

# Μικροβίωμα: ο ρόλος του στο κατώτερο ουροποιητικό

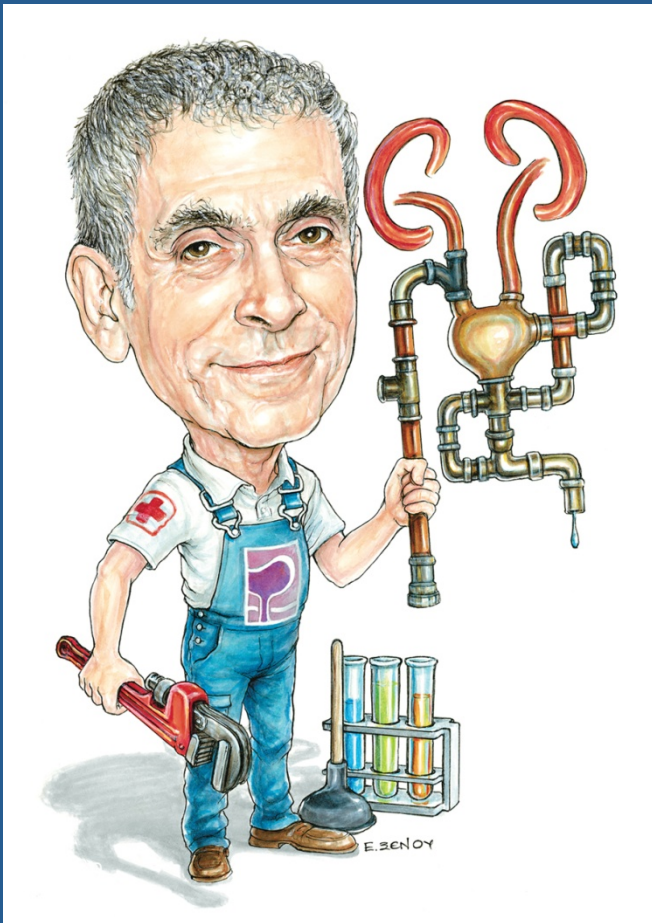
Απόστολος Αποστολίδης

Αναπλ. Καθ. Ουρολογίας-Νευροουρολογίας  
ΑΠΘ

Β' Ουρολογική Κλινική, Γ.Ν. 'Παπαγεωργίου'

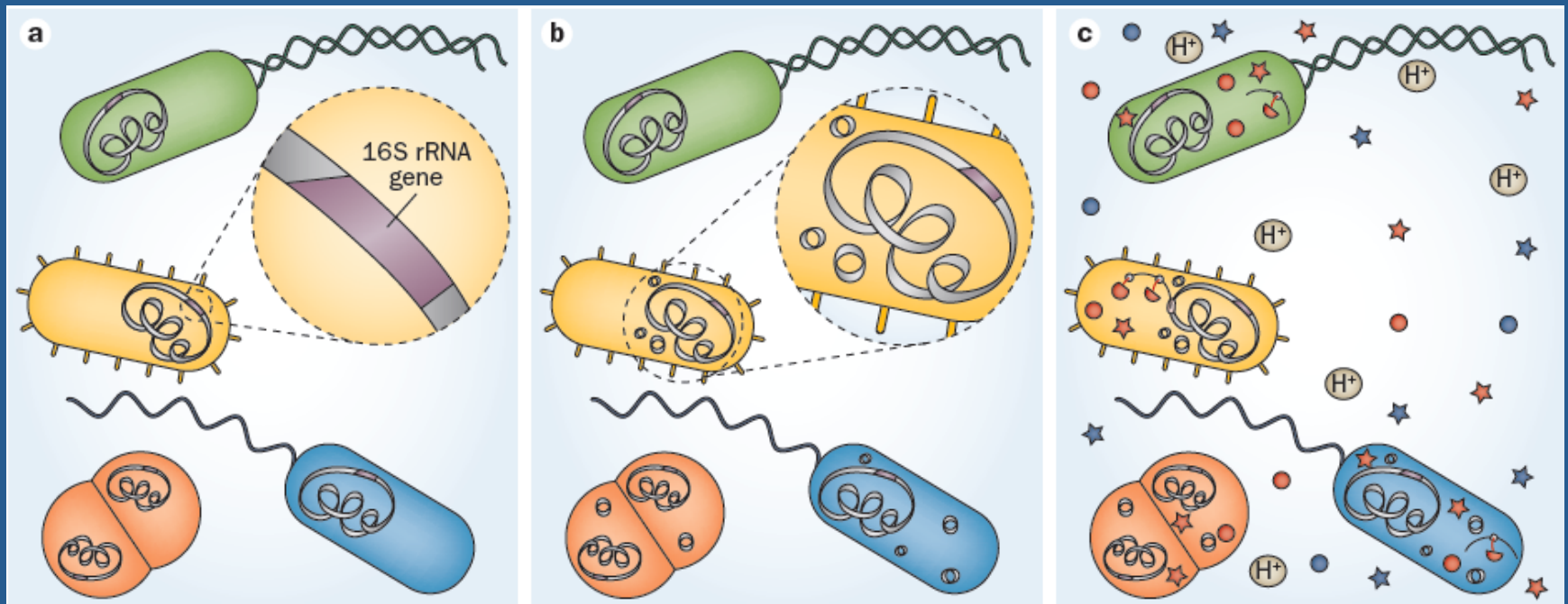


# Έντυπο δήλωσης συμφερόντων



- Πολυκεντρικά ή αυτόνομα ερευνητικά πρωτόκολλα
- Συμβουλευτική
- Τιμητική αμοιβή για ομιλίες
- Κάλυψη συνεδριακών συμμετοχών  
Allergan  
Astellas Pharma, Inc.,  
Pfizer Inc,  
Μαυρογένης Ελλάς (Coloplast GR)  
Galenica  
Pierre Fabre medicament

# Ορισμοί



**a | Μικροβιωτικό σύνολο (Microbiota):** το σύνολο των μικροοργανισμών ενός περιβάλλοντος που ανιχνεύονται με μεθόδους όπως οι 16S rRNA ακολουθίες

**b | Μεταγένωμα:** τα γονίδια και γενώματα του μικροβιωτικού συνόλου (και πλασμιδίων), που υποσημαίνουν το γενετικό δυναμικό αυτού

**c | Μικροβίωμα (Microbiome):** τα γονίδια και γενώματα του μικροβιωτικού συνόλου, καθώς και τα προϊόντα αυτού και του ξενιστή

