

## القای تخمک‌گذاری با لتروزول در زنان نابارور مقاوم به کلومیفن سیترات

دکتر طلعت دباغی قلعه\*      دکتر خدیجه علمی‌زاده\*\*      دکتر گیتا فرشاد\*\*\*      امیر جوادی\*\*\*\*

\* استادیار گروه زنان و زایمان دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\* متخصص زنان و زایمان دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\*\* دستیار زنان و زایمان دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\*\*\* مربی و عضو هیات علمی گروه آمار دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، خیابان طالقانی، بیمارستان کوثر، تلفن ۰۲۸۱-۲۲۳۶۳۸۰

Email: p.elmizadeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۱۷      تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۳

### \* چکیده

**زمینه:** امروزه مهارکننده‌های اروماتاز نظیر لتروزول به عنوان روشی ارزان، مفید و کم خطر جهت القای تخمک‌گذاری در بیماران مقاوم به کلومیفن سیترات (CC) مطرح هستند.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین اثر لتروزول جهت القای تخمک‌گذاری در بیماران مقاوم به کلومیفن سیترات انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این کارآزمایی بالینی آینده‌نگر در سال ۱۳۸۸ بر روی بیماران مراجعه‌کننده به درمانگاه نازایی کوثر قزوین انجام شد. ۳۰ بیمار نابارور با علل تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) و نازایی غیر قابل توجه که مقاوم به کلومیفن سیترات بودند، بررسی شدند. شرایط ورود به مطالعه عبارت بودند از: سن ۱۸ تا ۳۹ سال، نازایی بالای ۲ سال، طبیعی بودن هورمون محرک تیروئید، پرولاکتین، اسپرموگرام و هورمون محرک فولیکول در ابتدای مرحله فولیکولار. شرایط خروج از مطالعه شامل سابقه جراحی لگنی، وجود چسبندگی و هرگونه عامل نازایی به جز عدم تخمک‌گذاری بود. به فاصله دو ماه از درمان کلومیفن، بیماران تحت درمان ۲/۵ تا ۷/۵ میلی‌گرم لتروزول در روزهای ۵ تا ۹ دوره قاعدگی قرار گرفتند. افزایش دوز در صورت عدم ایجاد فولیکول غالب در دوز پایین‌تر انجام شد. ارزیابی قطر فولیکول در روز ۱۶ دوره قاعدگی با سونوگرافی واژینال انجام شد و در صورت وجود فولیکول بزرگ‌تر یا مساوی ۱۸ میلی‌متر، ده هزار واحد گنادوتروپین جفتی انسانی (HCG) به بیماران تزریق شد. میزان تخمک‌گذاری و بارداری و ضخامت آندومتر در روز تجویز HCG اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری مجذور کای، تی زوج و دقیق فیشر تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** با تجویز لتروزول در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم به ترتیب ۳ (۱۰٪)، ۱۲ (۴۰٪) و ۵ بیمار (۱۶/۷٪) فولیکول بزرگ‌تر یا مساوی ۱۸ میلی‌متر داشتند. میزان کلی تخمک‌گذاری ۶۶/۶٪ بود از این بیماران ۱۶ نفر (۸۰٪) یک فولیکول غالب داشتند و در ۴ بیمار (۲۰٪) دو فولیکول غالب ایجاد شد، ولی بارداری دو قلوئی اتفاق نیفتاد. بارداری در ۵ بیمار (۱۶/۷٪) ایجاد شد. ضخامت آندومتر در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم به ترتیب ۱۱/۵، ۱۱/۴ و ۱۱/۴ میلی‌متر بود.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد القای تخمک‌گذاری با لتروزول در بیماران مقاوم به کلومیفن سیترات با میزان قابل توجهی از تخمک‌گذاری و بارداری همراه است. با توجه به کم بودن بارداری دو قلوئی و تحریک بیش از حد تخمدان، لتروزول می‌تواند خط اول درمان در بیماران مقاوم به کلومیفن باشد.

