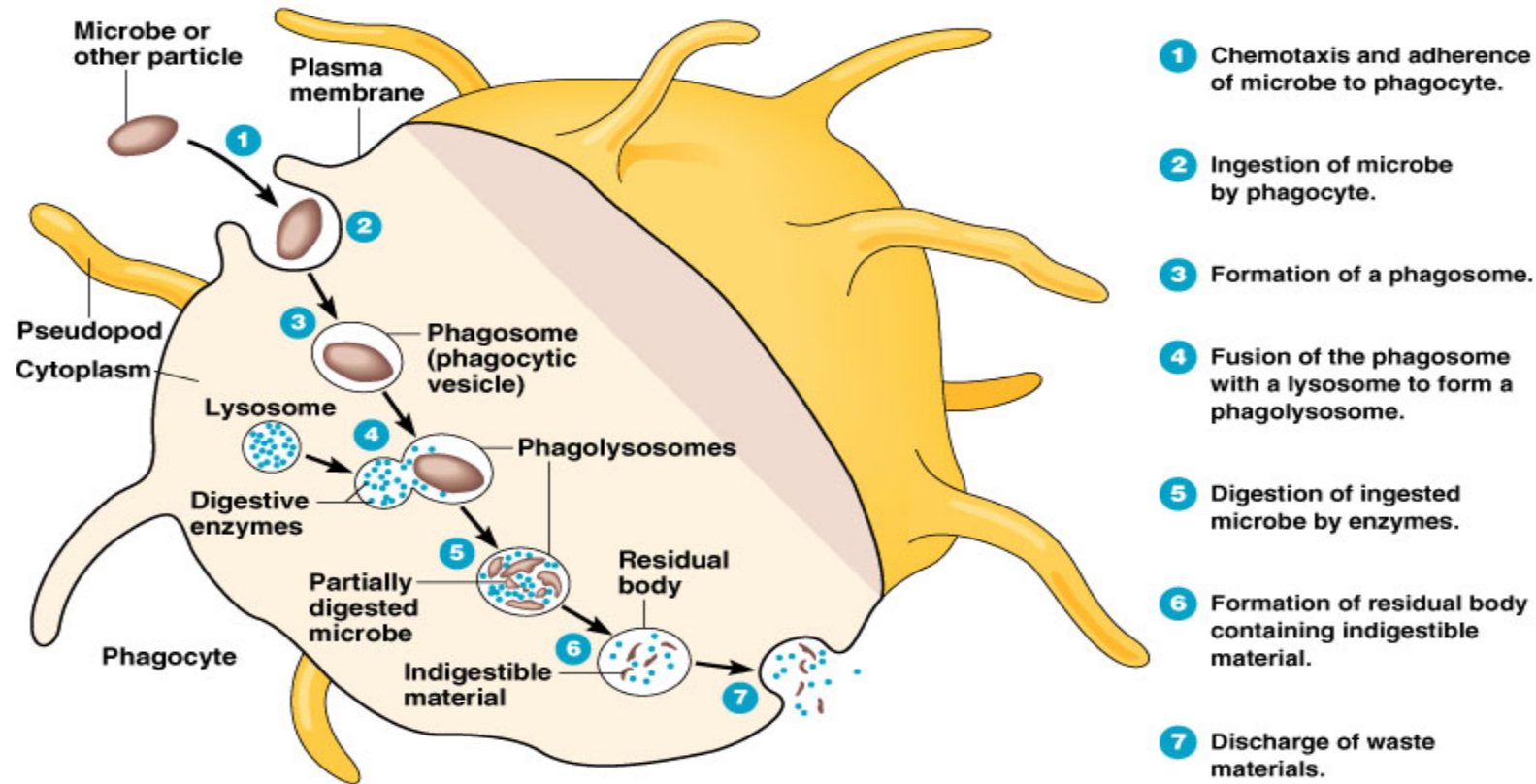


Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

σημεία της φλεγμονής

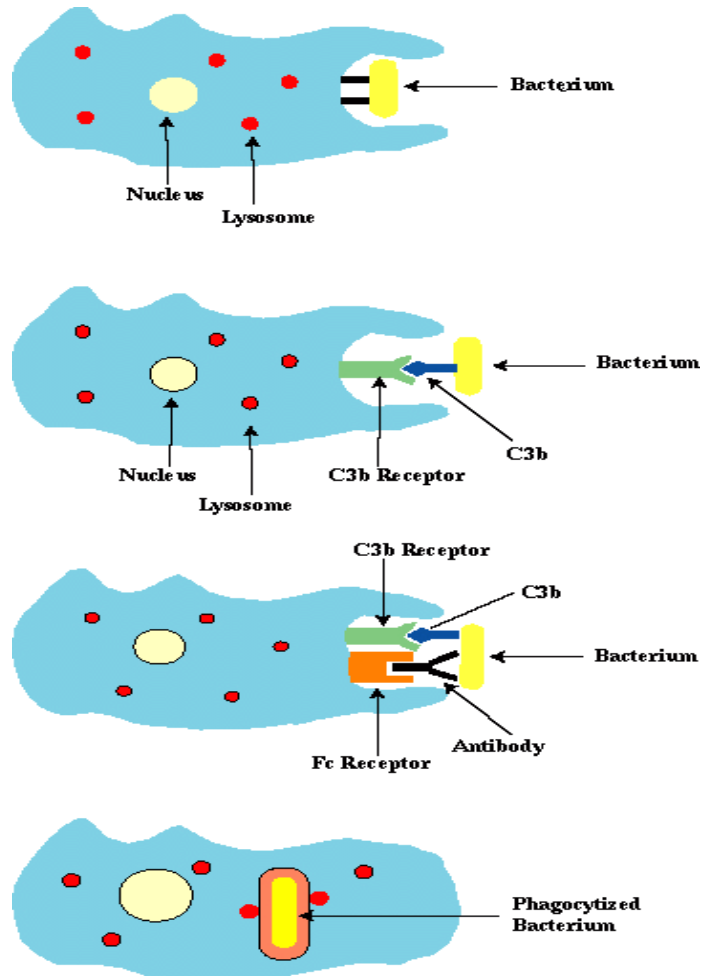
- **ερυθρότητα & αύξηση της θερμοκρασίας** (αγγειοδιαστολή)
- **οίδημα** (εξαγγείωση υγρού λόγω αυξημένης διαπερατότητας των αγγείων)
- **πόνος** (δράση βραδυκινίνης που διεγείρει τους υποδοχείς του πόνου στο δέρμα)