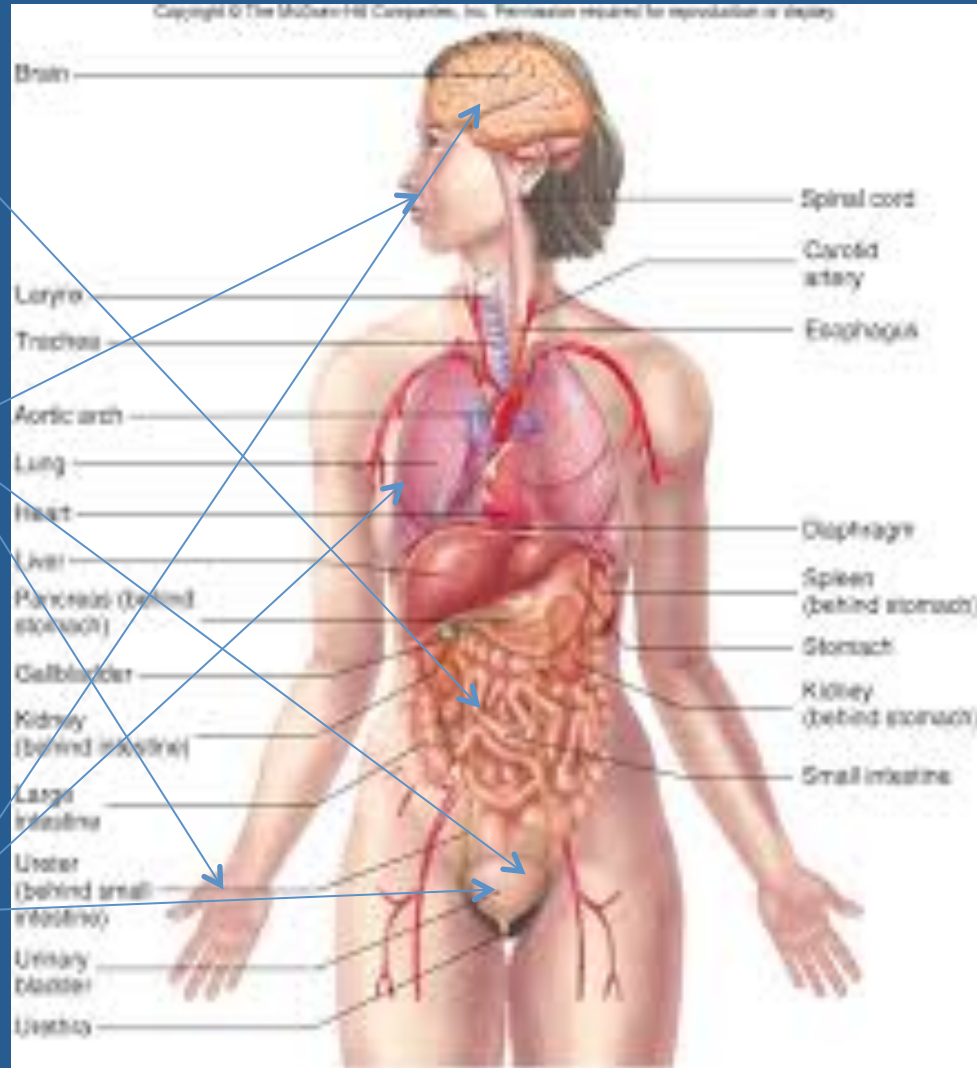


# Μικροβίωμα: εντόπιση

- Γαστρεντερικό

Εκτεθειμένοι ιστοί:  
Δέρμα  
Ανώτερο αναπνευστικό  
Ουρογεννητικό

Πρώην 'στείοι' ξενιστές:  
Εγκέφαλος  
Μαστοί – πλακούντας  
Ουροποιητικό



# Μικροβίωμα εντέρου: νέα δεδομένα

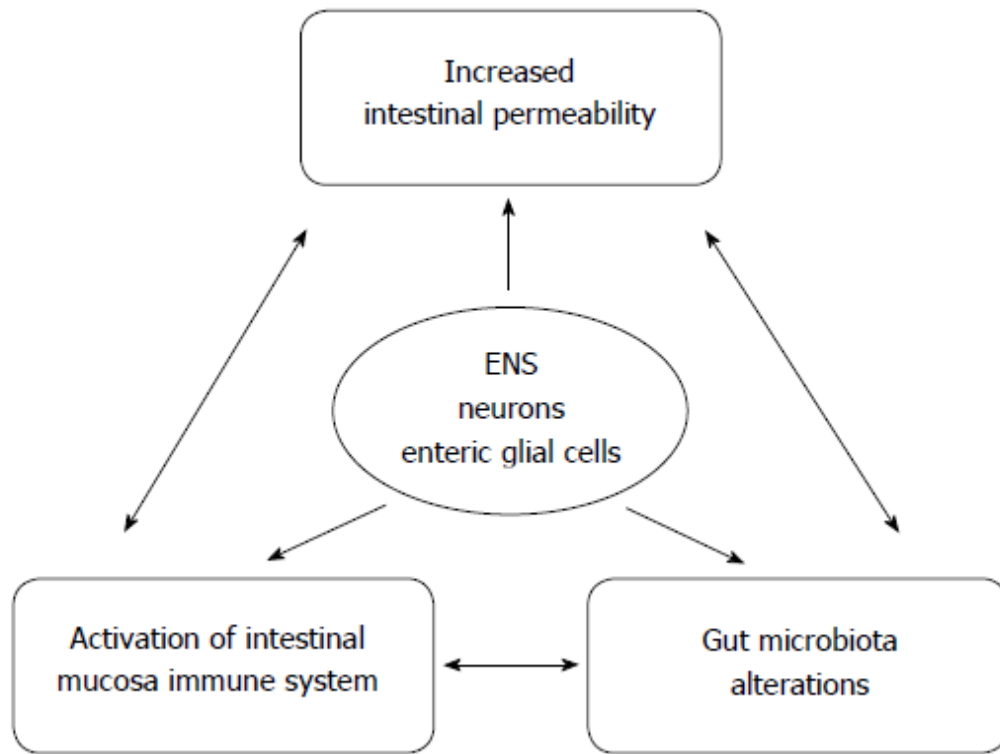
- ✓ Ρόλος-κλειδί στην ομοιόσταση, ρυθμίζοντας καταστάσεις καλής υγείας και παθήσεων σε απομακρυσμένα όργανα/συστήματα
- ✓ Συσχέτιση χρόνιας λοίμωξης με *Clostridium difficile* με καρκίνο του εντέρου
- ✓ Συσχέτιση μικροβιώματος εντέρου με δυσλειτουργίες εγκεφάλου, καρδιάς, μυοσκελετικού συστήματος και μεταβολικές διαταραχές



# Μικροβιωτικός άξονας εγκεφάλου-εντέρου και ο ρόλος του στη ν. Parkinson

- ❑ Η ν. Parkinson χαρακτηρίζεται από ασυνουκλειϊνοπάθεια που επηρεάζει όλα τα επίπεδα του άξονα εγκεφάλου-εντέρου.
- ❑ Οι νευροεκφυλιστικές αλλοιώσεις στη ν. Parkinson συνοδεύονται από γαστρεντερικές διαταραχές που προηγούνται ή ακολουθούν τη διαταραχή του ΚΝΣ.
- ❑ Η δυσλειτουργία του μικροβιωτικού άξονα εγκεφάλου-εντέρου σημαντικός παράγοντας στην παθογένεια της ν. Parkinson – ρόλος στη θεραπεία;
- ❑ Το έντερο πιθανώς αποτελεί πύλη εισόδου ενός δυναμικού περιβαλλοντικού παράγοντα που αποτελεί το έναυσμα για τις παθολογικές διεργασίες

# Σχέση μεταξύ δυσβιωτικής κατάστασης στο έντερο, αυξημένης διαπερατότητας του εντέρου και νευρολογικών διαταραχών



Οι μεταβολές στην εντερική διαπερατότητα οδηγούν σε μετάθεση μικροβίων και ενδοτοξινών διαμέσου του επιθηλιακού φραγμού πυροδοτώντας ανοσολογικές αντιδράσεις με την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών.

Η ενεργοποίηση τόσο των εντερικών νευρώνων όσο και κυττάρων γλοίας μπορεί να οδηγήσει σε νευρολογική διαταραχή που εξαπλώνεται κατά μήκος του άξονα εντέρου-εγκεφάλου

# Είναι το περιβάλλον των ούρων πέραν της ουρήθρας στείρο μικροβίων; ΜΥΘΟΣ!

- Μοναδικό μικροβίωμα στο ουροποιητικό, διαφορετικό από το εντερικό και το κοιλικό μικροβίωμα

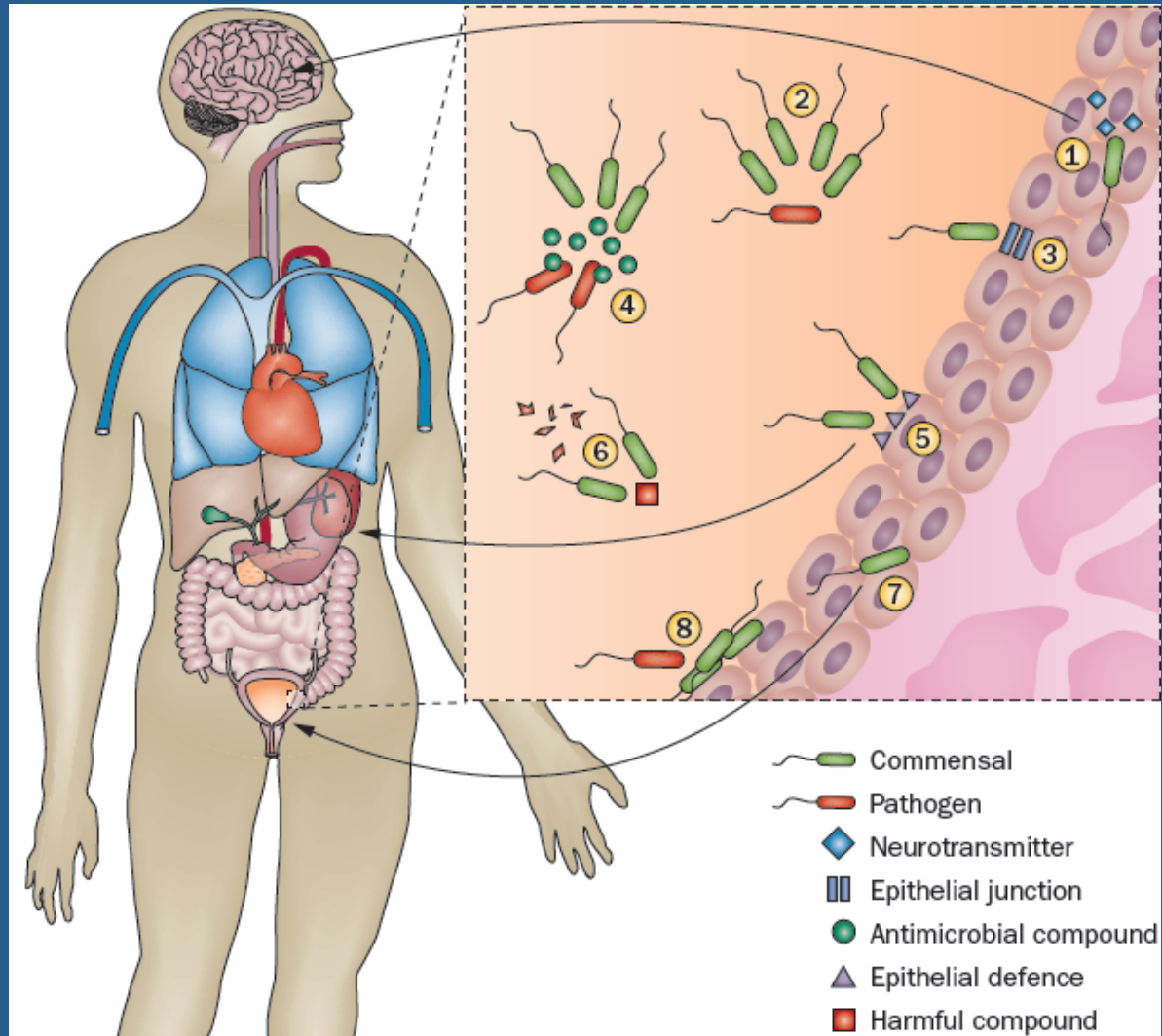
Table 1   Studies characterizing the urine microbiota			
Study	Patients (n)	Notable taxa*	Sample collection method
Nelson et al. (2010) <sup>25</sup>	Men with STI (10) Men without STI (9)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Sneathia</i> , <i>Gemella</i> , <i>Aerococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Vellionella</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Staphylococcus</i>	First-void urine
Dong et al. (2011) <sup>26</sup>	Men with STI (10) Men without STI (22)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Sneathia</i> , <i>Vellionella</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Ureaplasma</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Aerococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Gemella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Fingoldia</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Ralstonia</i>	First-void urine
Siddiqui et al. (2011) <sup>22</sup>	Healthy women (8)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Peptoniphilus</i> , <i>Dialister</i> , <i>Fingoldia</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Allisonella</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>	Clean-catch midstream urine
Fouts et al. (2012) <sup>24</sup>	Healthy controls (26; 58% women) Patients with NBD (27; 48% women)	Orders: Lactobacillales, Enterobacteriales, Actinomycetales, Bacillales, Clostridiales, Bacteroidales, Burkholderiales, Pseudomonadales, Bifidobacteriales, Coriobacteriales	Midstream urine, Intermittent catheterization, Foley catheter
Nelson et al. (2012) <sup>21</sup>	Healthy adolescent men (18)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Sneathia</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Ureaplasma</i>	First-void urine
Siddiqui et al. (2012) <sup>23</sup>	Women with IC (8)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Ureaplasma</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Proteus</i> , <i>Cronobacter</i>	Clean-catch midstream urine
Wolfe et al. (2012) <sup>7</sup>	Healthy women (12) Women with POP or UI (11)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Actinobaculum</i> , <i>Aerococcus</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Ralstonia</i> , <i>Sneathia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Vellionella</i>	Clean-catch midstream urine, suprapubic aspirate, transurethral catheter
Lewis et al. (2013) <sup>27</sup>	Healthy men (6) Healthy women (10)	<i>Jonquetella</i> , <i>Parvimonas</i> , <i>Proteiniphilum</i> , <i>Saccharofermentans</i> Phyla: Actinobacteria, Bacteroidetes	Clean-catch midstream urine
Fricke et al. (2014) <sup>20</sup>	Patients receiving first renal transplant (60; 37% women)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptococcus</i> Families: Bifidobacteriaceae, Corynebacterineae	Not described
Hilt et al. (2014) <sup>18</sup>	Healthy women (24) Women with OAB (41)	<i>Lactobacillus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Aerococcus</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Actinobaculum</i>	Transurethral catheterization
Pearce et al. (2014) <sup>19</sup>	Healthy women (58) Women with urgency UI (60)	<i>Gardnerella</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Actinobaculum</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Aerococcus</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Oligella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i>	Transurethral catheterization
Willner et al. (2014) <sup>28</sup>	Patients with acute uncomplicated UTI (50; 76% women)	<i>Anaerococcus</i> , <i>Peptoniphilus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Pseudomonas</i>	Midstream urine

