

مقاله پژوهشی

## بررسی ارتباط بین سرطان مثانه و بیان گیرنده آندروژن در مراجعه کنندگان به بیمارستان امام خمینی تهران: یک مطالعه مورد - شاهدی

محسن آیتی<sup>۱</sup>، عیسی جهانزاد<sup>۱</sup>، گلنوش معجری کسمایی<sup>۲\*</sup>، حسن جمشیدیان<sup>۱</sup>، محمد رضا نوروزی<sup>۳</sup>، کامیاب علیزاده<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانشیار اورولوژی، مرکز تحقیقات سرطانهای دستگاه ادراری تناسلی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup>دستیار اورولوژی، مرکز تحقیقات سرطانهای دستگاه ادراری تناسلی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۳</sup>استاد اورولوژی، مرکز تحقیقات سرطانهای دستگاه ادراری تناسلی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۴</sup>پژوهشگر، مرکز تحقیقات سرطانهای دستگاه ادراری تناسلی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

\*نویسنده مسئول: تهران، انتهای اتوبان چمران، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات سرطانهای دستگاه ادراری تناسلی

پست الکترونیک: golnoosh.kasmaee@gmail.com

وصول: ۹۲/۵/۲۳ اصلاح: ۹۲/۸/۱ پذیرش: ۹۲/۶/۱۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین سرطان مثانه و بیان گیرنده آندروژن در مراجعه کنندگان به بیمارستان امام خمینی تهران بود.

**مواد و روش کار:** در یک مطالعه مورد - شاهدی ۵۹ بیمار مبتلا به سرطان مثانه و ۵۹ فرد سالم که با اندیکاسیون دیگری تحت سیستموسکوپی قرار گرفته بودند وارد مطالعه شدند و بیان رسپتور آندروژن در آنها به روش ایمنوهیستوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین بیان رسپتور در گروه مورد بر حسب درجه تومور و میزان عود نیز بررسی شد.

**یافته ها:** بیان رسپتور آندروژن در ۱۵/۳٪ از افراد بیمار و ۱۱/۹٪ از گروه شاهد دیده شد. بین میزان بیان رسپتور در دو گروه از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $P=0/789$ ). در گروه مورد بین درجه تومور با وجود گیرنده آندروژنی ارتباطی وجود نداشت ( $P=0/338$ ). پس از ۹ ماه پیگیری، عود در ۲۸/۸٪ بیماران دیده شد که از این افراد ۱۷/۶٪ رسپتور مثبت بودند و وجود رسپتور مثبت ارتباطی با عود نداشت ( $P=0/708$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج بررسی ما با مطالعاتی که بیان رسپتور آندروژن را به عنوان یک فاکتور پیشگویی کننده در سرطان مثانه بیان می کنند همخوانی ندارد. این موضوع در نتایج مطالعات مختلف نیز با هم متفاوت است، با این حال نیاز به مطالعات بیشتر در سطح وسیعتر برای رسیدن به نتایج قطعی تر وجود دارد.

**واژه های کلیدی:** رسپتور آندروژن، سرطان مثانه، ایمنوهیستوشیمیایی

### مقدمه

میرند [۱]. همچنین تا به حال نشان داده شده است که زنان به نسبت مردان با ویژگی های نامطلوب تر تومور رو در رو هستند [۲]. این اطلاعات اپیدمیولوژیک و بالینی نشان می دهد که مردان بطور قابل ملاحظه ای بیشتر در معرض خطر سرطان مثانه هستند در حالی که تمایل به تومورهای تهاجمی تر در زنان بیشتر است. هورمونهای استروئیدی جنسی از طریق اتصال به گیرنده های هم ریشه خود، از قبیل گیرنده آندروژن (AR) و گیرنده های

در بروز و پیشرفت سرطان مثانه تفاوت بین دو جنس وجود دارد. در ایالات متحده آمریکا، سرطان مثانه در بین سرطانهای مردان ۶/۷٪ را به خود اختصاص داده است در حالی که ۲/۴٪ سرطانهای زنان را شامل می شود. این در حالی است که تخمین زده شده در سال ۲۰۱۰ تعداد ۱۰۴۱۰ مرد (۱۹/۷٪ از افراد تازه تشخیص داده شده) و ۴۲۷۰ زن (۲۴٪ از موارد تازه تشخیص داده شده) می