φαγοκυττάρωση



(a) Phases of phagocytosis

οψωνίνες - οψωνινοποίηση



οι οψωνίνες
διευκολύνουν τη
φαγοκυττάρωση
έως και 4000 φορές

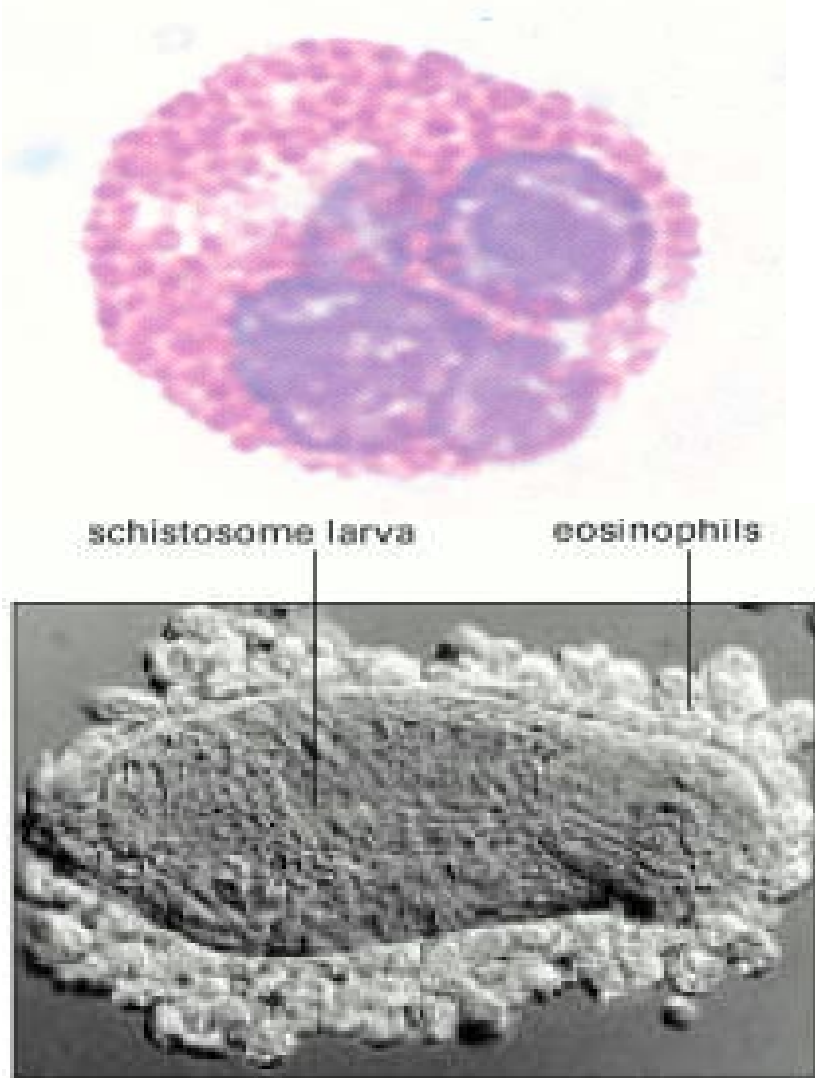
καταστροφή των ενδοκυττωθέντων μικροοργανισμών

- με τις κυτταροτοξικές πρωτεΐνες των
λυσωσωμάτων /κοκκίων
- με τους δραστικούς μεταβολίτες του οξυγόνου
(αναπνευστική έκρηξη)
- με τους δραστικούς μεταβολίτες του αζώτου

δραστικοί μεταβολίτες οξυγόνου (ROS) αναπνευστική έκρηξη (respiratory burst)

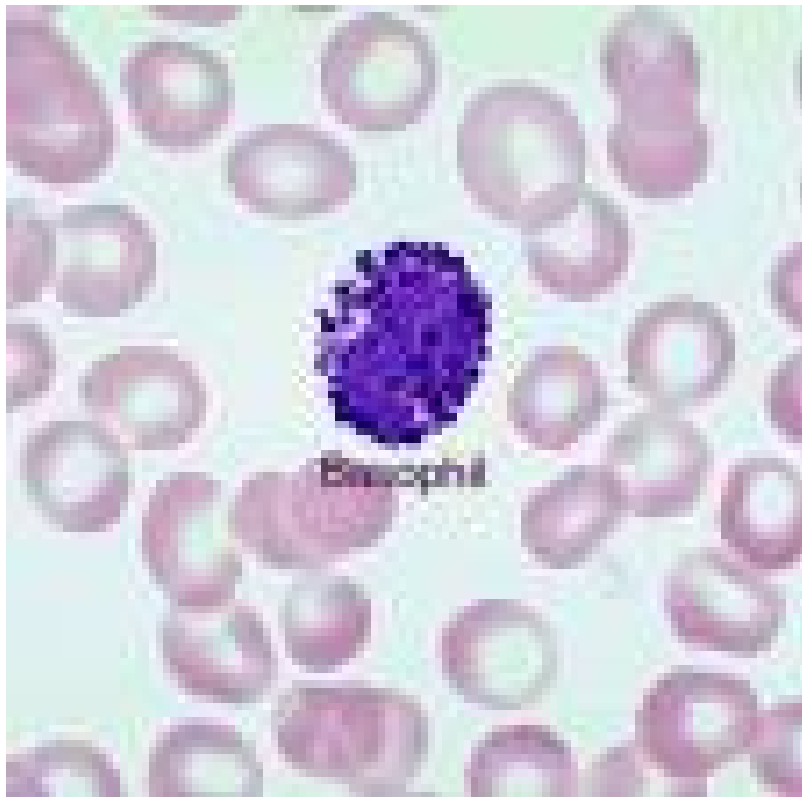
- δραστικοί μεταβολίτες από το **ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-)**
- ενεργοποίηση του **οξειδωτικού μεταβολισμού** γνωστού και ως **αναπνευστική έκρηξη**
- **NADPH οξειδάση**