S.A. Whiteside et al.

Nat Rev Urol. 2015;12(2):81-90.



# Ρόλος του μικροβιώματος του ουροποιητικού στην ομοιόσταση



# Μικροβίωμα ουροποιητικού και ομοιόσταση

- 1) Τα βακτήρια μπορεί να παράγουν νευροδιαβιβαστές που αλληλεπιδρούν με το Ν.Σ.
- 2) Τα παρασιτικά βακτήρια μπορεί να υπερνικήσουν τα παθογόνα για κοινές πηγές ενέργειας.
- 3) Τα βακτήρια μπορεί να παίζουν ρόλο στη ρύθμιση και συντήρηση των συνδέσμων μεταξύ επιθηλιακών κυττάρων
- 4) Τα παρασιτικά βακτήρια μπορεί να παράγουν αντιμικροβιακούς παράγοντες που σκοτώνουν τα παθογόνα.
- 5) Τα βακτήρια μπορεί να ενισχύσουν τις επιθηλιακές άμυνες, καθώς και τις ανοσιακές.
- 6) Τα παρασιτικά βακτήρια μπορεί να αποδομήσουν επιβλαβή στοιχεία.
- 7) Τα βακτήρια μπορεί να είναι απαραίτητα για την σωστή ανάπτυξη του ουροποιητικού, συμπεριλαμβανομένου του ουροθηλίου, του ανοσολογικού συστήματος και του Π.Ν.Σ. στην κύστη και γειτονικούς ιστούς.
- 8) Τα παρασιτικά βακτήρια μπορεί να δημιουργήσουν ένα φραγμό, εμποδίζοντας την πρόσβαση των παθογόνων στο ουροθήλιο.

# Ποια η προέλευση του μικροβιώματος;

- Γενετικοί παράγοντες του ξενιστή καθορίζουν τον βακτηριακό εποίκισμό;
- Υπάρχει παράλληλη εξέλιξη των βακτηρίων με τον ξενιστή;
- Ποιοί οι υποδοχείς και η βάση για την επιλογή των βακτηριακών ειδών του εποίκισμού;
- Παιδιά γυναικών με υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις είναι επίσης επιρρεπή σε υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις
  - Κληρονομικότητα;
  - Μεταφορά μικροβίων κατά την παιδική ηλικία;
  - Εποίκισμός κατά τον τοκετό;
- Ο τεχνητός εποίκισμός νεογνών που γεννήθηκαν με καισαρική μέσω προβιωτικών εφαρμόστηκε επιτυχώς για την πρόληψη IgE αλλεργιών!

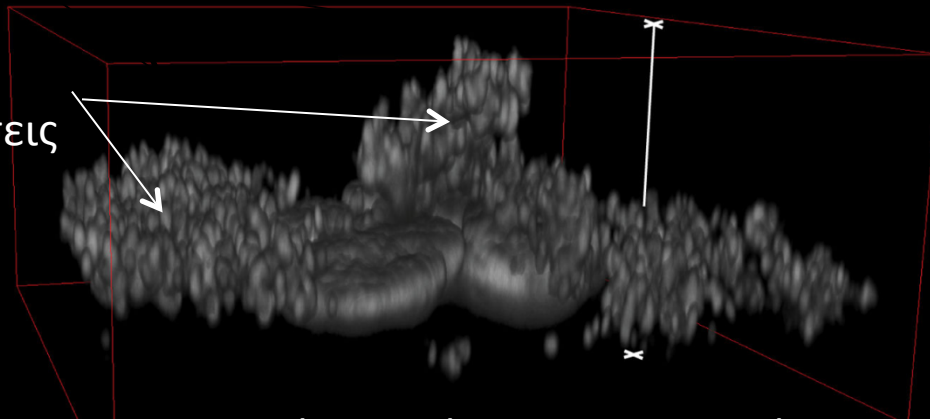
Stapleton, A. E. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 28, 149–159 (2014).  
Ragnarsdóttir, B., et al. *Nat. Rev. Urol.* 8, 449–468 (2011).  
Kuitunen, M. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123, 335–341 (2009).

# Δημιουργία βακτηριακών ρεζερβουάρ

- Σε ασθενείς με οξείες λοιμώξεις 'διείσδυση' του *E. coli* στο κυτταρόπλασμα των ουροθηλιακών κυττάρων, καθώς και μακροχρόνια παραμονή βακτηριακών ρεζερβουάρ ενδοκυττάρια