در مدت زمان انجام این بررسی افراد واقع در گروه مورد از نظر عود تومور مورد پیگیری قرار گرفتند که به صورت مراجعه در زمان مقرر جهت سیستمسکوپی انجام شد. اطلاعات مربوط به هر بیمار به صورت جداگانه ثبت گردید. بیماران (گروه مورد) طی مدت انجام مطالعه به صورت دوره ای و از طریق سیستمسکوپی مورد پیگیری قرار گرفته و عود در آنها بررسی گردید.

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS15 انجام گرفت. جداول و نمودارها با استفاده از بسته نرم افزاری Microsoft Office تهیه شد. متغیرها با استفاده از آزمون کای دو یا آزمون دقیق فیشر مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این آزمون سطح اطمینان ۹۵٪ منظور گردید.

#### یافته ها

۱۱۸ نفر (۵۹ نفر در گروه مورد و ۵۹ نفر در گروه شاهد) در این مطالعه وارد شدند. ۱۰۲ نفر (۸۶/۴٪) از افراد مذکر بودند (۵۱ نفر در هر گروه). بیان گیرنده آندروژن (رسپتور مثبت) در ۱۶ نفر از افراد از هر دو گروه - که همگی مذکر بودند - دیده شد که در بیماران دارای تومور مثانه (گروه مورد) در ۹ نفر (۱۵/۳٪) و در گروه شاهد در ۷ نفر (۱۱/۹٪) دیده شد. بین میزان رسپتور مثبت در دو گروه از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $P=0/789$ ). (جدول ۱)

جدول ۲ به مقایسه دو گروه گیرنده مثبت و منفی در میان افراد مورد (بیماران دارای تومور مثانه) پرداخته است. در بین ۵۹ نفر افراد بیمار مبتلا به تومور مثانه (گروه مورد) ۱ نفر (۱/۷٪) دارای تومور با گرید Low malignant potential، ۴۹ نفر (۸۳٪) دارای تومور با گرید پایین، ۹ نفر (۱۵/۳٪) دارای تومور با گرید بالا بودند. بیان گیرنده آندروژن تنها در گروه با گرید پایین دیده شد (۴/۱۸٪ از ۴۹ نفر). بین درجه تومور با وجود گیرنده آندروژنی ارتباطی وجود نداشت ( $P=0/338$ ).

مدت پیگیری بیماران بطور متوسط ۹ ماه بود. پس از پیگیری بیماران عود در ۱۷ نفر (۲۸/۸٪) دیده شد که از این افراد ۳ نفر (۱۷/۶٪) رسپتور مثبت بودند. اختلاف معنی دار بین افراد با و بدون عود در مورد وجود رسپتور مثبت آندروژنی وجود نداشت ( $P=0/708$ ).

استروژن در سلول های هدف عمل می کنند. اگر چه عملکرد فیزیولوژیکی آندروژن و استروژن در مثانه به طور کامل شناخته نشده است، این گیرنده ها در اپیتلیوم مثانه طبیعی بیان می شوند [۳-۵]. نشان داده شده است که مسیرهای بیان گیرنده های آندوژنی و استروژنی توسعه و پیشرفت سرطان مثانه را متعادل می کنند [۶-۱۱]. این یافته ها ممکن است برخی تفاوتها را بین مرد و زن در مورد سرطان مثانه توضیح دهند. مطالعات اخیر بیان گیرنده های آندوژنی و استروژنی را در نمونه بافت سرطان مثانه اندازه گیری کرده اند [۷، ۱۰، ۱۲]. با این حال، گزارشها مبنی بر میزان بیان ژنی و همچنین ارتباط بین بیان رسپتور و درجه و مرحله تومور متفاوت است. علاوه بر این، اهمیت پیش آگهی بیان گیرنده در بیماران مبتلا به سرطان مثانه مسئله ای بحث برانگیز باقی مانده است.