ηωσινόφιλα κοκκιοκύτταρα



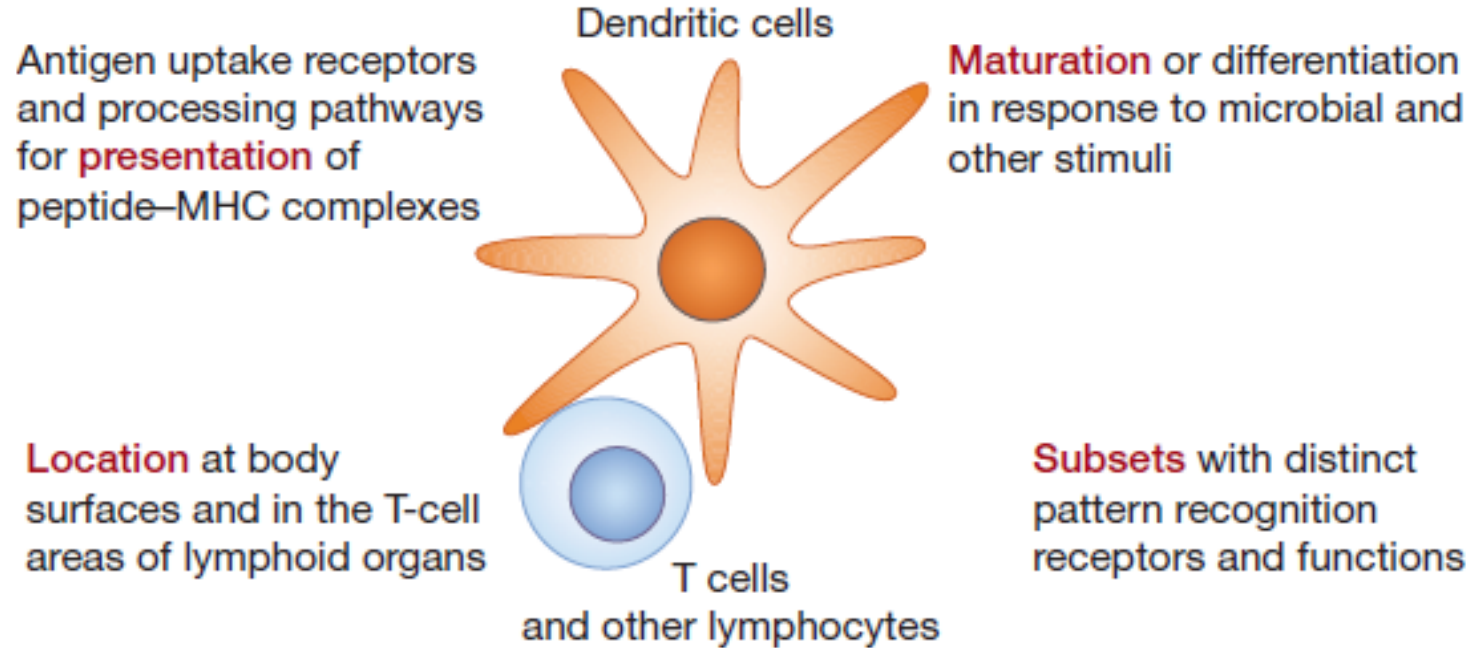
- αντιμετώπιση των παρασιτικών λοιμώξεων (κυτταροτοξικά για παράσιτα καλυμένα με IgE)
- ανάπτυξη των αλλεργικών παθήσεων

βασεόφιλα κοκκιοκύτταρα

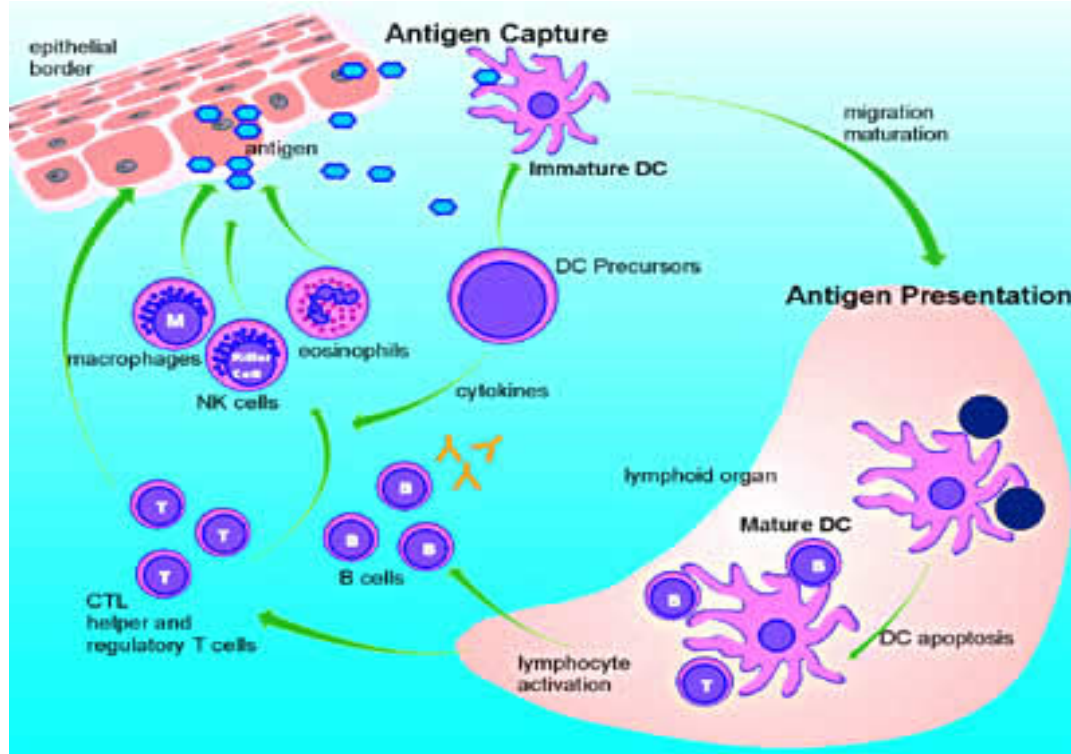


- περιέχουν βασεόφιλα κοκκία
(ισταμίνη → επάγει την φλεγμονή)
- κυκλοφορούν στο αίμα
- ζουν για λίγες μέρες