**کلیدواژه‌ها:** مقاومت به کلومیفن، لتروزول، تخمدان پلی‌کیستیک، نازایی بدون علت، القای تخمک‌گذاری

### \* مقدمه

تخمک‌گذاری منجر می‌شود، اما حدود ۵۰ درصد آن‌ها باردار می‌شوند که علت آن اثرات ضد استروژنی کلومیفن بر آندومتر و مخاط گردن رحم است.<sup>(۳-۵)</sup> قبل از اقدام به القای تخمک‌گذاری با گنادوتروپین‌ها،

کلومیفن سیترات اولین خط درمانی جهت درمان ناباروری در موارد عدم تخمک‌گذاری است. همچنین به عنوان درمان اولیه در نازایی بدون علت پیشنهاد می‌شود.<sup>(۲،۱)</sup> اگرچه کلومیفن در ۸۰ درصد بیماران به

ورود به مطالعه، از تمام بیماران پس از آگاهی کامل ایشان رضایت‌نامه کتبی دریافت شد. علت ناباروری در این بیماران تخمدان پلی‌کیستیک و نازایی بدون علت بود. شرایط ورود به مطالعه عبارت بودند از: شامل سن ۱۸ تا ۳۹ سال، نازایی بالای ۲ سال، طبیعی بودن هورمون محرک تیروئید، اسپرموگرام، پرولاکتین و هورمون محرک فولیکول در ابتدای مرحله فولیکولار. شرایط خروج از مطالعه شامل سابقه جراحی لگنی، وجود چسبندگی در لاپاراسکوپی یا هیستروسالپینگوگرافی و حضور هرگونه عامل نازایی غیر از عدم تخمک‌گذاری بود. بیماران قبلاً تحت درمان با دوزهای افزایش‌دهنده کلومیفن قرار گرفته و به کلومیفن مقاوم بودند. به فاصله حداقل ۲ ماه بعد از مصرف کلومیفن، برای بیماران ۲/۵ میلی‌گرم لتروزول در روز ۵ تا ۹ دوره قاعدگی شروع شد. بیمارانی که فولیکول غالب نداشتند به ترتیب تحت درمان ۵ میلی‌گرم و در نهایت ۷/۵ میلی‌گرم لتروزول در دوره قاعدگی بعدی قرار گرفتند. سونوگرافی واژینال توسط یک نفر و با یک دستگاه سونوگرافی جهت بررسی اندازه فولیکول و ضخامت آندومتر در روز ۱۶ دوره قاعدگی انجام شد و در صورت وجود فولیکول بزرگ‌تر یا مساوی ۱۸ میلی‌متر، ۱۰ هزار واحد گنادوتروپین کوریونی عضلانی تجویز شد. تمام بیماران روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم پروژسترون به مدت ۱۴ روز جهت حمایت مرحله لوتال دریافت کردند. تأیید بارداری با مشاهده ساک حاملگی داخل رحم یک هفته بعد از تأخیر قاعدگی انجام شد. ضخامت آندومتر بالای ۸ میلی‌متر مناسب در نظر گرفته شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری مجذور کای، تی زوج و دقیق فیشر تحلیل شدند و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### \* یافته‌ها:

میانگین سنی بیماران ۲۵/۶ سال با دامنه ۲۰ تا ۳۷ سال، میانگین طول مدت نازایی ۴/۲ سال با دامنه ۲ تا ۱۲ سال و میانگین شاخص بدنی ۲۸/۳ کیلوگرم بر مترمربع با دامنه ۲۴/۵ تا ۳۷/۵ کیلوگرم بر مترمربع بود. ۱۳ نفر از