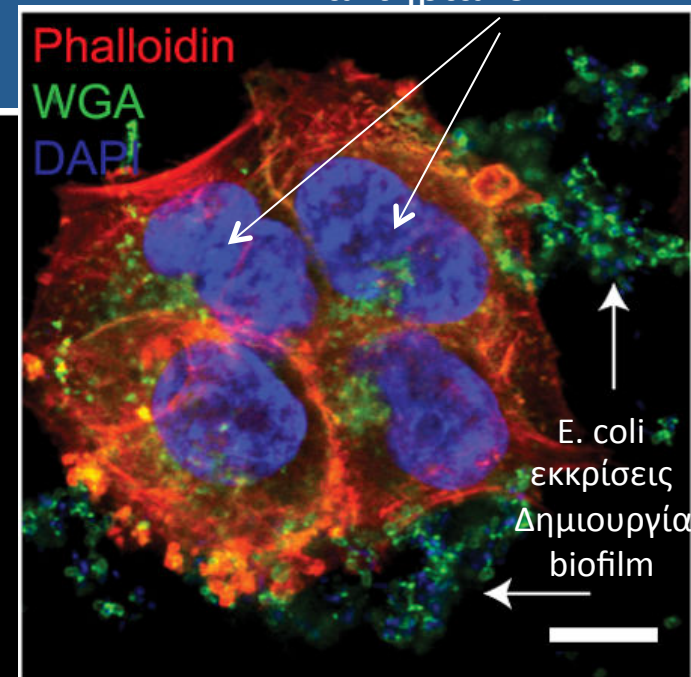
DAPI

*E. coli*  
συναθροίσεις



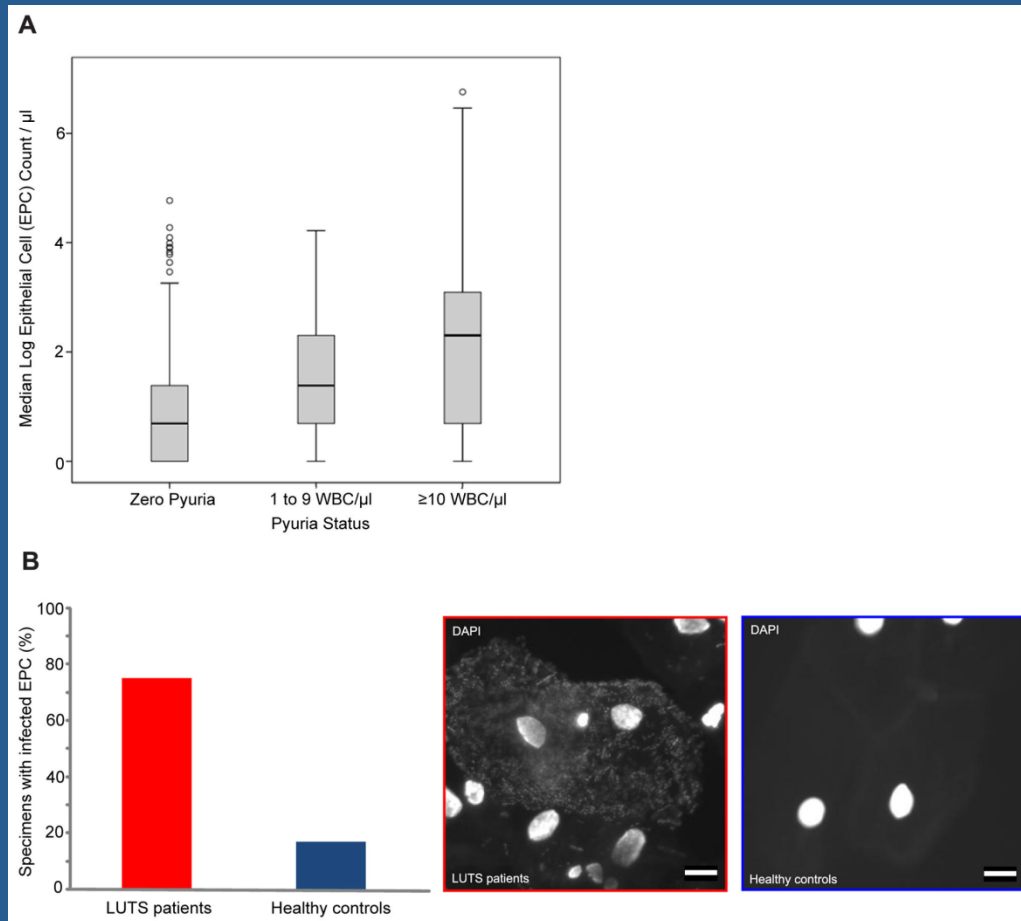
Καλλιέργειες ουροθηλιακών κυττάρων επιμολυσμένες με *E. coli* απομονωμένο από ασθενείς με LUTS

Βακτηριακό DNA

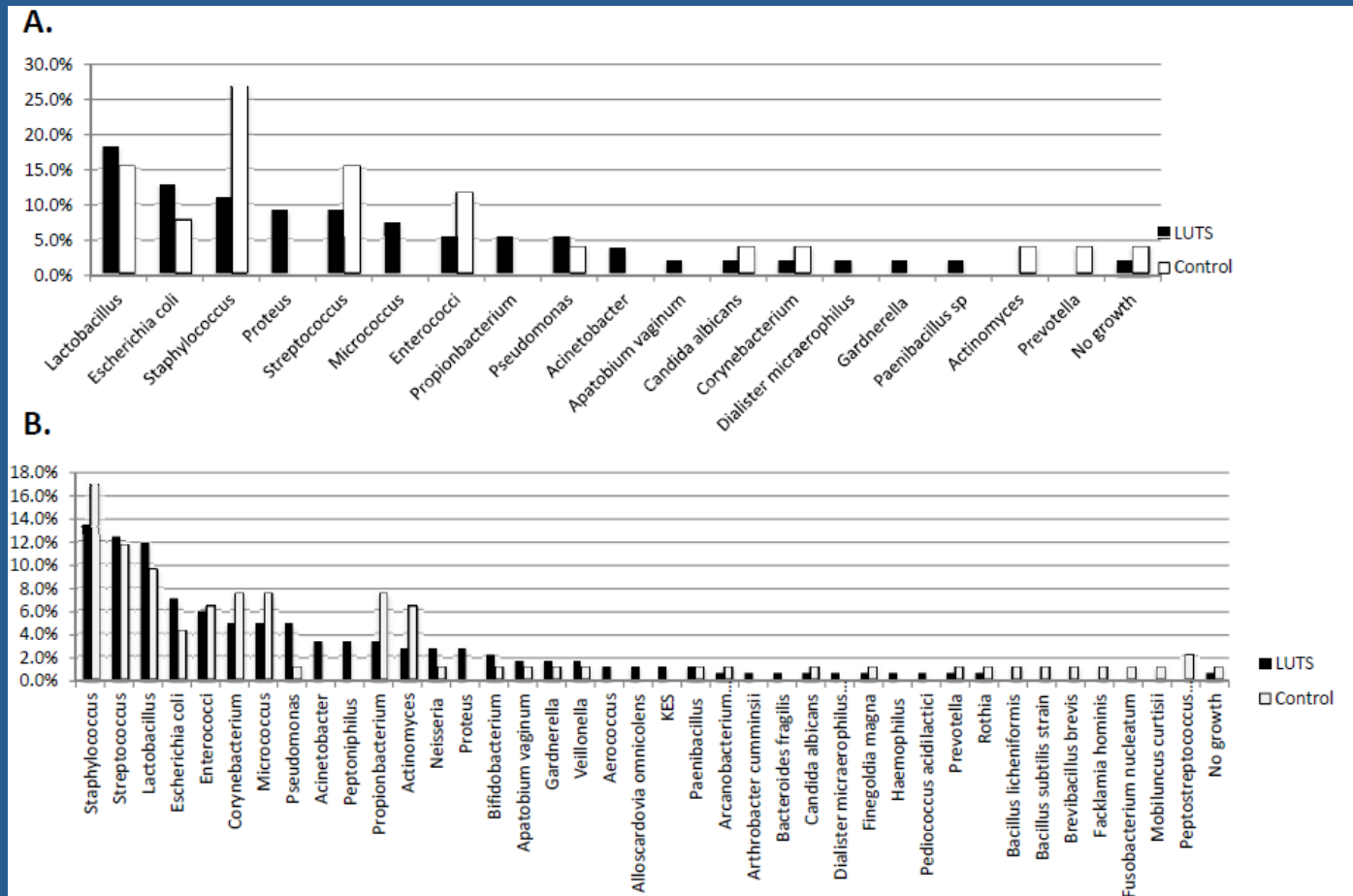




# Αυξημένη συχνότητα βακτηριακού εποικισμού ουροθηλιακών κυττάρων σε ασθενείς με LUTS



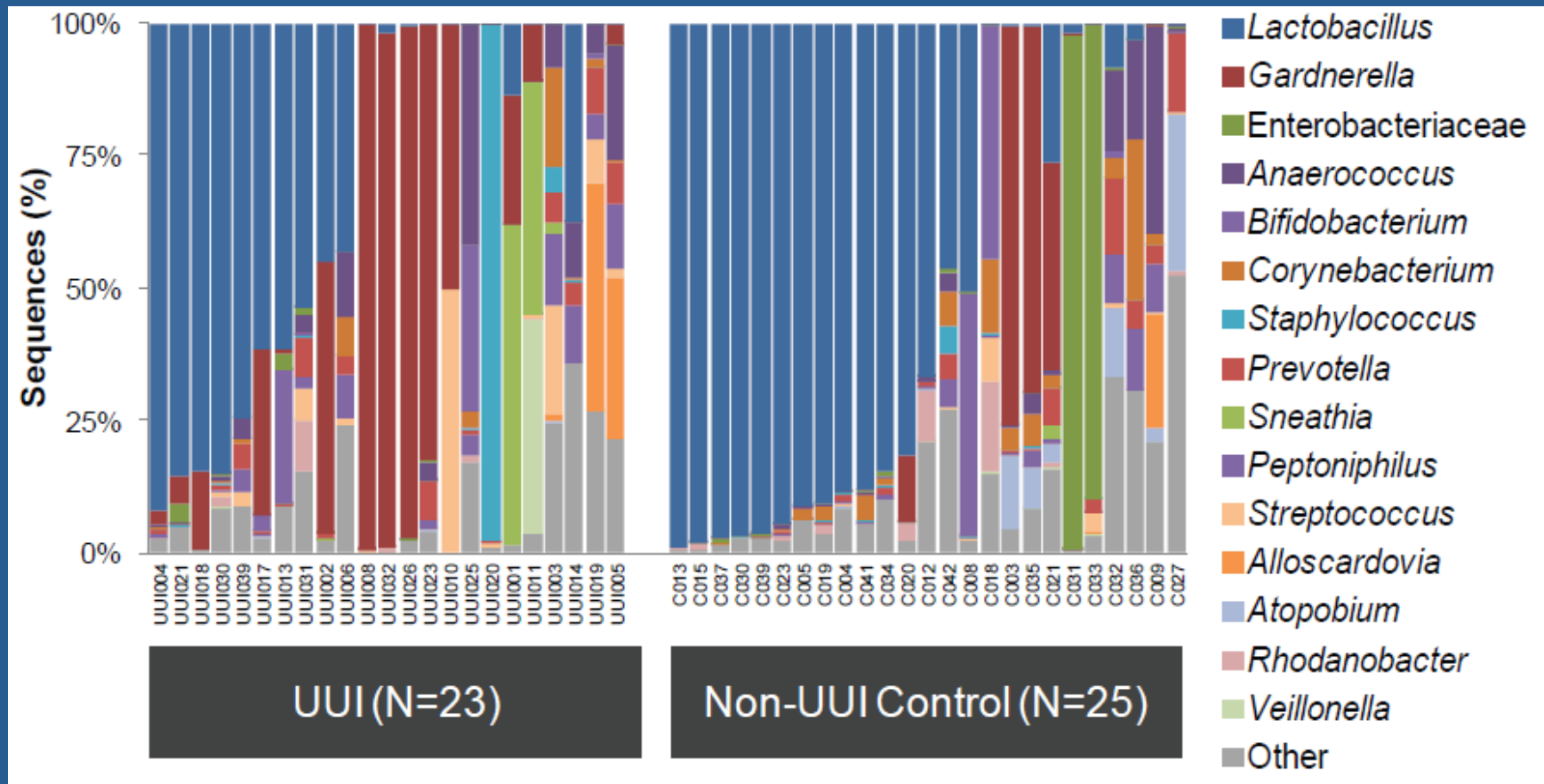
# Διαφορετικό μικροβίωμα ουροθηλιακών κυττάρων σε ασθενείς με χρόνια LUTS



