

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗЕЛЬТАМИВИРА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГРИППА У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Л.В. Волощук, Е.Г. Головачева, А.А. Го, А.Л. Мушкатина, П.В. Заришнюк,
Г.Л. Днепровская, Т.Л. Тумина

ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью настоящего исследования являлось изучение эффективности противовирусного препарата Осельтамивир в лечении гриппа. Оценивалось влияние Осельтамивира на клиническую картину и иммунный статус у 75 госпитализированных пациентов. Было сформировано 2 группы наблюдения с подтвержденным диагнозом «грипп»: 38 человек, получавших терапию Осельтамивиром, и 37 человек, получавших патогенетическое лечение. Показано, что лечение Осельтамивиром способствует достоверному сокращению длительности катарального и интоксикационного синдромов, а также предотвращает развитие у пациентов осложнений и обострений хронических инфекций, что говорит о его высокой противовирусной активности. Оценивая динамику показателей IL-1 β , IL-8, IFN α , IFN γ в сыворотке крови можно предположить о положительном влиянии Осельтамивира на восстановление нарушенного баланса цитокинов.

Ключевые слова: грипп, цитокины, интоксикация, катаральный синдром, осельтамивир, противовирусная активность.

THE CLINICAL AND LABORATORY EFFECTIVENESS OF OSELTAMIVIR FOR TREATMENT OF INFLUENZA IN HOSPITALIZED PATIENTS

Voloschuk L.V., Golovacheva E.G., Go A.A., Mushkatina A.L., Zarishnuik P.V., Dneprovskaya G.L., Tumina T.L.

Research Institute of Influenza Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The goal of our study was to estimate the efficacy of antiviral drug Oseltamivir for influenza treatment. We assessed the effect of Oseltamivir on the immune status of the 75 patients. It was formed 2 groups of observations with confirmed diagnosis of influenza: 38 received therapy Oseltamivir and 37 people receiving pathogenetic treatment. Treatment Oseltamivir contributes to a significant reduction in the duration of the catarrhal and intoxication syndromes and prevents the development of complications and exacerbations of chronic disease in persons with modified backdrop premorbid, which indicates for its high antiviral activity. We can assume the effect of Oseltamivir for restore the disturbed balance of cytokines, on assessing the dynamics of IL-1 β , IL-8, IFN α , IFN γ in the serum.

Key words: flu, cytokines, intoxication syndrome, catarrhal syndrome, oseltamivir, antiviral activity.

Адрес для переписки:

Волощук Любовь Васильевна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 15/17,
ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ.
Тел.: 8 (921) 797-07-47 (моб.), (812) 274-90-67.
Факс: (812) 234-59-73.
E-mail: 7970747@mail.ru

Contacts:

Liubov V. Voloschuk
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professor Popov str.,
15/17, Research Institute of Influenza.
Phone: +7 (921) 797-07-47 (mobile), +7 (812) 274-90-67.
Fax: (812) 234-59-73.
E-mail: 7970747@mail.ru

Библиографическое описание:

Волощук Л.В., Головачева Е.Г., Го А.А., Мушкатина А.Л., Заришнюк П.В., Днепровская Г.Л., Тумина Т.Л. Клинико-лабораторная оценка эффективности применения Осельтамивира для лечения гриппа у госпитализированных пациентов // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 2. С. 143–147. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-143-147

Citation:

Voloschuk L.V., Golovacheva E.G., Go A.A., Mushkatina A.L., Zarishnuik P.V., Dneprovskaya G.L., Tumina T.L. The clinical and laboratory effectiveness of Oseltamivir for treatment of influenza in hospitalized patients // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 143–147. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-143-147

Введение

Грипп и гриппоподобные заболевания (ГПЗ) остаются самыми массовыми социально-значимыми заболеваниями. По данным Федерального Центра гигиены и эпидемиологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, ежегодная заболеваемость этими инфекциями составляет 19–20 тыс. на 100 тыс. населения, значительно увеличиваясь во время пандемии, а экономические потери от этих заболеваний составляют около 90% потерь от всех инфекционных болезней [3, 4].

Смертность от гриппа обычно составляет 0,01–0,2%, значительно увеличиваясь среди детей до 2 лет и лиц старше 65 лет, а также при развитии пневмонии, осложняющей основное заболевание [11, 14]. С 12.06.2009 г. по 16.06.2010 г. во время пандемии, объявленной Всемирной организацией здравоохранения, заболело примерно 30% населения земного шара в 214 странах мира, из них с летальным исходом — 18 499 человек [2, 7].

По данным городской инфекционной больницы № 30 имени С.П. Боткина, из 1689 больных, поступивших с 19.10.2009 г. по 01.12.2009 г. с диагнозом «грипп», грипп А (H1N1) pdm/2009 был установлен в 538 случаях (38,85%), с максимальной частотой подтверждения в ноябре месяце [5]. Отмечалось частое и тяжелое поражение нижних дыхательных путей вплоть до развития тотальной пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) с прогрессирующей острой дыхательной недостаточностью, что потребовало проведения лечения в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии у 4,9% больных. За указанный период времени от гриппа А (H1N1) pdm/2009 в больнице погибло 16 пациентов, средний возраст которых составил 39 лет [1].