δενδριτικά κύτταρα



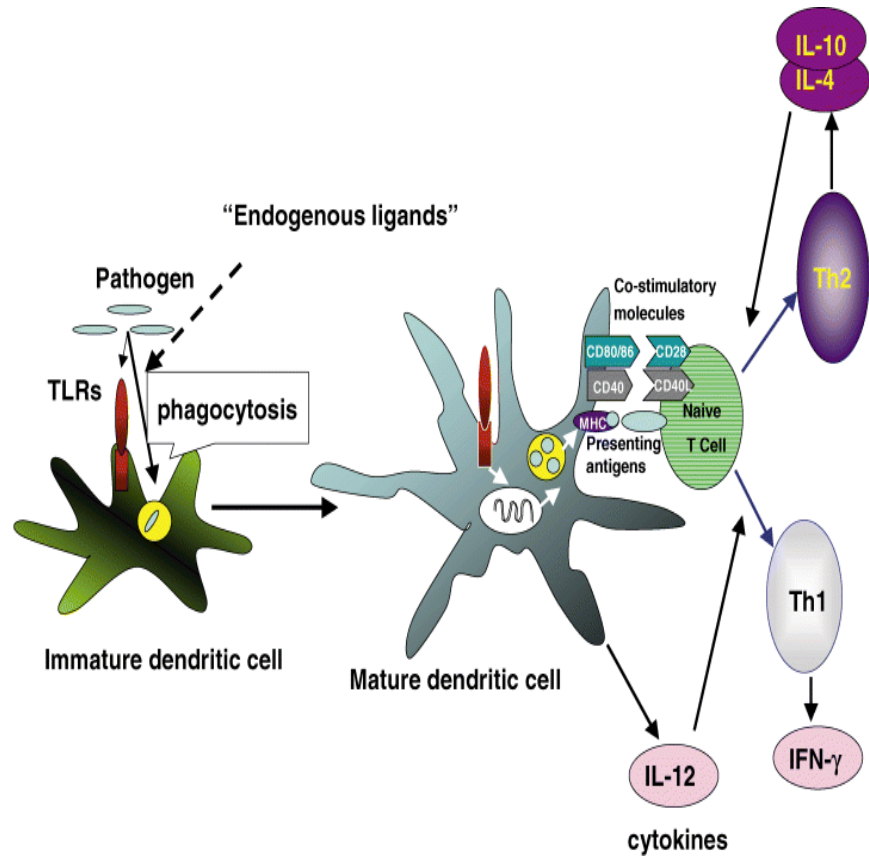
δενδριτικά κύτταρα



σε συνθήκες ηρεμίας
φαγοκυτταρώνουν συνεχώς
αποπίπτοντα ΨΣ κύτταρα

- **κατασκηνώνουν στις πύλες εισόδου** → συλλαμβάνουν αντιγόνα από τα εισβάλλοντα παθογόνα
- **μεταναστεύουν στα περιφερικά λεμφικά όργανα** (λεμφαδένες)
- **αλληλοεπιδρούν με**
 - T κύτταρα (κυρίως)
 - B κύτταρα
 - NK κύτταρα

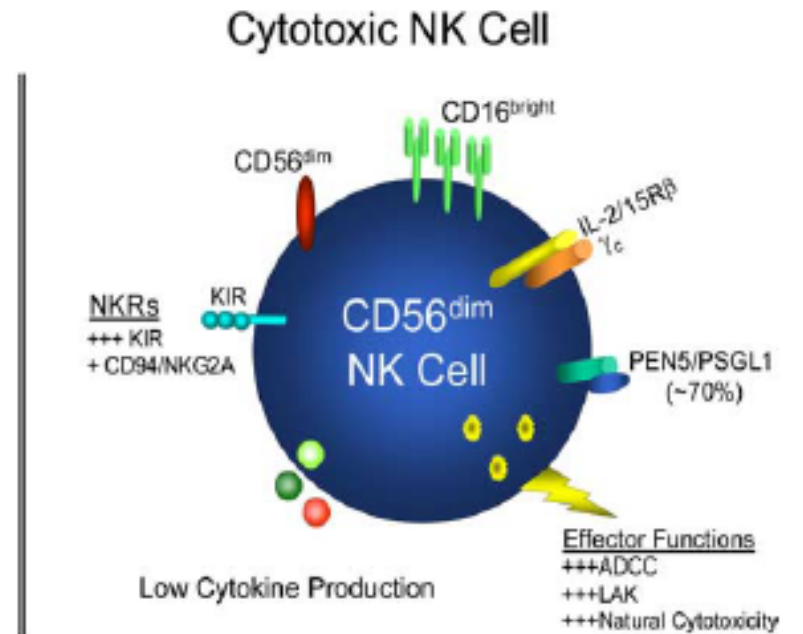
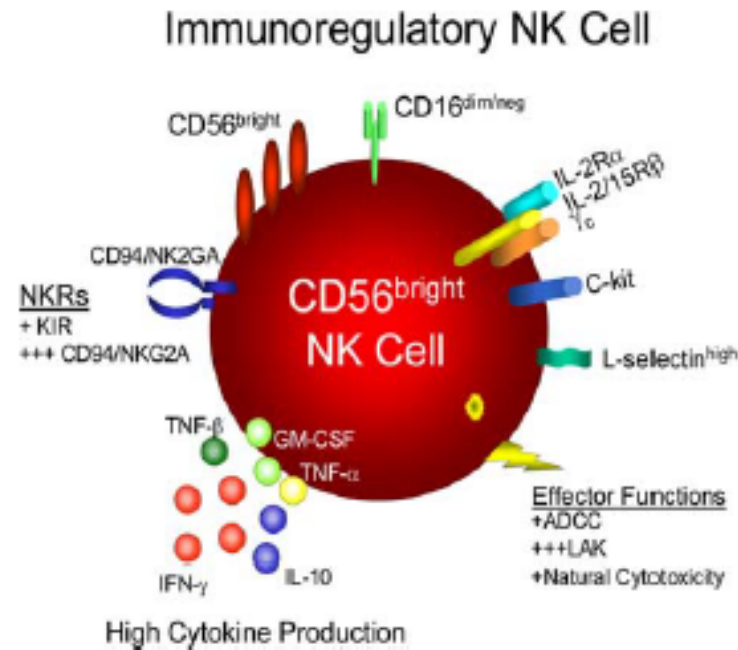
δενδριτικά κύτταρα



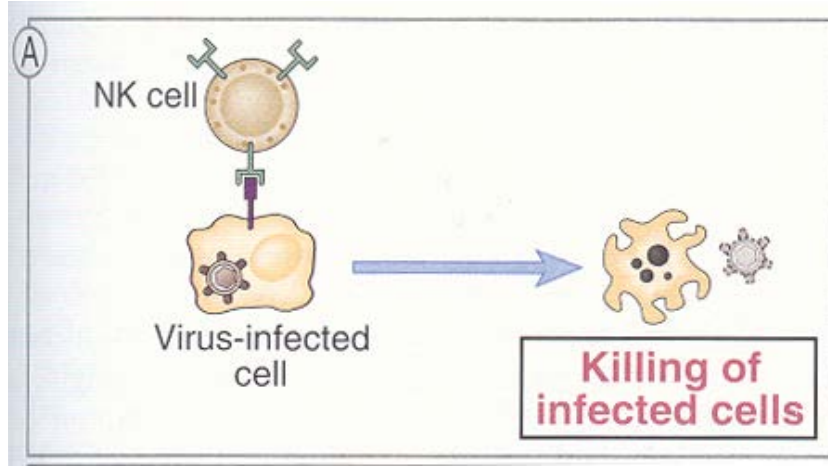
ώριμα ΔΚ

- ✓ χάνουν τη φαγοκυτταρική τους ικανότητα
- ✓ Επαγγελματικά κύτταρα **αντιγονοπαρουσίασης** στα Τ κύτταρα → **επαγωγή ειδικής ανοσίας**

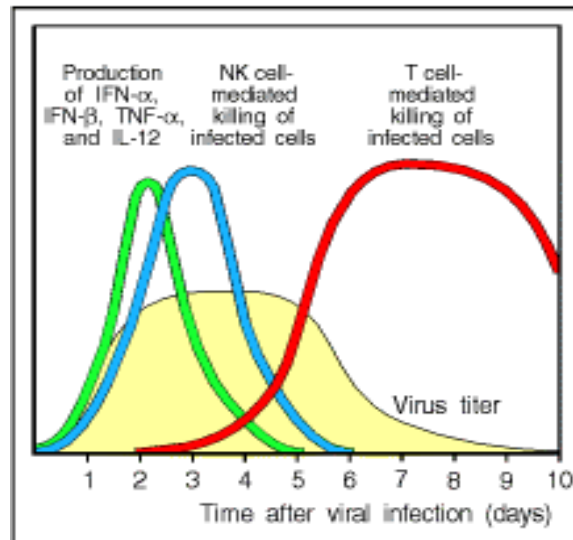
φυσικά κυτταροκτόνα (Natural Killer - NK)