در بیماران مقاوم به کلومیفن، درمان‌های کمکی محدودی در دسترس است و این درمان‌ها در صورت وجود شرایط خاصی مفید واقع می‌شوند. به عنوان مثال بروموکریپتین در حضور گالاکتوره یا هیپرپرولاکتینمی، دگزامتازون در حضور هیرسوتیسم و متفورمین در حضور مقاومت به انسولین مؤثرند. این در حالی است که بسیاری از بیماران مقاوم به کلومیفن فاقد این شرایط خاص هستند و لذا از درمان‌های فوق سود نمی‌برند. از طرفی درمان با گنادوتروپین‌ها پرهزینه و با عوارضی چون تحریک بیش از حد تخمدان و بارداری چندقلویی همراه است.<sup>(۶)</sup>

امروزه از لتروزول که از دسته داروهای مهارکننده آروتاماز است به عنوان یک داروی آزمایشی جهت القای تخمک‌گذاری استفاده می‌شود.<sup>(۷)</sup> لتروزول با مهار آروماتیزاسیون آندروژن‌ها باعث کاهش استروژن در گردش و در نتیجه رهایی محور هیپوتالاموس - هیپوفیز از تأثیر منفی استروژن می‌شود. همچنین با افزایش ترشح هورمون محرک فولیکول تخمک‌گذاری تحریک می‌گردد. لازم به ذکر است اگرچه لتروزول محیطی کم استروژن ایجاد می‌کند، ولی به دلیل نیمه عمر کوتاه‌اش (۴۵ ساعت) تأثیر منفی بر آندومتر و مخاط گردن رحم ندارد.<sup>(۸)</sup> براساس بررسی انجام شده توسط میتوالی و کسپر در بیماران با تخمدان پلی‌کیستیک و مقاوم به کلومیفن، مصرف لتروزول جهت القای تخمک‌گذاری مفید بوده و با میزان تخمک‌گذاری ۷۵ درصد، ضخامت آندومتر بهتر و میزان کم‌تر بارداری دوقلو همراه بوده است.<sup>(۹)</sup>

هدف این مطالعه تعیین اثر لتروزول جهت القای تخمک‌گذاری در بیماران مقاوم به کلومیفن بود.

#### \* مواد و روش‌ها:

این کارآزمایی با شماره IRCT 201010174868N2 و پس از کسب مجوز از کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین بر روی تعداد ۳۰ خانم نابارور مراجعه‌کننده به درمانگاه نازایی بیمارستان کوثر در سال ۱۳۸۸ انجام شد. جهت

باردار شدند. میزان تخمک‌گذاری در مطالعه میتوالی و کسپر ۷۵ درصد، در مطالعه الامری ۸۷/۵ درصد و در مطالعه الناشر ۵۴/۵ درصد گزارش شده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.<sup>(۶-۸)</sup>

در مطالعه حاضر در ۸۰ درصد بیماران که تخمک‌گذاری داشتند، تنها یک فولیکول غالب و در ۲۰ درصد دو فولیکول غالب ایجاد شد. در هیچ یک از بیماران بارداری دوقلویی ایجاد نشد. تعداد محدود فولیکول در القای تخمک‌گذاری با لتروزول، خطر بارداری چندقلویی و سندرم تحریک بیش از حد تخمدان را کاهش می‌دهد. لذا القای تخمک‌گذاری با لتروزول، بر خلاف گنادوتروپین‌ها به نظارت دقیق نیاز ندارد. نتیجه به دست آمده در این رابطه با سایر مطالعه‌ها همخوانی دارد.<sup>(۷-۱۱)</sup>