# Ο ρόλος του μικροβιώματος στα ούρα γυναικών με ακράτεια από έπειξη

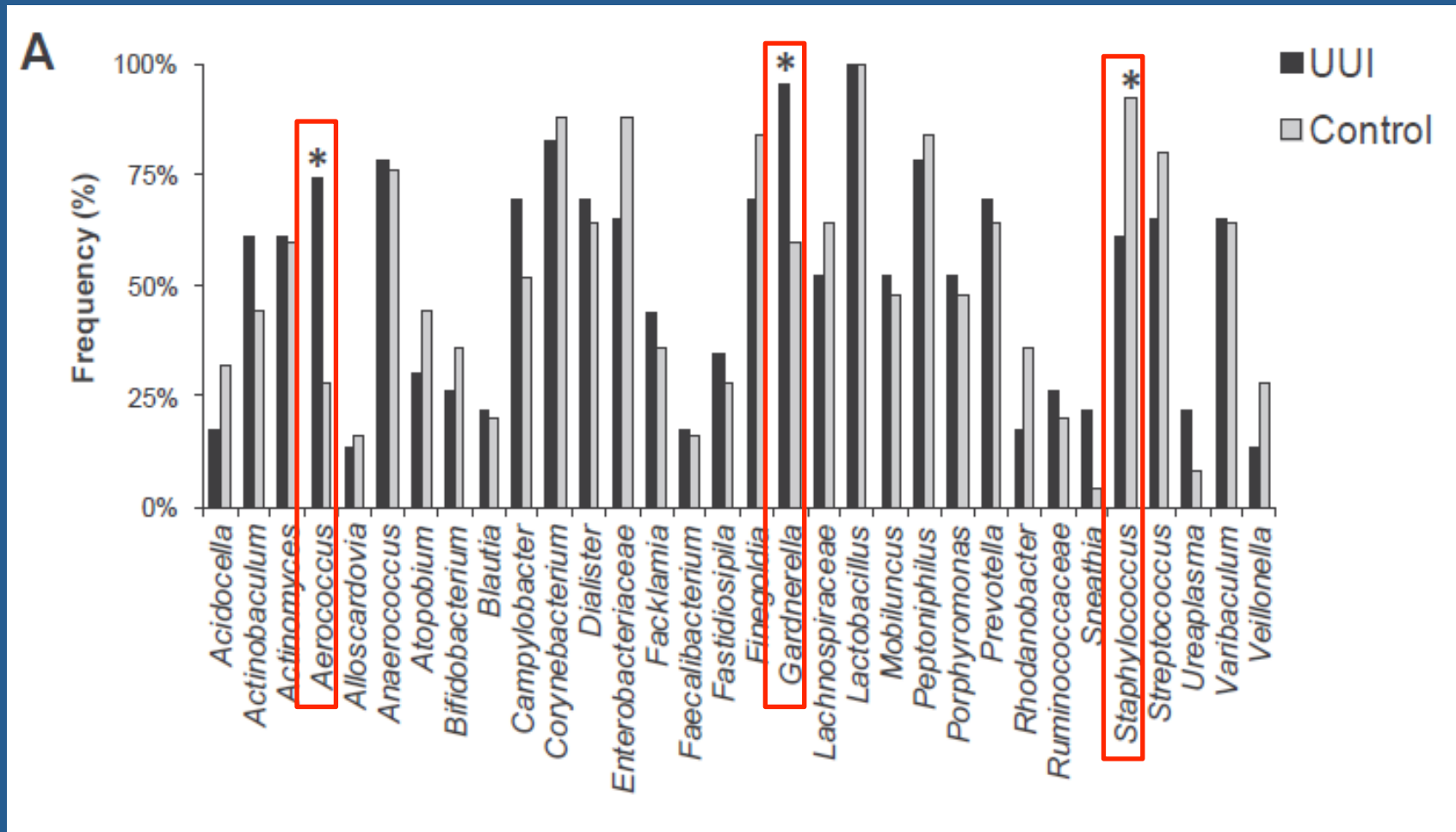
- ❖ Το μικροβίωμα γυναικών με επιτακτικού τύπου ακράτεια σαφώς διακριτό από αυτό των γυναικών με ακράτεια προσπαθείας.
- ❖ Δύο διακριτές ομάδες μικροβιώματος σε ασθενείς με ακράτεια από έπειξη.
- ❖ Ασθενείς με ακράτεια προσπαθείας είχαν σημαντικά πιο περιορισμένο φάσμα μικροβιώματος σε σχέση με αυτές που πάσχουν από ακράτεια από έπειξη.
- ❖ Η παρουσία βακτηριακού DNA στα ούρα σχετιζόταν με αυξημένη συχνότητα επεισοδίων επιτακτικής ακράτειας