Осложнения при гриппе и ГПЗ, особенно в период эпидемии, регистрируются в 20–30% случаев заболеваний. Наиболее частым и грозным осложнением гриппа, как и прочих ГПЗ, является пневмония, развитие которой всегда утяжеляет течение заболевания [6, 9].

В настоящее время основными противовирусными препаратами для лечения гриппа являются ингибиторы нейраминидазы. Применяемые в оптимальной дозировке в первые 48 часов от начала заболевания они высокоэффективны и рекомендованы всем группам больных за исключением пациентов, имеющих индивидуальную непереносимость [8, 10, 12, 13]. Имеются немногочисленные данные о противовоспалительной активности Озельтамивира [15].

Цель исследования: изучение клинической эффективности Озельтамивира при неослож-

ненном гриппе у госпитализированных больных и его действие на концентрацию IL-1 β , IL-8, IFN γ , IFN α в периферической крови.

Задачи исследования:

1. оценить противовирусную активность Озельтамивира по продолжительности катарального и интоксикационного синдромов у госпитализированных больных;
2. проанализировать изменения концентрации IL-1 β , IL-8, IFN γ , IFN α в сыворотке крови у пациентов с диагнозом «грипп», получавших Озельтамивир, в динамике.

Методы

Выполнение исследования осуществлялось в отделении респираторных вирусных инфекций у взрослых ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России.

У 75 пациентов с диагнозом «грипп» была оценена противовирусная активность и изучен интерфероновый и цитокиновый статус с последующим анализом показателей IL-1 β , IL-8, IFN γ , IFN α . Было сформировано 2 группы наблюдения с подтвержденным диагнозом «грипп»: 38 человек, получавших терапию Озельтамивиром, и 37 человек, получавших патогенетическое лечение.

Этиологию заболевания устанавливали с помощью вирусологических и серологических методов (вирусовыделение и анализ генетического материала вирусов методом ПЦР с последующим определением прироста титров антител в РСК, РТГА и ИФА).

Состояние иммунологической реактивности пациентов оценивали по динамике показателей концентрации IFN α , IFN γ , IL-8, IL-1 β , циркулирующих в сыворотке крови, определяемых «сэндвич»-методом твердофазного ИФА, использовали коммерческие наборы производства ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург).

Анализ результатов выполняли с применением статистического пакета SPSS 17.0RU for Windows. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Под наблюдением при изучении лечебной эффективности ингибитора нейраминидазы Озельтамивира было 75 человек в возрасте от 16 до 60 лет, из которых 38 человек (основная группа) получали патогенетическую терапию и препарат в виде капсул по 75 мг перорально 2 раза в сутки в течение 5 дней; группу сравнения составили 37 пациентов, получавших только патогенетическую терапию.

Группы формировались методом случайной выборки по мере поступления пациентов в ста-

ТАБЛИЦА 1. ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ СИМПТОМОВ У ПАЦИЕНТОВ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗЕЛЬТАМИВИРА

Клинические симптомы	Продолжительность симптомов (в днях) по группам наблюдения (M±m)	
	Основная (n = 38)	Сравнения (n = 37)
Лихорадка	1,5±0,535*	2,04±0,204
Интоксикация	2,21±0,267*	3,75±0,216
Насморк	3,64±0,535	3,97±0,216
Кашель	4,01±0,326*	6,74±0,627
Продолжительность заболевания	5,53±0,463*	8,76±0,543

Примечание. * p < 0,05 по отношению к соответствующему контролю.

ционар без статистически значимых различий в общей и клинической характеристике больных между группами. Среди наблюдаемых преобладали мужчины в возрасте 18–29 лет. У пациентов обеих групп наблюдения регистрировались преимущественно среднетяжелые формы заболевания с типичной клинической симптоматикой гриппа: повышение температуры тела > 39°C у большинства пациентов, те или иные симптомы интоксикации и катаральные проявления в носоглотке в 100% случаев, примерно у половины наблюдавшихся больных симптомы поражения бронхов.

Проведенные исследования показали, что лечение Озельтамивиром у пациентов с гриппом приводило к достоверному сокращению длительности заболевания по сравнению с группой сравнения (5,53 и 8,76 дня соответственно, p < 0,003). Выраженность и продолжительность интоксикационного и катарального синдромов у пациентов основной группы была меньше по сравнению с группой контроля (табл. 1). Достоверно сокращался острый период заболевания у лиц, получавших Озельтамивир.

Кроме того, на фоне применения препарата статистически значимо снижалась частота осложненной формы заболевания, что совпадает с данными зарубежных авторов о снижении вероятности вторичных осложнений при использовании для лечения гриппа ингибиторов нейраминидазы [10] (табл. 2).