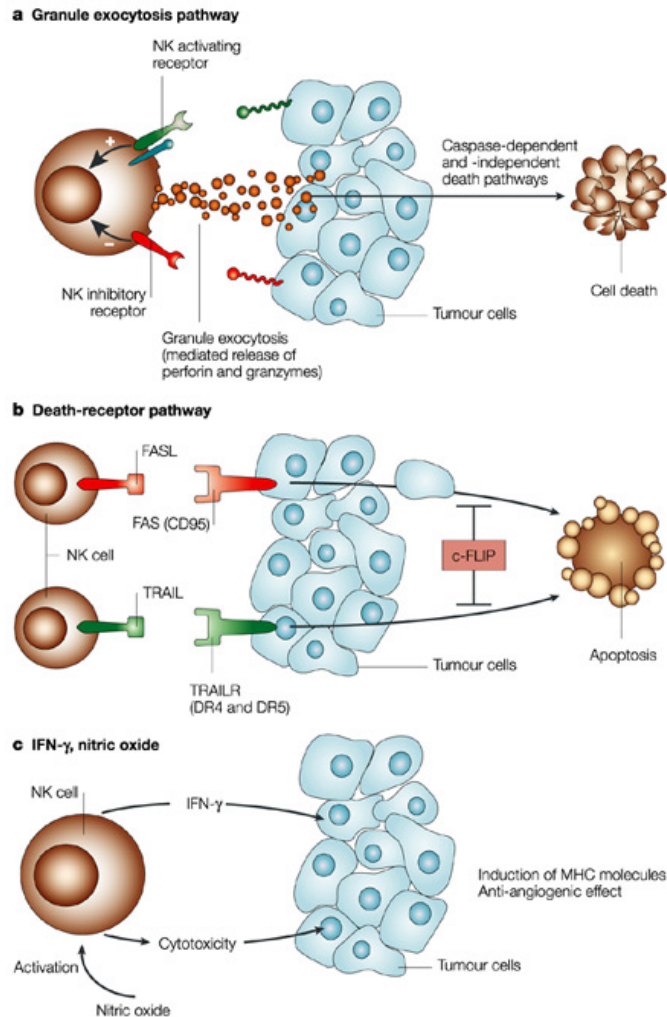
φυσικά κυτταροκτόνα (Natural Killer - NK)



- έχουν την ικανότητα να λύουν
 - κύτταρα μολυσμένα από ιούς ή ενδοκυττάρια μικρόβια
 - καρκινικά κύτταρα
 - αλλογενή κύτταρα
- χωρίς προηγούμενη ευαισθητοποίηση (άμεση απάντηση)
- χωρίς MHC περιορισμό



NK τρόπος δράσης



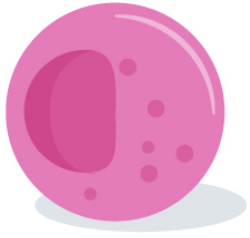
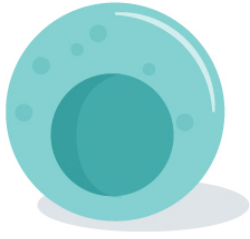
ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ
(όμοια με αυτή
των CTLs)

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ $M\Phi$ (μέσω
IFN- γ) → καταστροφή
φαγοκυτταρωθέντων
μικροοργανισμών

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ
ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

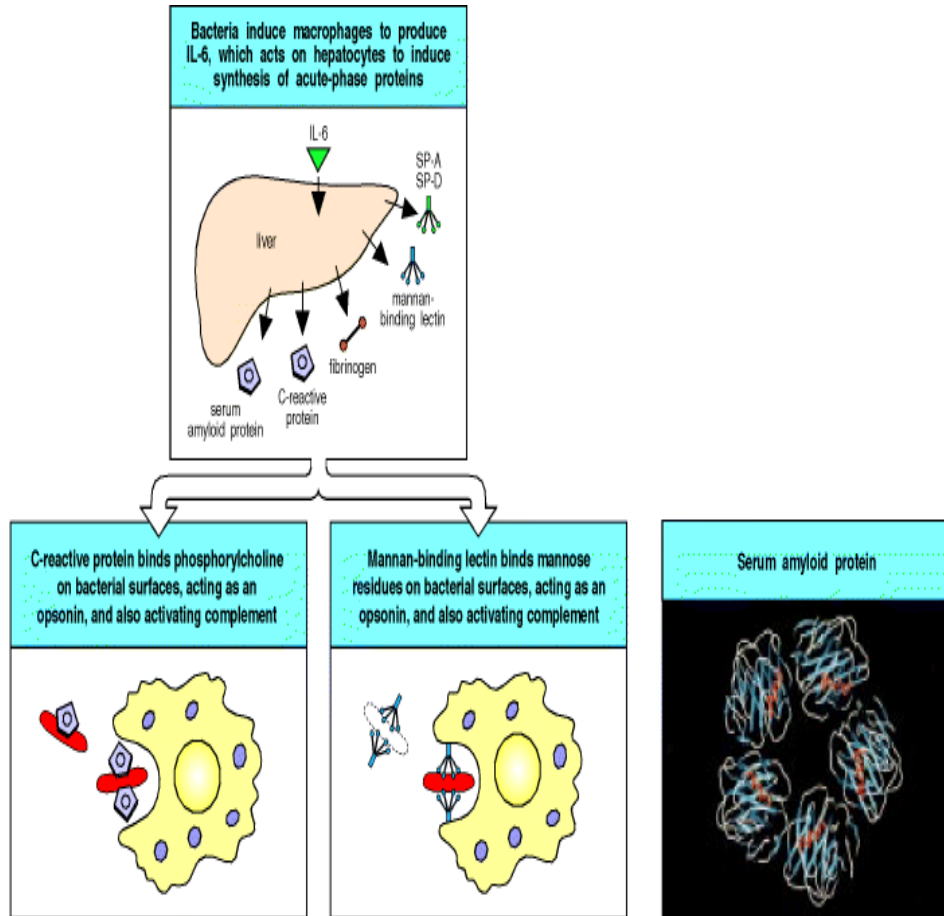
Disease Fighters With Secret Lives

Some immune system cells do more than fight infections: They assist with processes that reshape and heal tissues or help them to function more efficiently.