# Ρόλος του μικροβιώματος στην ακράτεια από έπειξη;

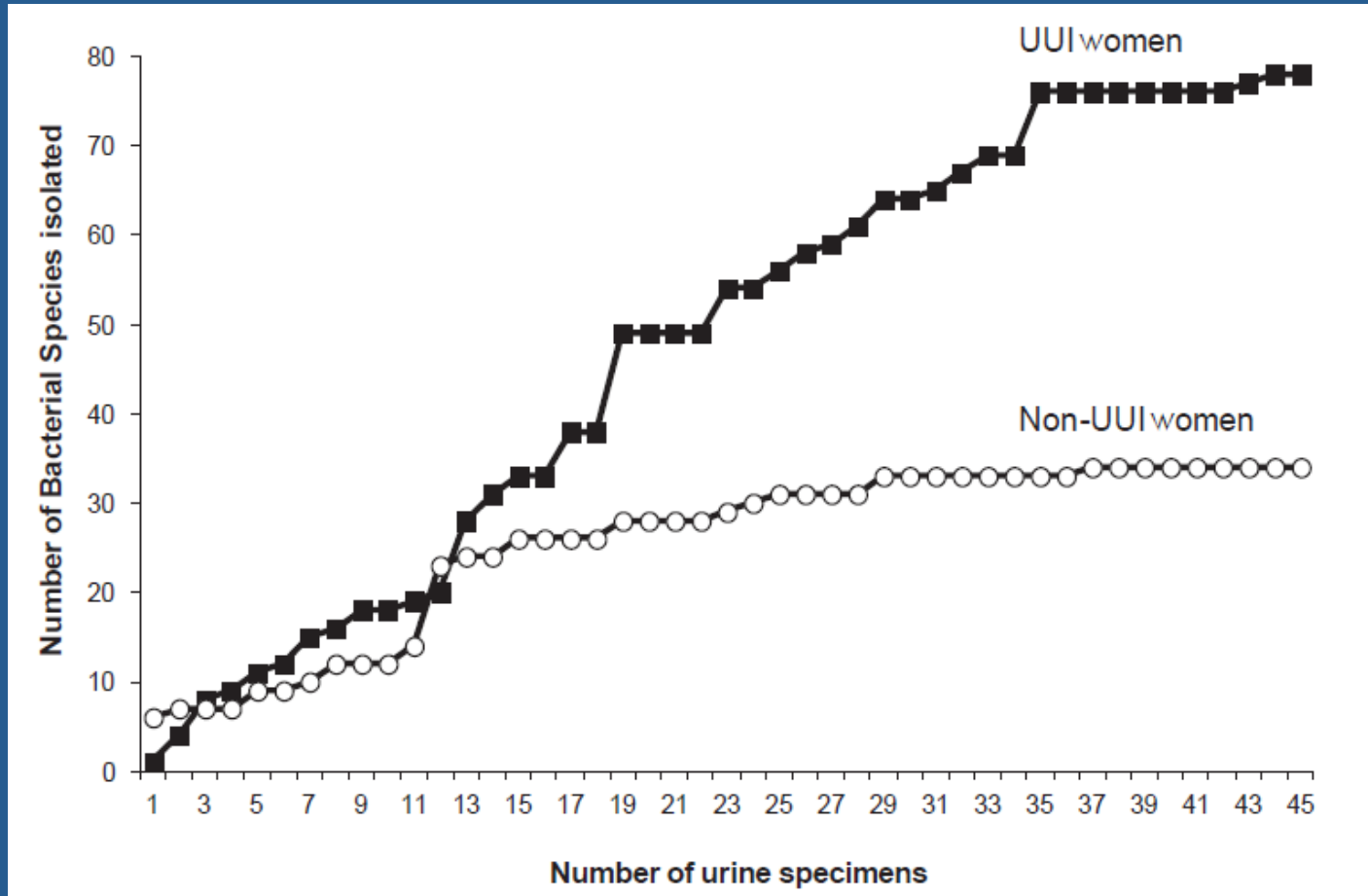




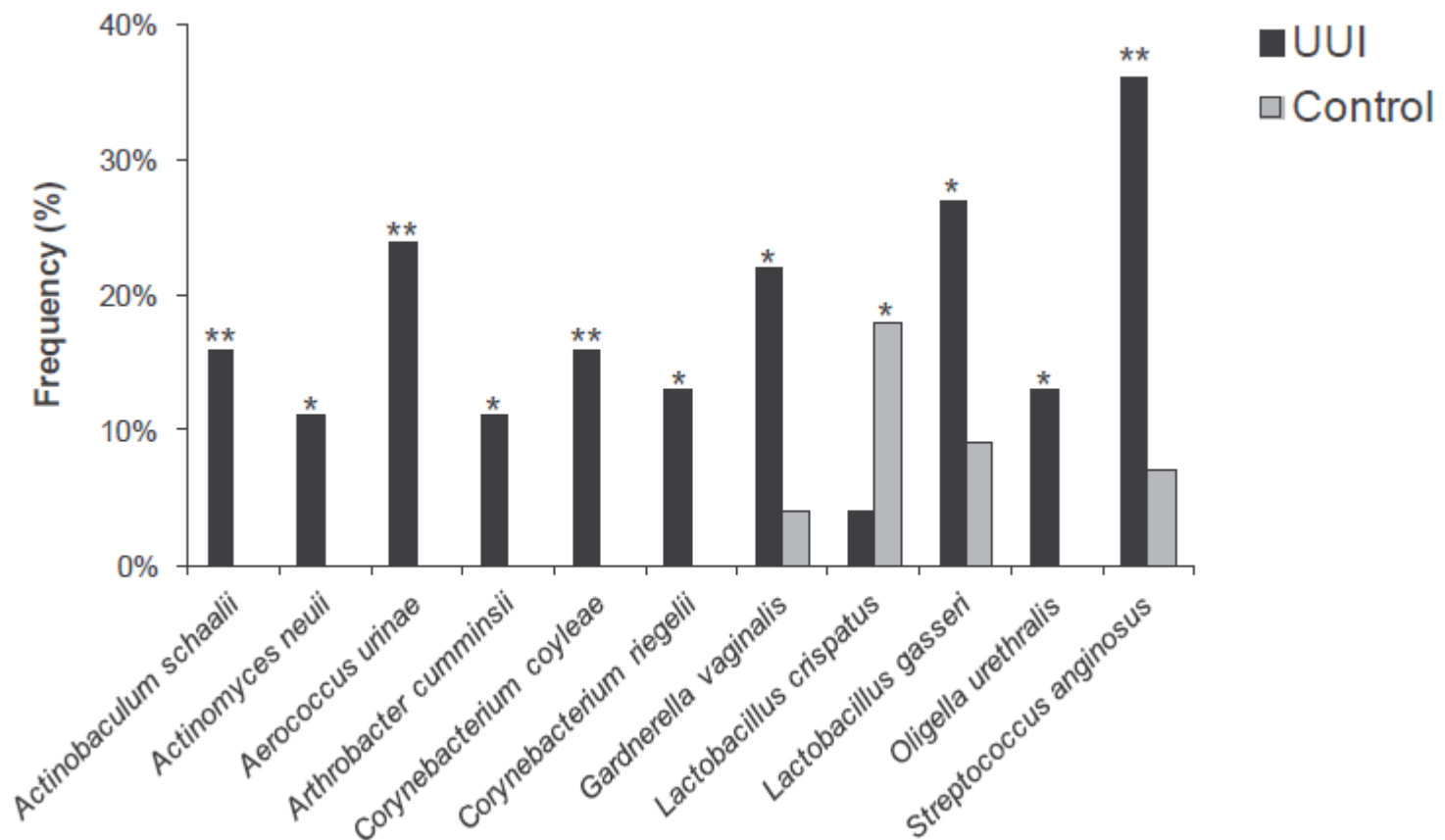
# Το μικροβίωμα στα ούρα γυναικών με ακράτεια από έπειξη



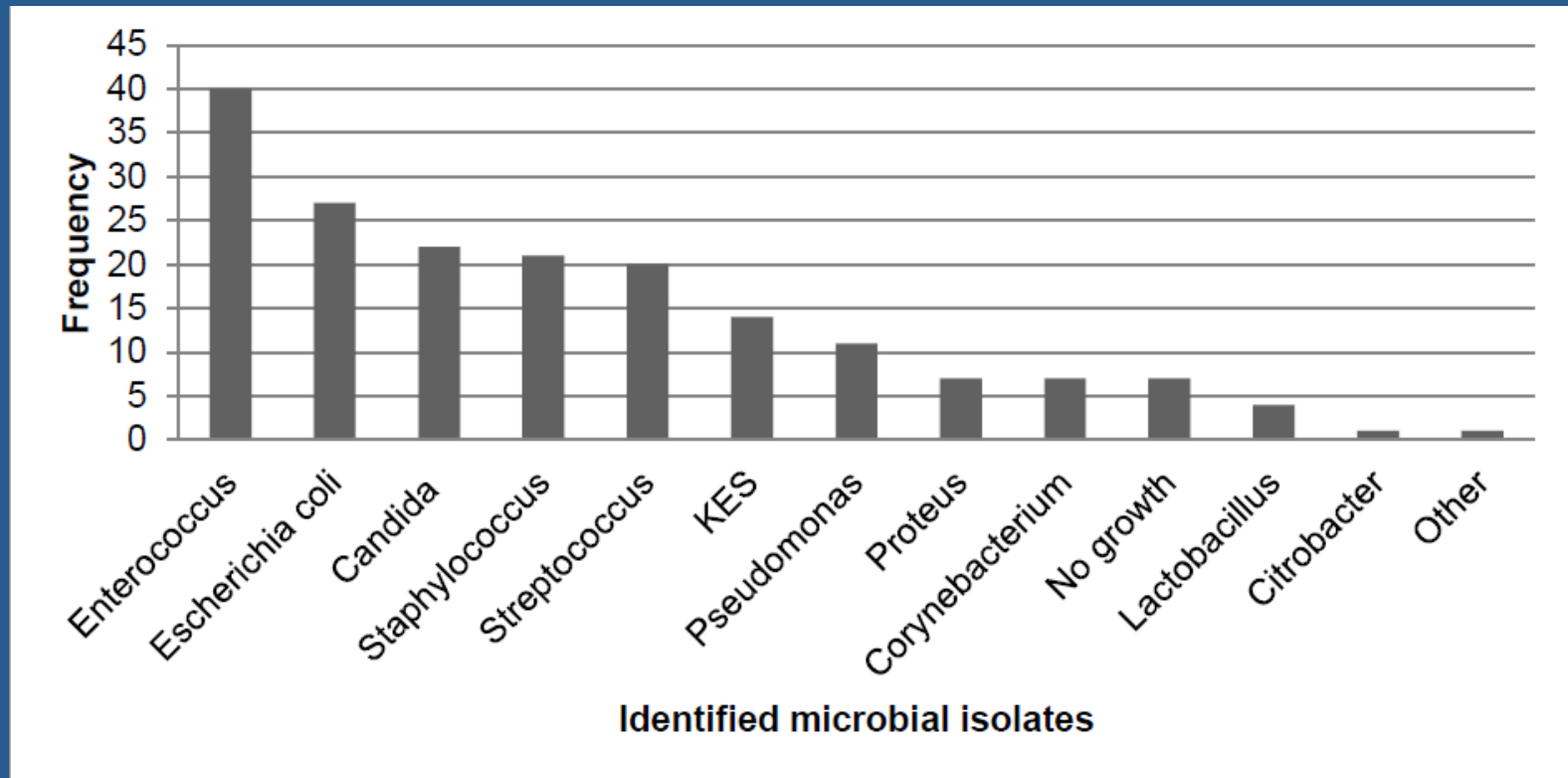
# Ρόλος του μικροβιώματος στην ακράτεια από έπειξη;



# Αυξημένα δυνητικά ουροπαθογόνα και λιγότεροι προστατευτικοί λακτοβάκιλλοι στα ούρα γυναικών με ΟΑΒ-ακράτεια



# Πολυμικροβιακή κυστική λοίμωξη σε γυναίκες με επίμονα LUTS;



Ανάπτυξη πολυμικροβιακών καλλιεργειών με νέες μεθόδους στο 69% των περιπτώσεων που πρωθύστερα θεωρούνταν αρνητικές με την κλασική τεχνική



# Θεραπεία ουρολοιμώξεων: αναθεωρήσεις



Η αυξημένη πρόσληψη  $H_2O$  μπορεί να οδηγεί στην αραίωση προστατευτικού παράγοντα των ούρων που εμποδίζει την εναπόθεση μικροβίων, καθιστώντας τον αναποτελεσματικό – επιπτώσεις για θεραπεία ‘καθητηριακών’ ουρολοιμώξεων

Πιλοτική μελέτη: η ιβουπροφένη εξίσου αποτελεσματική με την σιπροφλοξασίνη στην οξεία κυστίτιδα!