در این مطالعه میانگین ضخامت آندومتر در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم به ترتیب ۱۱/۵، ۱۱/۴ و ۱۱/۴ میلی‌متر بود. لذا تأثیر منفی کلومیفن بر ضخامت آندومتر، در مصرف لتروزول دیده نشد. در سایر مطالعه‌ها نیز مصرف لتروزول با ضخامت آندومتر مناسب همراه بود.<sup>(۸-۱۰ و ۱۳)</sup> البته در مطالعه احمد بدوی ضخامت آندومتر با مصرف کلومیفن در مقایسه با لتروزول بیش‌تر بود، ولی در مجموع ضخامت آندومتر در گروه لتروزول در حد قابل قبولی (۸/۱ میلی‌متر) بود.<sup>(۱۲)</sup> در مطالعه حاضر افزایش دوز لتروزول تأثیر منفی بر ضخامت آندومتر نداشت. در دو مطالعه تأثیر دوزهای متفاوت لتروزول در مقایسه با کلومیفن بررسی شده است که در یکی از آن‌ها تفاوتی از نظر بارداری در مصرف دوز استاندارد لتروزول (۲/۵ میلی‌گرم) و دوزهای بالاتر دیده نشد. ولی در مطالعه دیگر، با مصرف دوز بالاتر لتروزول (۵ میلی‌گرم) میزان بارداری بیش‌تر از دوز استاندارد بود.<sup>(۱۴)</sup> در مطالعه‌های آتی با افزایش جمعیت مورد مطالعه می‌توان تأثیر دوزهای متفاوت لتروزول را بر ضخامت آندومتر و میزان بارداری دقیق‌تر بررسی نمود.

در مطالعه حاضر در میان دو گروه پاسخ به لتروزول و عدم پاسخ به لتروزول از نظر سن، شاخص توده بدنی،

بیماران (۴۳/۳ درصد) هیرسوتیسم داشتند. علت ناباروری در ۲۳ نفر (۷۶/۶۷ درصد) تخمدان پلی‌کیستیک و در ۷ نفر (۲۳/۳۳ درصد) نازایی بدون علت بود.

با مصرف لتروزول در دوز ۲/۵ میلی‌گرم، ۳ نفر (۱۰ درصد) فولیکول غالب داشتند و ضخامت متوسط آندومتر ۱۱/۵ میلی‌متر بود. در دوز ۵ میلی‌گرم، ۱۲ نفر (۴۰ درصد) فولیکول غالب داشتند و ضخامت متوسط آندومتر ۱۱/۵ میلی‌متر بود و در دوز ۷/۵ میلی‌گرم، ۵ نفر (۱۶/۷ درصد) فولیکول غالب داشتند و ضخامت متوسط آندومتر ۱۱/۴ میلی‌متر بود.

با درمان لتروزول در دوزهای متفاوت، در کل در ۲۰ نفر (۶۶/۶ درصد) فولیکول غالب ایجاد شد که در ۴ نفر آن‌ها (۲۰ درصد) دو فولیکول غالب و در ۱۶ نفر (۸۰ درصد) یک فولیکول غالب ایجاد شد. در نهایت ۵ بیمار (۱۶/۷ درصد) با مصرف لتروزول باردار شدند. موردی از بارداری دوقلویی دیده نشد. پاسخ به لتروزول ارتباط آماری معنی‌داری با سن، طول مدت ناباروری، شاخص توده بدنی، هیرسوتیسم و علت ناباروری نداشت (جدول شماره ۱).

جدول ۱- پاسخ به لتروزول به تفکیک متغیرهای مورد مطالعه

متغیر	گروه	پاسخ به لتروزول	عدم پاسخ به لتروزول	سطح معنی‌داری
سن (سال)	۲۵±۳	۲۶±۴	< ۰/۰۵	
طول مدت نازایی (سال)	۳/۷±۲	۴/۷±۳	< ۰/۰۵	
شاخص توده بدنی	۳۰±۳/۳	۲۹±۳	< ۰/۰۵	
هیرسوتیسم	۷ نفر (۵۴٪)	۶ نفر (۴۶٪)	< ۰/۰۵	
علت ناباروری: تخمدان پلی‌کیستیک نازایی بدون علت	۱۴ نفر (۶۱٪) ۶ نفر (۸۶٪)	۹ نفر (۳۹٪) ۱ نفر (۱۴٪)	< ۰/۰۵	