CELL	IMMUNOLOGICAL ROLE	NEWLY DISCOVERED ROLES
Macrophage 	Engulfs cellular debris, bacteria, fungi and other foreign objects in the body. Presents antigens that trigger further immune responses.	Repairs tissues, sculpts vasculature and improves electrical signaling in the heart. Removes unneeded synapses in the brain. Helps to regulate body heat and to recycle iron.
Natural Killer Cell 	Quickly destroys cells tumor cells and virally infected cells.	Releases growth factors and other signals that direct the remodeling of blood vessels in the uterus during pregnancy. Regulates the migration of fetal cells into the uterus.
Regulatory T Cell 	Modulates immune responses. Helps to control autoimmune diseases.	Supports hair growth. Regulates insulin responses by fatty tissues. Sustains healthy microbiome in intestines. Helps with lung tissue repair.

Χημικοί μεσολαβητές

πρωτεΐνες οξείας φάσεως

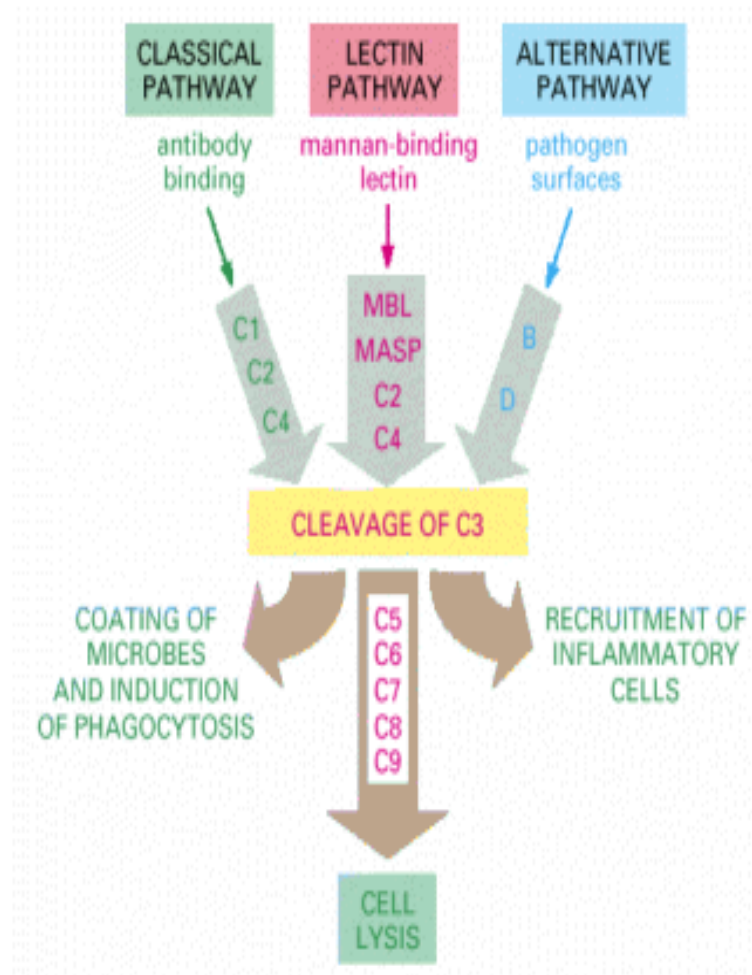


- **ηπατοκύτταρα** - απάντηση στις κυτταροκίνες (IL-1, **IL-6**, TNF-α) που εκκρίνονται από τα μακροφάγα
- **δραματική αύξηση της συγκέντρωσής τους στη φλεγμονή**
 - **πενταξίνες (CRP, SAP)**
 - **κολλεκτίνες (MBL)**
 - **παράγοντες πήξεως (ινωδογόνο)**
 - **παράγοντες συμπληρώματος**

C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)

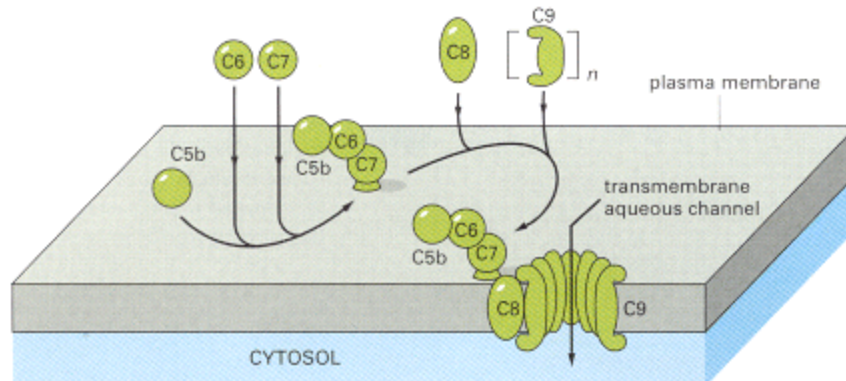
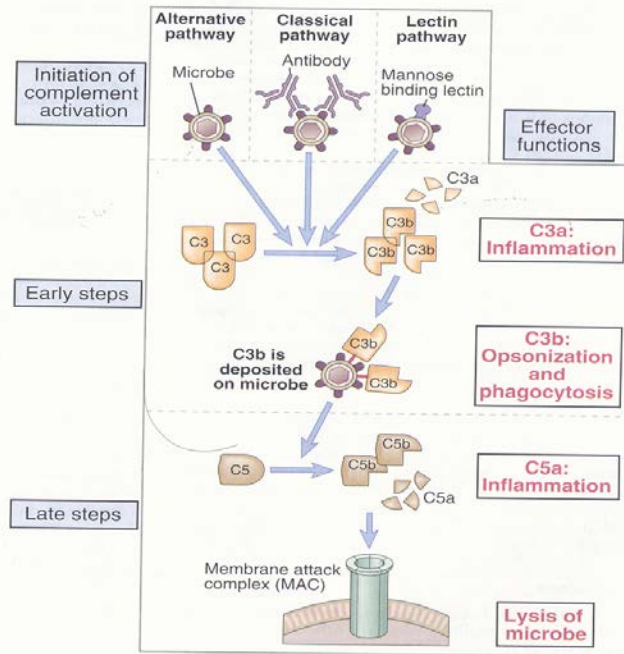
- πρωτεΐνη του ορού που ανήκει στις πενταξίνες
- συνδέεται με τη φωσφοροχολίνη βακτηρίων και λιποπολυσακχαρίδες μυκήτων
- ενεργοποιεί την κλασσική οδό του συμπληρώματος (μέσω σύνδεσης με το C1q)
- επάγει την φαγοκυττάρωση των παθογόνων (οψωνίνη)

σύστημα του συμπληρώματος (Complement-C)



- αποτελείται από 30 και πλέον πρωτεΐνες του ορού και μεμβρανικές πρωτεΐνες ,
- η ενεργοποίηση του C λαμβάνει χώρα ως ένας «καταρράκτης» αντιδράσεων, μέσω:
- της κλασσικής οδού
- της εναλλακτικής οδού
- οδού της λεκτίνης