در مطالعه حاضر، ما به روش ایمونوهیستوشیمی برای رسپتور آندروژنی در نمونه های سرطان مثانه و همچنین بافت سالم مثانه پرداختیم.

#### روش کار

این مطالعه بصورت مورد-شاهدی در میان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی در سال ۹۱-۱۳۸۹ انجام شد. گروه مورد شامل افراد مبتلا به تومور مثانه بودند که وجود تومور در آنها توسط پاتولوژی اثبات گردیده و به سرطان دیگری مبتلا نبودند. گروه شاهد شامل افراد فاقد تومور مثانه که به دلیل دیگری به جز تومور مثانه کاندید سیستمسکوپی بودند و عدم وجود تومور مثانه در نمونه گرفته شده از مثانه آنها توسط پاتولوژی اثبات گردید. همچنین افراد شاهد مبتلا به سرطان دیگری نبودند و کلیه افراد شرکت کننده تحت درمانهای مؤثر بر رسپتورهای آندروژنی و آندروژنها نبودند. پروتکل مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران تصویب شده بود و از بیماران برای شرکت در این پژوهش رضایتنامه دریافت شد.

پس از تعیین افراد در هر گروه آنها را بر حسب اندیکاسیون تحت سیستمسکوپی و بیوپسی از مثانه قرار داده و سپس نمونه ها جهت بررسی پاتولوژیک به بخش پاتولوژی ارسال گردید. نمونه های حاصله از نظر بیان رسپتور آندروژن در بخش IHC مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱: مشخصات افراد مورد مطالعه در دو گروه مورد و شاهد

مقدار P	گروه شاهد (n=۵۹)	گروه مورد (n=۵۹)	کل بیماران (n=۱۱۸)	
				جنس
>۰/۹۹۹	۵۱ (۸۶/۴٪)	۵۱ (۸۶/۴٪)	۱۰۲ (۸۶/۴٪)	مذکر
	۸ (۱۳/۶٪)	۸ (۱۳/۶٪)	۱۶ (۱۳/۶٪)	مؤنث
				بیان گیرنده آندروژن
۰/۷۸۹	۷ (۱۱/۹٪)	۹ (۱۵/۳٪)	۱۶ (۱۳/۶٪)	دارد
	۵۲ (۸۸/۱٪)	۵۰ (۸۴/۷٪)	۱۰۲ (۸۶/۴٪)	ندارد

جدول ۲: بررسی گیرنده آندروژن در بیماران دارای تومور مثانه

مقدار P	گیرنده آندروژن		کل بیماران (n=۵۹)	
	منفی	مثبت		
۰/۳۳۷	۴۲ (۸۲/۴٪)	۹ (۱۷/۶٪)	۵۱ (۸۶/۴٪)	جنس
	۸ (۱۰۰٪)	-	۸ (۱۳/۶٪)	مذکر
۰/۳۳۸	۱ (۱۰۰٪)	-	۱ (۱/۷٪)	مؤنث
	۴۰ (۸۱/۶٪)	۹ (۱۸/۴٪)	۴۹ (۸۳٪)	درجه تومور
	۹ (۱۰۰٪)	-	۹ (۱۵/۳٪)	Low malignant potential
۰/۷۰۸	۱۴ (۸۲/۴٪)	۳ (۱۷/۶٪)	۱۷ (۲۸/۸٪)	Low grade
	۳۶ (۸۵/۷٪)	۶ (۱۴/۳٪)	۴۲ (۷۱/۲٪)	High grade
				عود
				دارد
				ندارد

## بحث

در حال حاضر شواهد کافی و قوی بین محققان مبنی بر این که آیا هورمون های جنسی و گیرنده های آنها ممکن است برخی بر ویژگی های بالینی و پاتولوژی بیماران مبتلا به سرطان مثانه تاثیر داشته باشد وجود ندارد [۱۳]. مطالعات ابتدایی که کمتر از ۲۰ بیمار را وارد کرده بودند در ۱۰۰-۵۲٪ از سرطان های مثانه ریسپتور آندروژن را شناسایی کردند [۱۴]. ولی در مطالعه کیرکالی<sup>۱</sup> و