### \* بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد مصرف دوزهای افزایش‌دهنده لتروزول در بیماران مقاوم به کلومیفن باعث تخمک‌گذاری در ۶۶/۶ درصد بیماران شد و در نهایت ۵ بیمار (۱۶/۷ درصد)

**\* مراجع:**

1. Seli E, Arici A, Barbieri R, et al. Ovulation induction with clomiphene citrate. Available at: <http://www.uptodate.com> last updated, Oct 7, 2011
2. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibitors for ovulation induction esemin. *Reprod Med* 2004 Feb; 22 (1): 61-78
3. Mohan S, Kamath MS, Aleyamma TK, et al. Aromatase inhibitors in women with clomiphene citrate resistance: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Fertil Steril* 2010 Dec; 94 (7): 2857-9
4. Requena A, Herrero J, Landeras J, et al. Use of letrozole in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *Human Reprod Update* 2008 Nov-Dec; 14 (6): 571-82
5. Patel SM, Nestler JE. Fertility in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2006 Mar; 35 (1): 137-55
6. Elnashar A, Fouad H, Eldosoky M, Abalgafar N. Letrozole induction of ovulation in clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome: responders and non-responders. *Mid East Fertil Soc J* 2004; 9 (2): 157-62
7. Al-Omari WR, Sulaiman WR, Al-Hadithi N. Comparison of two aromatase inhibitors in women with resistant polycystic ovary syndrome. *Int J Gynecol Obstet* 2004 Jun; 85 (3): 289-91
8. Al-Omari WR, Al-Hadithi N, Izat B, et al. The effect of an aromatase inhibitor on ovulation induction and endometrial receptivity in clomiphene resistant women with polycystic ovary syndrome. *Mid East Fertil Soc J* 2001; 6: 2-5
9. Mitwally MF, Casper RF. Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with an inadequate response to

مدت زمان ناباروری، هیرسوتیسم و علت ناباروری تفاوت آماری معنی داری وجود نداشت که این نتیجه با نتایج مطالعه الناشر همخوانی دارد.<sup>(۶)</sup> لذا به نظر می رسد می توان لتروزول را در تمام بیماران مقاوم به کلومیفن، تجویز کرد؛ زیرا عواملی مثل شاخص توده بدنی بالا، مدت ناباروری طولانی یا سن بالا اثر لتروزول را تغییر نمی دهند. در این مطالعه از نظر میزان پاسخ دهی به لتروزول تفاوت آماری معنی داری بین دو گروه با تخمدان پلی کیستیک و ناباروری بدون علت دیده نشد که این نتیجه با نتایج مطالعه الناشر همخوانی دارد.<sup>(۶)</sup> به نظر می رسد لتروزول به همان اندازه که در بیماران مبتلا به تخمدان پلی کیستیک مفید است، در بیماران با ناباروری غیر قابل توجه نیز می تواند مؤثر واقع شود. البته در این رابطه، محدودیت مطالعه حاضر کم بودن حجم نمونه بیماران با نازایی بدون علت است که در مطالعه های بعدی با افزایش حجم نمونه می توان به نتایج معتبرتری دست یافت.

به طور کلی این مطالعه نشان داد که مصرف لتروزول در بیماران مقاوم به کلومیفن مفید و با میزان قابل توجه تخمک گذاری و بارداری همراه است. مصرف لتروزول تأثیر منفی بر ضخامت آندومتر ندارد. احتمال بارداری چند قلبی با مصرف لتروزول پایین است و به نظارت دقیق نیازی نیست. در نتیجه لتروزول با توجه به هزینه و عوارض کم تر نسبت به گنادوتروپین ها، می تواند به عنوان خط اول درمان در بیماران مقاوم به کلومیفن مطرح باشد.