Παρά την αυξανόμενη βακτηριακή αντίσταση στα αντιβιοτικά, η χρήση μακροχρόνιας ΧΜΠ αποτελεί αποδεκτή πρακτική (π.χ. παιδιά με ΚΟΠ)

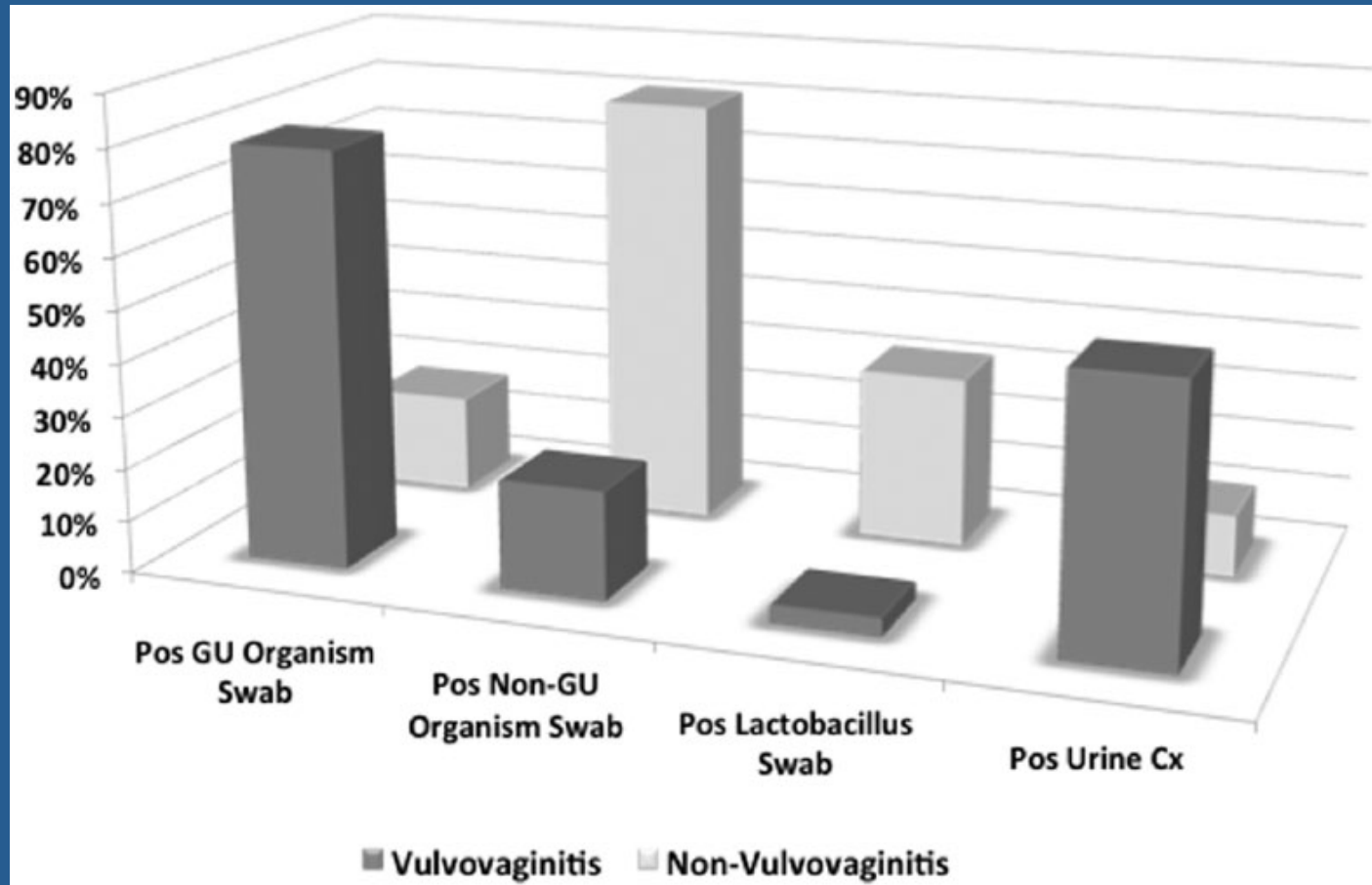
Κίνδυνος δημιουργίας ανθεκτικών βακτηρίων, γενετικά όμοιων με τα κλασικά στελέχη, όμως πιο ικανών να διεισδύσουν στο ουροθήλιο αποτελώντας πηγή επαναλοίμωξης αλλά και τροποποιώντας το υπάρχον μικροβίωμα

# Σεξ και μικροβίωμα



- Ορμονικές μεταβολές της εφηβείας και εμμηνόπαυσης επηρεάζουν το μικροβίωμα
  - Hummelen, R. *et al. PLoS ONE* 6, e26602 (2011).
- Μεταβολές στη σύσταση του κολπικού μικροβιώματος σε λακτοβάκιλλους
  - Heinemann, C. & Reid, G. *Can. J. Microbiol.* 51, 777–781 (2005).
- Η σεξουαλική δραστηριότητα συνοδεύεται από μεταβολές τόσο του ουρηθρικού όσο και του κολπικού μικροβιώματος
  - Gajer, P. *et al. Sci. Transl. Med.* 4, 132ra52 (2012).

# Το περινεϊκό μικροβίωμα σχετίζεται με αιδοιοκολπίτιδες και ουρολοιμώξεις



Χ8 πιθανότητα ουρολοίμωξης σε κορίτσια με αιδοιοκολπίτιδα.

# Το περινεϊκό μικροβίωμα σχετίζεται με αιδοιοκολπίτιδες και ουρολοιμώξεις

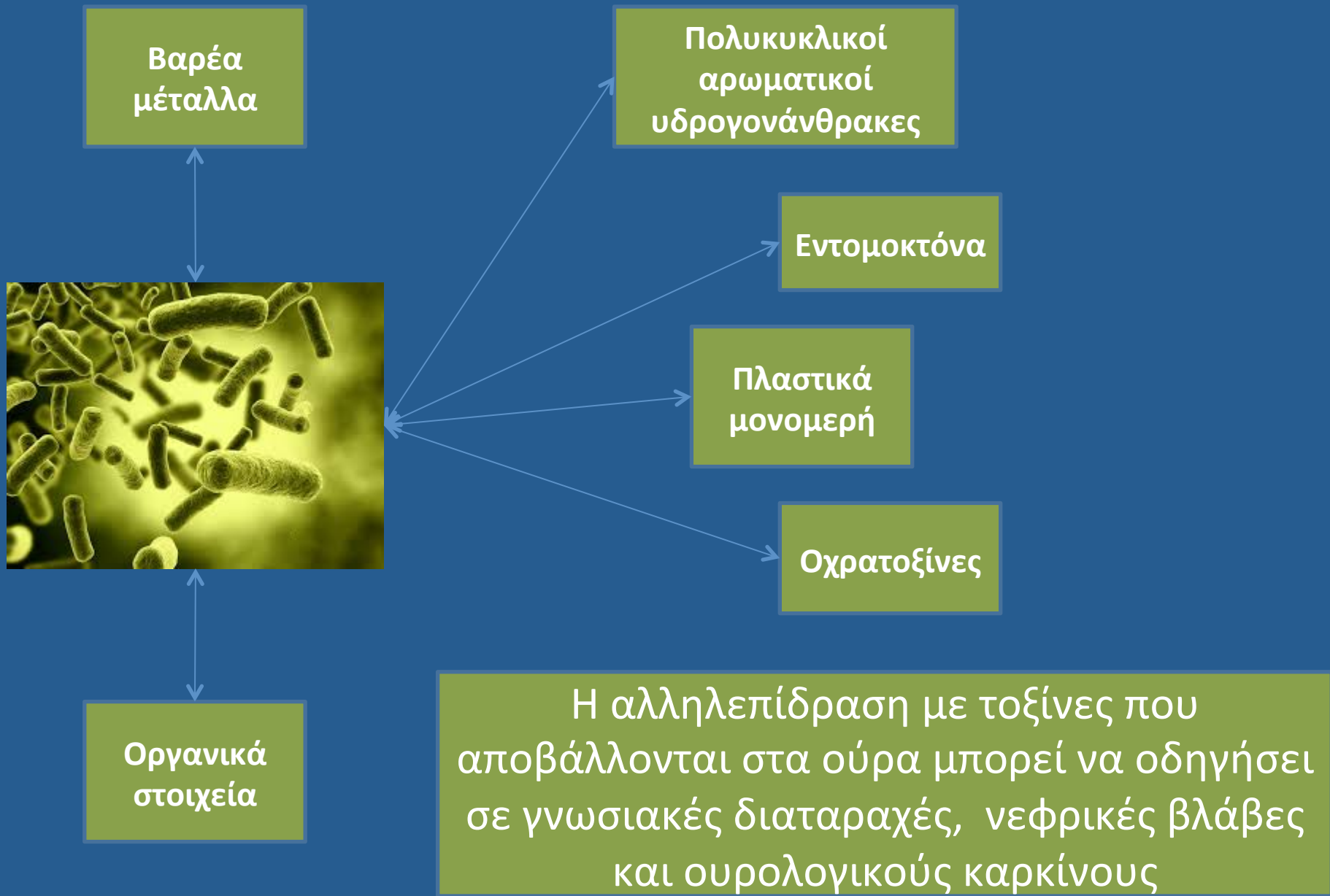
	Organism	Vulvovaginitis	Nonvulvovaginitis	<i>p</i> value
<b>Swab dominant culture</b>				
Uropathogen	<i>Enterococcus</i>	23	4	0.001
	<i>Escherichia coli</i>	20	4	< 0.01
	<i>Enterobacter</i>	2	-	NS
	<i>Pseudomonas</i>	1	-	NS
Total uropathogen		46	8	< 0.0001
<b>Nonuropathogen</b>				
	<i>Staphylococcus/ Streptococcus</i>	10	20	< 0.01
	<i>Lactobacillus</i>	2	14	< 0.001
	<i>Corynebacterium</i>	-	1	NS
Total nonuropathogen		12	35	< .00001
Total swab dominant culture		58	43	< 0.05
<b>Urine dominant culture</b>				
Uropathogen	<i>Enterococcus</i>	16	1	NS
	<i>Escherichia coli</i>	14	4	NS
Total urine dominant culture		30	5	< 0.0001