در مطالعه ما اختلاف معنی دار آماری بین افراد سالم و افراد سرطان مثانه و همچنین بین دو جنس از نظر میزان بیان گیرنده آندروژن وجود نداشت. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ارتباطی بین درجه تومور و بیان ریسپتور وجود نداشت و پس از پیگیری به مدت ۹ ماه میزان عود در دو گروه ریسپتور مثبت و منفی نیز اختلاف معنی داری نداشت.

۲۹ ماه پیگیری کردند و دریافتند که میزان عود در افراد رسپتور مثبت و منفی به ترتیب ۲۴٪ و ۱۵٪ بود که اختلاف معنی داری بین آنها وجود نداشت [۱۳]. مطالعه میاموتو و همکاران نشان داد که ۴۲٪ از تومورهای مثانه دارای رسپتور آندروژن بودند که به طور معنی داری پایین تر از میزانی بود که در بافت سالم وجود داشت (در مقابل ۸۰٪). همچنین آنها نشان دادند که بیان رسپتور به طور قابل توجهی در متاستاز لنفاوی در مقایسه با تومورهای اولیه بالاتر بود ولی در تومورهای تهاجمی با درجه بالا نسبت به تومورهای درجه پایین غیر تهاجمی رسپتور آندروژن کاهش داشت. با این حال بیان رسپتور تأثیری در مورد عود یا بقای بیماری نداشت [۱۴].

### نتیجه گیری

نتایج بررسی ما با مطالعاتی که بیان رسپتور آندروژن را به عنوان یک فاکتور پیشگویی کننده در سرطان مثانه بیان می کنند همخوانی ندارد. این موضوع در نتایج مطالعات مختلف نیز با هم متفاوت است، با این حال نیاز به مطالعات بیشتر در سطح وسیعتر برای رسیدن به نتایج قطعی تر وجود دارد. لذا پیشنهاد می گردد که این بررسی با تعداد نمونه بیشتر و تفکیک جنسیتی و به طور همزمان در مراکز مختلف انجام گردد تا خطاهای ناشی از تعداد کم نمونه بر طرف گردد. همچنین در صورت پیگیری بیماران برای مدت طولانی تر ممکن است نتایج مربوط به ارتباط عود تومور و رسپتور آندروژن دستخوش تغییر گردد که شاید به واقعیت جامعه نزدیک تر باشد.

### تشکر و قدردانی

این طرح به شماره ۱۳۲۶۴ در تاریخ ۸۹/۱۲/۱۰ توسط مرکز تحقیقات نفرولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران به تصویب رسیده است.