**\* سپاس گذاری:**

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین جهت تأمین بودجه این پایان نامه دستگیری و همکاری کارکنان محترم واحد حمایت از توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان کوثر تشکر و قدردانی می شود.

comiphene critrate. *Fertil Steril* 2001 Feb; 75 (2): 305-9

10. Begum MR, Ferdous J, Begum A, Quadir E. Comparison of efficacy of aromatase inhibitor and clomiphene citrate in induction of ovulation in polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 2009 Sep; 92 (3): 853-7

11. Kamath MS, Aleyamma TK, Chandy A, George K. Aromatase inhibitors in women with clomiphene citrate resistance: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Fertil Steril* 2010 Dec; 92 (7): 2857-9

12. Badawy A, Abdel Aal I, Abulatta M. Clomiphene citrate or letrozole for ovulation

induction in women with polycystic ovarian syndrome: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 2009 Sep; 92 (3): 849-52

13. Baruah J, Roy KK, Rahman SM, et al. Endometrial effects of letrozole and clomiphene citrate in women with polycystic ovary syndrome using spiral artery Doppler. *Arch Gynecol Obstet* 2009 Mar; 279 (3): 311-4

14. Polyzos NP, Tzioras S, Mauri D, et al. Treatment of unexplained infertility with aromatase inhibitors or clomiphene citrate: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv* 2008 Jul; 63 (7): 472-9

Archive of SID

## Letrozole induction of ovulation in infertile women with Clomiphene Citrate resistance

T. Dabaghi Ghaleh \*

K. Elmizadeh \*\*

G. Farshad \*\*\*

A. Javadi \*\*\*\*

\*Assistant Professor of Obstetrics and Gynecology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*Obstetrician and Gynecologist, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*Resident of Obstetrics and Gynecology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*\*Instructor of Biostatistics, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

### \*Abstract

**Background:** Aromatase inhibitors have been recently advocated as an inexpensive, effective, and low risk treatment in clomiphene citrate (CC)-resistant patients.

**Objective:** To evaluate the efficacy of letrozole in induction of ovulation in CC- resistant patients.

**Methods:** This prospective clinical trial was carried out on 30 patients admitted to a private infertility clinic in Qazvin during 2009. Thirty patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) and unexplained infertility who were resistant to CC entered the study. Inclusion criteria included age between 18-39, infertility more than 2 years, normal TSH, prolactin, spermogram, and FSH in the beginning of follicular phase and the exclusion criteria were history of pelvic surgery, presence of adhesions and every infertility factors except unovulation. After a washout period of 2 months, letrozole was given orally in doses of 2.5-7.5 mg on days 5-9 of the menstrual cycle. Dose increase was performed if there was no dominant follicle at lower dose. Follicular assessment was carried out by vaginal sonography on day 16 followed by administration of hCG if follicle $\geq$ 18mm was detected. Ovulation and pregnancy rate and the endometrial thickness on day of hCG administration were measured. Data were analyzed using chi-square test, paired t-test, and the Fischer's exact test.

**Findings:** Following administration of letrozole in three doses of 2.5, 5, and 7.5 mg, 3 (10%), 12 (40%), and 5 (16.7%) patients had follicle $\geq$ 18mm, respectively. The overall ovulation rate was %66.6. Among these patients, 16 (80%) had one dominant follicle and 4 (20%) with 2 but no twin pregnancy was present. Pregnancy took place in 5 patients (16.7%). Endometrial thickness was 11.5, 11.5 and 11.4 in doses of 2.5, 5 and 7.5 mg of letrozole, respectively.

**Conclusion:** The findings of the present study showed that the induction of ovulation with letrozole in CC-failure is associated with ovulation and pregnancy in a significant number of patients. Regarding the low risk of multiple pregnancy and hyperstimulation syndrome, letrozole could be the first line treatment in CC- failure.

**Keywords:** Clomiphene resistance, Letrozole, PCOS, Unexplained infertility, Induction of ovulation

**Corresponding Address:** Khadijeh Elmizadeh, Kosar Hospital, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Email:** p.elmizadeh@gmail.com

**Tel:** +98-281-2236380

**Received:** 8 Sep 2010

**Accepted:** 23 Apr 2011