σύστημα του συμπληρώματος (Complement-C)

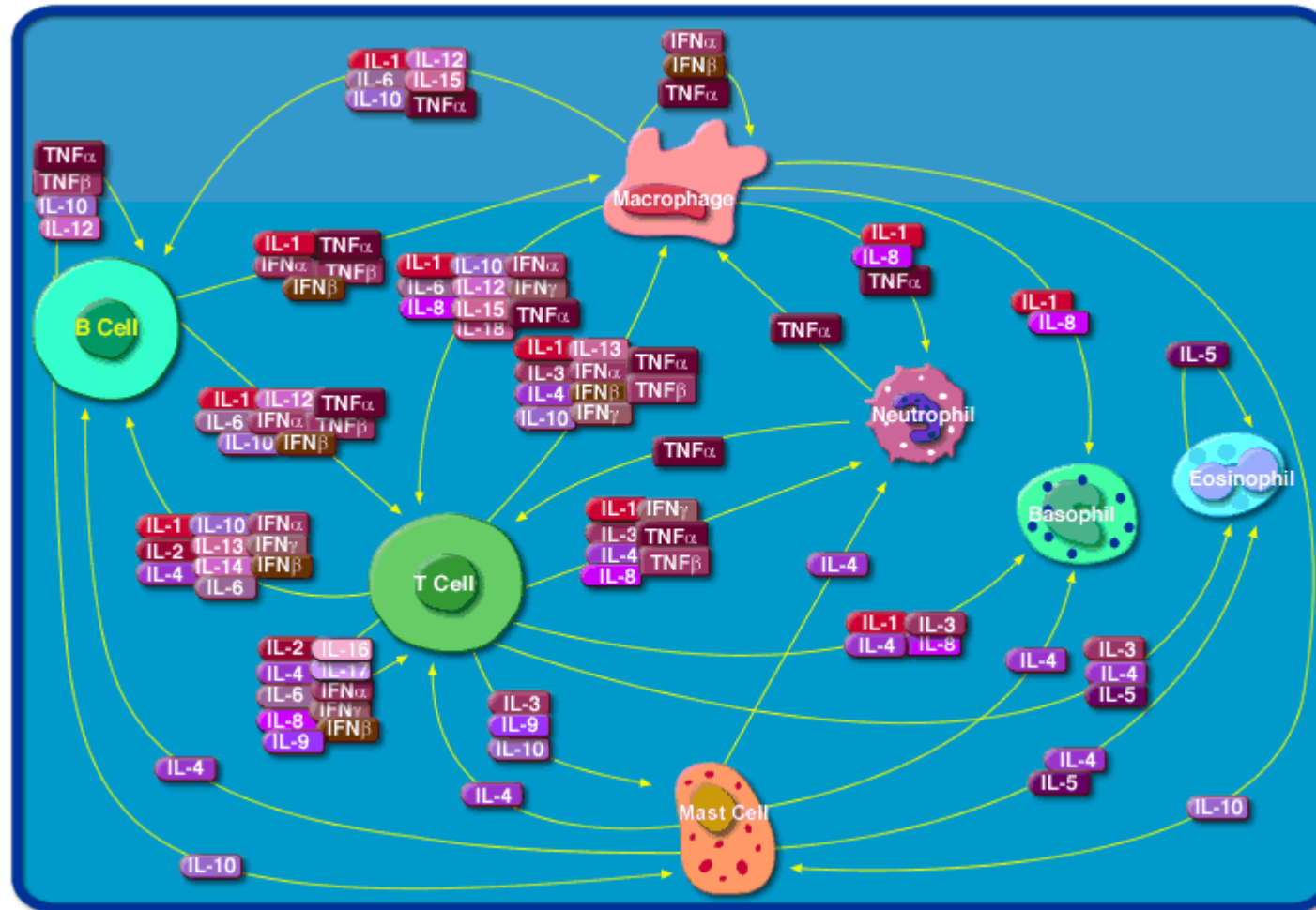


δράση του συμπληρώματος

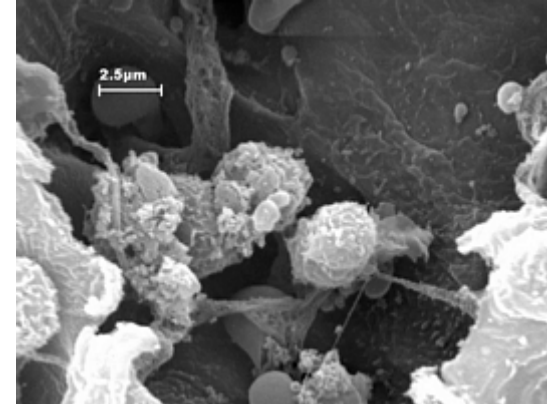
- **C3b**: επάγει τη φαγοκυττάρωση (**οψωνίνη**)
- **C3a, C5a**: χημειοτακτικοί παράγοντες φαγοκυττάρων
- **MAC (C5bC6C7C8C9)**: προκαλεί λύση των μικροβίων μέσω σχηματισμού πόρων στη μεμβράνη τους

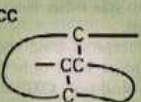
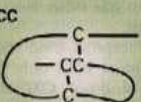
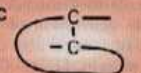
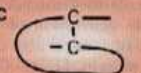
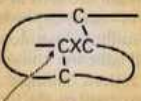
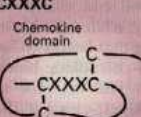
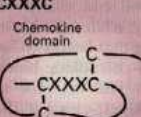
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