همکاران هیچ یک از ۱۳ نمونه تومور مثانه بیان رسپتور آندروژن را نداشتند [۱۵]. مطالعات اخیر که تعداد نمونه بیشتری داشتند (۴۹ تا ۱۳۹ نفر) تقریباً در نیمی از تومورهای مثانه رسپتور آندروژن نشان داده شد [۱۳، ۱۶، ۱۷]. در این مطالعات، تفاوت معنی داری در سطح رسپتور آندروژن بین مردان و زنان مشاهده نشد. در مطالعه ای که توسط بورجیان<sup>۲</sup> و همکاران انجام شد بیان رسپتور آندروژن در مردان ۶۱/۱٪ و در زنان ۳۰/۱٪ بود [۱۶]. همچنین تویگون<sup>۳</sup> و همکاران نشان دادند در حالی که در گروه مورد ۵۲/۵٪ مردان و ۴۲/۸٪ زنان بیان رسپتور آندروژن را داشتند ( $P=0/413$ )، هیچ یک از مردان و ۳۵/۷٪ زنان در گروه شاهد بیان گیرنده را نداشتند [۱۳]. میاموتو<sup>۴</sup> و همکاران نیز بر روی ۱۸۸ بیمار نشان دادند که تفاوت معنی داری در بیان گیرنده آندروژنی بین مردان و زنان وجود ندارد [۱۴]. اطلاعات موجود در مورد همبستگی میزان بیان رسپتور آندروژن در سرطان مثانه با مقدار تهاجمی بودن تومور مورد بحث است. برخی مطالعات کاهش معنی دار در بیان رسپتور آندروژن در افراد دارای درجه و یا مراحل بالاتر تومور را نشان داده اند [۱۳، ۱۶، ۱۷]. در مقابل، مطالعه ای که اخیراً بر روی ۴۷۲ بیمار انجام شده است نشان داد که بیان رسپتور آندروژن در افراد دارای تومور تهاجمی بیشتر بوده است (۱۵٪ در مقابل ۹٪) [۱۲]. در مطالعه بورجیان و همکاران بیان رسپتور آندروژن در ۸۸/۹٪ از تومورهای با درجه کم و ۴۸/۵٪ از تومورهای درجه بالا مثبت بود [۱۶]. همچنین تویگون و همکاران نشان دادند که بیان رسپتور در ۶۴٪ از تومورهای درجه کم پایلری، ۴۴٪ از درجه بالا پایلری و ۱۷٪ از تومورهای درجه بالا انفیلتراتیو وجود داشت [۱۳]. در یک مطالعه آزمایشی بر روی ۳۳ تومور با درگیری سطحی مثانه که به روش کمی به بررسی بیان رسپتور آندروژن پرداخته بود، نشان داد که بیمارانی که بیشتر بیان رسپتور داشتند در مقایسه با کسانی که بیان رسپتور کمتری داشتند، تمایل بیشتری برای عود از خود نشان دادند [۷]. تویگون و همکاران ۷۹ بیمار را بطور متوسط

2-Boorjian

3-Tuygun

4-Miyamoto

## References

1. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010, *CA Cancer J Clin.* 2010 Sep-Oct;60(5):277-300.
2. Scosyrev E, Noyes K, Feng C, Messing E, Sex and racial differences in bladder cancer presentation and mortality in the US, *Cancer* 2009 Jan 1;115:74-68(1).
3. Salmi S, Santti R, Gustafsson JA, Makela S. Co-localization of androgen receptor with estrogen receptor beta in the lower urinary tract of the male rat, *J Urol.* 2001 Aug;166(2):674-7.
4. Celayir S, Ilce Z, Dervisoglu S, The sex hormone receptors in the bladder in childhood - I: preliminary report in male subjects, *Eur J Pediatr Surg.* 2002 Oct;12(5):312-7.
5. Chavalmane AK, Comeglio P, Morelli A, Filippi S, Fibbi B, Vignozzi L, "et al", Sex steroid receptors in male human bladder: expression and biological function, *J Sex Med.* 2010 Aug;7(8):2698-713.
6. Waalkes MP, Liu J, Ward JM, Powell DA, Diwan BA, Urogenital carcinogenesis in female CD1 mice induced by in utero arsenic exposure is exacerbated by postnatal diethylstilbestrol treatment, *Cancer Res.* 2006 Feb 1;66(3):1337-45.
7. Miyamoto H, Yang Z, Chen YT, Ishiguro H, Uemura H, Kubota Y, "et al", Promotion of bladder cancer development and progression by androgen receptor signals, *J Natl Cancer Inst.* 2007 Apr 4;99(7):558-68.
8. Sonpavde G, Okuno N, Weiss H, Yu J, Shen SS, Younes M, "et al", Efficacy of selective estrogen receptor modulators in nude mice bearing human transitional cell carcinoma, *Urology* 2007 Jun;69(6):1221-6.
9. Johnson AM, O'Connell MJ, Miyamoto H, Huang J, Yao JL, Messing EM, "et al", Androgenic dependence of exophytic tumor growth in a transgenic mouse model of bladder cancer: a role for thrombospondin-1, *BMC Urol.* 2008;8:7.
10. Teng J, Wang ZY, Jarrard DF, Bjorling DE, Roles of estrogen receptor alpha and beta in modulating urothelial cell proliferation, *Endocr Relat Cancer* 2008 Mar;15(1):351-64.
11. Wu JT, Han BM, Yu SQ, Wang HP, Xia SJ, Androgen receptor is a potential therapeutic target for bladder cancer, *Urology* 2010 Apr;75(4):820-7.
12. Mir C, Shariat SF, van der Kwast TH, Ashfaq R, Lotan Y, Evans A, "et al", Loss of androgen receptor expression is not associated with pathological stage, grade, gender or outcome in bladder cancer: a large multi-institutional study, *BJU Int.* 2011 Jul;108(1):24-30.
13. Tuygun C, Kankaya D, Imamoglu A, Sertcelik A, Zengin K, Oktay M, "et al", Sex-specific hormone receptors in urothelial carcinomas of the human urinary bladder: a comparative analysis of clinicopathological features and survival outcomes according to receptor expression, *Urol Oncol.* 2011 Jan-Feb;29(1):43-51.
14. Miyamoto H, Yao JL, Chaux A, Zheng Y, Hsu I, Izumi K, "et al", Expression of androgen and oestrogen receptors and its prognostic significance in urothelial neoplasm of the urinary bladder, *BJU Int.* 2012 Jun;109(11):1716-26.
15. Kirkali Z, Cowan S, Leake RE, Androgen receptors in transitional cell carcinoma, *Int Urol Nephrol* 1990;22(3):231-4.
16. Boorjian S, Ugras S, Mongan NP, Gudas LJ, You X, Tickoo SK, "et al", Androgen receptor expression is inversely correlated with pathologic tumor stage in bladder cancer, *Urology*, 2004 Aug;64(2):383-8.
17. Boorjian SA, Heemers HV, Frank I, Farmer SA, Schmidt LJ, Sebo TJ, "et al", Expression and significance of androgen receptor coactivators in urothelial carcinoma of the bladder, *Endocr Relat Cancer* 2009 Mar;16(1):123-37.