# Σεξ και μικροβίωμα

- Σε σεξουαλικά ενεργούς έφηβους άντρες κοιλικά βακτήρια βρίσκονται στη στεφανιαία αύλακα και στην περιφερική ουρήθρα
- Διαφορετικά γένη βακτηρίων αποικίζουν τη στεφανιαία αύλακα σε περιτομημένους και μη περιτομημένους έφηβους άντρες
- Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες του προστατικού υγρού μετά την εφηβεία καθώς και σπερμοκτόνοι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν το μικροβίωμα των ούρων τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες
- Πρωκτική επαφή και στοματικός έρωτας εκθέτουν τους άντρες σε δύο επιπλέον άτυπα μικροβιακά περιβάλλοντα



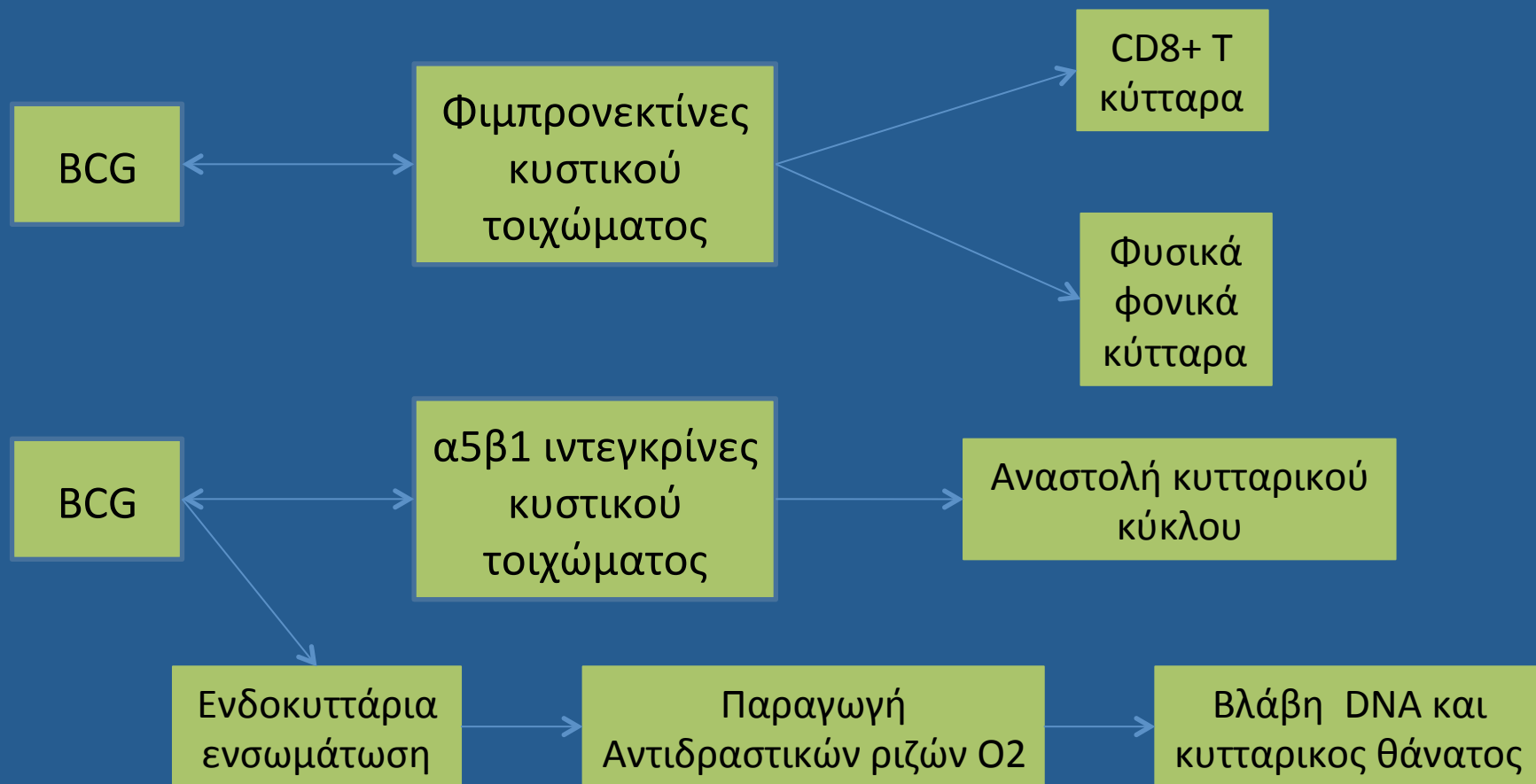
# Μικροβίωμα και τοξίνες





# Μικροβίωμα και καρκίνος κύστης: ρόλος και στην πρόληψη;

- BCG και καρκίνος κύστης: μηχανισμός δράσης



# Μικροβίωμα: ρόλος των λακτοβάκιλλων στον καρκίνο της κύστης;

Ο *L. iners* συνδέεται με τις φημπρονεκτίνες με υψηλότερη συγγένεια από άλλους λακτοβάκιλλους που υπάρχουν στον κόλπο ή σε προβιωτικά

Παρασιτικά ή προβιωτικά βακτηριακά στελέχη μπορεί να μειώσουν τη φλεγμονή του βλεννογόνου

Ενίσχυση ή μείωση δράσης BCG

Ανταγωνισμός ενδογενούς μικροβιώματος με BCG για σύνδεση με φημπρονεκτίνες;



# Ρόλος των λακτοβάκιλλων στον καρκίνο της κύστης;

- Σε μοντέλα καρκίνου κύστης ζώων, η per os ή ενδοκυστική χορήγηση του *L. casei* μειώνει την ανάπτυξη των καρκίνων<sup>1</sup>
- Κυτταροτοξικές ιδιότητες του *L. rhamnosus GG* σε καρκίνο κύστης in vitro <sup>2</sup>
- Σε διπλές-τυφλές μελέτες η per os χορήγηση *L. casei Shirota* μειώνει την υποτροπή επιφανειακών καρκίνων κύστης!<sup>3</sup>

1. Tomita, K. et al. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi* 85, 655–663 (1994).

2. Seow, S. W. et al. *J. Urol.* 168, 2236–2239 (2002).

3. Aso, Y. & Akazan, H. *PUrol. Int.* 49, 125–129 (1992).



# Μικροβίωμα και ουρολιθίαση



- **Ανάστροφη σχέση μεταξύ της παρουσίας *Oxalobacter formigenes* στο εντερικό μικροβίωμα και της δημιουργίας νεφρικών λίθων οξαλικού ασβεστίου**
- Το *Oxalobacter formigenes* είναι απαραίτητο για την αποδόμηση των διαιτητικών οξαλικών στο έντερο
- Αποικισμός με το βακτήριο μειώνει κατά 70% τον κίνδυνο υποτροπής λίθων από οξαλικό ασβέστιο
- **Υγιείς φέρουν διπλάσιο φορτίο του βακτηρίου σε σχέση με ασθενείς με νεφρολιθίαση**

Siener, R. et al. *Kidney Int.* 83, 1144–1149 (2013).

Kaufman, D. W. et al. *J. Am. Soc. Nephrol.* 19, 1197–1203 (2008).

# Μικροβίωμα και ουρολιθίαση



- Διφορούμενα αποτελέσματα σε μελέτες χορήγησης *Oxalobacter formigenes* στον άνθρωπο
- Προσωρινή αναστρέψιμη μείωση έκκρισης οξαλικών στα ούρα ασθενών που έλαβαν 'ζωντανό' *Oxalobacter formigenes*, πιθανώς λόγω αδυναμίας αποικισμού του εντέρου
- Επιστημονικά σωστό υπόβαθρο στην χρήση προβιοτικών και μείωση οξαλουρίας, αλλά πρακτικά προβλήματα στον καθορισμό του κατάλληλου πληθυσμού ασθενών και της κατάλληλης περιεκτικότητας της δίαιτας αυτών σε οξαλικά, καθώς και νομικά θέματα σχετικά με τη χορήγηση μη τροφικών βακτηρίων στον άνθρωπο

Hoppe, B. *et al. Kidney Int.* 70, 1305–1311 (2006).

S.A. Whiteside *et al. Nat Rev Urol.* 2015;12(2):81-90.

# Μικροβίωμα: ρόλος πέρα από τις ουρολοιμώξεις!



- Τα ούρα δεν είναι στείρα!
- Η χρήση νέων τεχνικών πέρα από την εφαρμογή της κλασικής καλλιέργειας ούρων επιτρέπει την ανίχνευση εκτεταμένης βακτηριακής χλωρίδας στην ανθρώπινη ουροδόχο κύστη/ουρήθρα
- Σημαντικές ενδείξεις για ρόλο του μικροβιώματος τόσο στην ομοιόσταση όσο και σε παθολογίες του ουροποιητικού
- Αυξανόμενο ενδιαφέρον για το ρόλο του μικροβιώματος των ούρων (και του εντέρου) στην ανάπτυξη και θεραπεία των LUTS/OAB, της ακράτειας ούρων, της ουρολιθίασης και του κυστικού καρκίνου





## Εναύσματα για νέα έρευνα

- Χρειάζονται αναθεώρηση ο ορισμός και οι τεχνικές διάγνωσης των κλινικά σημαντικών ουρολοιμώξεων/βακτηριουρίας;
- Στρατηγικές για προώθηση ή μείωση του ενδογενούς κυστικού μικροβιώματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με BCG;
- Είναι οι λακτοβάκιλλοι ισχυρότεροι από το BCG στην αντιμετώπιση του κυστικού καρκίνου και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συμπληρωματική θεραπεία;
- Υπάρχει δυσλειτουργία του εντερικού μικροβιώματος σε ασθενείς με επιφανειακό Ca κύστης και μπορεί η χρήση προβιωτικών να βελτιώσει κάποιες από τις συνοδές μεταβολές στο εντερικό μικροβίωμα;

Σας ευχαριστώ για την προσοχή σας!