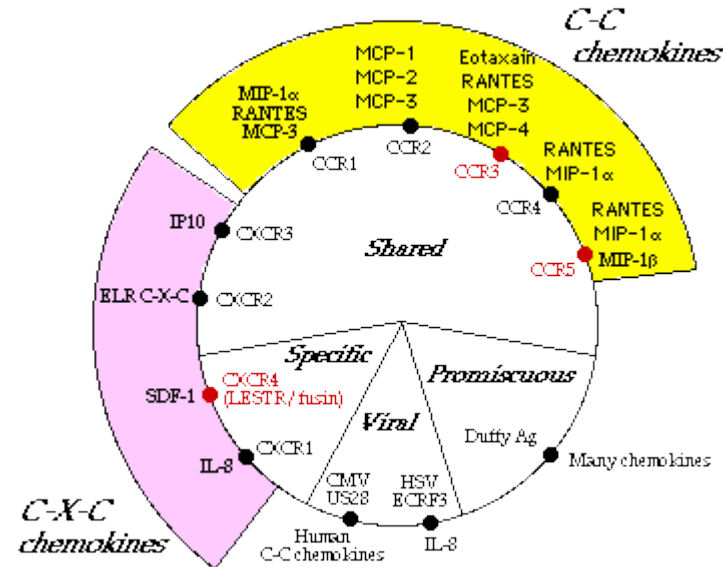
Διαδίκτυο κυτταροκινών



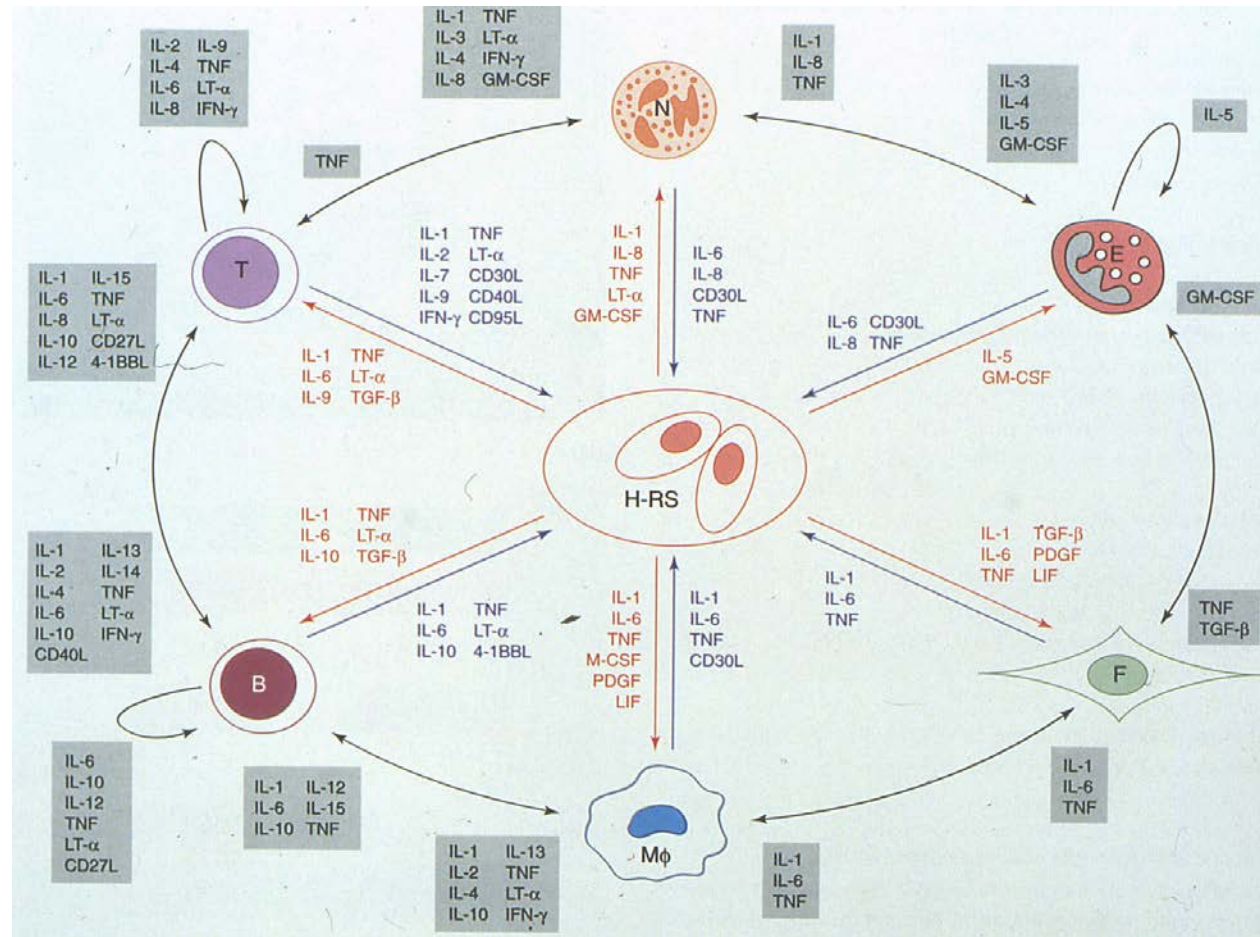
χημειοκίνες



Chemokine	Receptor	Cell Type
 MCP-3, -4; MIP-1 α ; RANTES MCP-3, -4; eotaxin-1, -2; RANTES	 CCR1 CCR3	Eosinophil
MCP-1, -2, -3, -4, -5 MCP-3, -4; eotaxin-1, -2; RANTES	CCR2 CCR3	Basophil
 MCP-3, -4; MIP-1 α ; RANTES MCP-1, -2, -3, -4, -5 MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES I-309 MDC, HCC-1, TECK	CCR1 CCR2 CCR5 CCR8 ?	Monocyte
Fractalkine	CX ₃ CR1	
SDF-1	CXCR4	
 MCP-3, -4; MIP-1 α ; RANTES MCP-1, -2, -3, -4, -5 TARC MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES MIP-3 β (ELC) PARC, SLC, 6CKine (Exodus-2)	CCR1 CCR2 CCR4 CCR5 CCR7 ?	Activated T cell
Fractalkine	CX ₃ CR1	
IP-10, MIG, I-TAC	CXCR3	
 PARC, DC-CK1 Lymphotactin	? ?	Resting T cell
SDF-1	CXCR4	
 MCP-3, -4; MIP-1 α ; RANTES MCP-1, -2, -3, -4, -5 MCP-3, -4; eotaxin 1, 2; RANTES TARC MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES MIP-3 γ (LARC, Exodus-1) MDC, TECK	CCR1 CCR2 CCR3 CCR4 CCR5 CCR6 ?	Dendritic cell
SDF-1	CXCR4	
 Interleukin-8, GCP-2 Interleukin-8, GCP-2; GRO- α , - β , - γ ; ENA-78; NAP-2; LIX	CXCR1 CXCR2	Neutrophil
MCP-1, -2, -3, -4, -5 MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES	CCR2 CCR5	
 Fractalkine	CX ₃ CR1	Natural killer cell
IP-10, MIG, I-TAC	CXCR3	



Με πόσα είδη κυττάρων μπορεί να αλληλεπιδρά ένα κύτταρο;



Ανοσιακό σύστημα

- Για πολλά χρόνια πίστευαν ότι το ανοσιακό σύστημα ήταν βασικά ό,τι υπήρχε στο αίμα.
- Αντιλήφθηκαν μετά ότι υπάρχει σε όλους τους ιστούς.
- Τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος στους ιστούς ευρίσκονται σε επικοινωνία.
- Θα πρέπει να σκεφτόμαστε το ανοσιακό σύστημα σαν ένα δίκτυο – μήτρα, που υπάρχει σε ολόκληρο τον οργανισμό.

D.M.Popesku, R.A.Botting, Muzlifah Haniffa Nature 2019

Ευχαριστώ πολύ

- Βιολέττα Καψιμάλη
- Κατερίνα Τάραση