**Original Article**

## **The relationship between expression of androgen receptor and bladder cancer among patients referred to Imam Khomeini Hospital in Tehran: A case - control study**

*Ayati M<sup>1</sup>, Jahanzad<sup>1</sup>I, Majari Kasmaee G<sup>2</sup>\*, Jamshidian H<sup>1</sup>, Noroozi MR<sup>3</sup>, Alizadeh K<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>MD, Associated Professor in Urology, Uro-Oncology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>MD, Resident in Urology, Uro-Oncology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup>MD, Professor in Urology, Uro-Oncology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup>MD, Research Assistant, Uro-Oncology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**\*Corresponding Author:**  
Uro-Oncology Research  
Center, Imam Khomeini  
Hospital, Chamran Blvd,  
Tehran, Iran.  
Email:  
golnoosh.kasmaee@gmail.com

---

### **Abstract**

**Background& Objectives:** *The aim of this study was to investigate the association between bladder cancer and androgen receptor expression among patients referred to Imam Khomeini Hospital in Tehran.*

**Material & Methods:** *In a case - control study, 59 patients with bladder cancer and 59 healthy subjects who underwent cystoscopy with another indication were enrolled and expression of androgen receptor was assessed by Immunohistochemistry technique. Receptor was also studied in terms of tumor grade and recurrence.*

**Results:** *The expression of androgen receptor was observed in 15.3% and 11.9% in case and control group, respectively. There was no statistically significant difference between the two groups in term of receptor expression (P=0.789). In the case group, expression of androgen receptor was not correlated with tumor grade (P=0.338). After 9 months of follow-up, recurrence rate was 28.8% and of these patients 17.6% were receptor-positive. There was no association between receptor positivity and recurrence (P=0.708).*

**Conclusion:** *The results of our study do not support the expression of androgen receptor as a prognostic factor in bladder cancer. It also varies in different studies. However, further studies in a larger population are needed to reach a more definitive conclusion.*

**Keywords:** *Androgen Receptor, Bladder Cancer, Immunohistochemistry*

---

**Submitted:**14 Aug 2013

**Revised:**23 Oct 2013

**Accepted:**7 Sep 2013