Если в контрольной группе больных, получавших патогенетическую терапию, осложне-

ния или обострения имеющихся хронических заболеваний регистрировались в 54% случаев, то у лиц, получавших препарат, осложненная форма гриппа была установлена лишь в 23,7% случаев.

Потребность назначения антибактериальной терапии в группе сравнения была значительно более высокой, чем в группе больных, получавших Озельтамивир.

Применение Озельтамивира оказывало влияние и на содержание циркулирующего интерферона обоих типов у пациентов в периферической крови (табл. 3).

В период ранней реконвалесценции в группе получавших Озельтамивир, отмечалось статистически значимое снижение концентрации IFNα с 81,8±3,7 до 68,1±4,8 пг/мл, тогда как у пациентов контрольной группы динамика показателя IFNα отсутствовала. Полученные данные свидетельствуют об уменьшении антигенной нагрузки на организм за счет противовирусного действия препарата, что приводит к снижению уровня IFNα.

При изучении динамики содержания IFNγ в сыворотке крови больных гриппом наблюдалась обратная картина. При сравнении данных, полученных в начале заболевания и в период реконвалесценции, отмечалось статистически значимое снижение содержания IFNγ в контрольной группе и отсутствие динамики в основной.

При изучении влияния Озельтамивира на динамику содержания провоспалительных

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ГРИППЕ НА ФОНЕ ПРИЕМА ОЗЕЛЬТАМИВИРА

Признак		Частота развития осложненного течения в группах наблюдения (абс./%)	
		Основная (n = 38)	Сравнения (n = 37)
Причина осложненной формы	Пневмония	5/13,0*	12/24,0
	Синусит	2/5,3	2/5,4
	Острый бронхит	1/2,6	3/8,1
	Обострение тонзиллита	1/2,6	3/8,1
	Всего с осложнениями	9/23,7*	20/54,0
Без осложнений		28/73,7*	17/45,9
Необходимость а/б терапии		6/15,8*	20/54,0

Примечание. *p < 0,05 по отношению к соответствующему контролю.

ТАБЛИЦА 3. ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВ И ИНТЕРФЕРОНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ГРИППОМ

Показатель		Озелтамивир (n = 30)		Контроль (n = 30)		p ₂
			p ₁		p ₁	
IFN α	I	81,8 \pm 3,7	0,0096*	65,8 \pm 2,6	0,0698*	0,3912
	II	68,1 \pm 4,8		63,6 \pm 3,9		0,0101*
IFN γ	I	43,1 \pm 2,6	0,3552	48,5 \pm 3,4	0,0235*	0,4246
	II	47,2 \pm 4,1		21,9 \pm 2,1		0,4376
IL-8	I	114,5 \pm 2,7	0,0526*	115,8 \pm 4,7	0,3318	0,2549
	II	107,3 \pm 4,3		114,2 \pm 5,2		0,3318
IL-1 β	I	67,5 \pm 5,3	0,0012*	65,2 \pm 3,7	0,2351	0,9705
	II	36,0 \pm 4,1		55,7 \pm 4,1		0,0008*

Примечание. * I, II — при поступлении и перед выпиской; p₁ — уровень p для критерия Вилкоксона для парных сравнений (с исходными данными каждой группы); p₂ — уровень p для U-критерия Манна–Уитни (показатели перед выпиской сравниваемых групп); * — различия статистически значимы.

цитокинов IL-1 β , IL-8 в сыворотке крови определялось его воздействие и на эти показатели. Так у пациентов, получавших Озелтамивир, отмечалось статистически значимое снижение концентрации IL-1 β в сыворотке крови, тогда как у пациентов контрольной группы отмечалось лишь незначительное его снижение. Полученные данные подтверждались сокращением продолжительности местного воспалительного процесса и лихорадочного периода, на длительность которых IL-1 β оказывает непосредственное влияние при гриппе.

Концентрация IL-8 в сыворотке крови в острый период заболевания и в ранний реконвалесцентный период в обеих группах была без статистически значимых различий. Однако у лиц, принимавших препарат, имело место снижение средних значений показателя при повторном исследовании. У лиц, получавших Озелтамивир, снижение содержания IL-8 в сыворотке крови отмечалось в 72,7% случаев и наблюдалось сокращение продолжительности острого периода заболевания, в контрольной группе снижение этого показателя отме-

чалось только в 35% случаев и сопровождалось большей продолжительностью воспалительного процесса.

Выводы

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при назначении Озелтамивира происходит восстановление нарушенного баланса цитокинов, активно синтезируемых при распространении антигена в организме, что подтверждается немногочисленными авторами [15], а также предотвращение развития у пациентов бактериальных осложнений и обострений хронических инфекций, что отмечено и в ряде работ [8, 10, 12, 13]. По нашим данным отмечается воздействие препарата Озелтамивир на концентрацию IFN α и провоспалительных цитокинов IL-8 и IL-1 β . У лиц, получавших данный препарат, статистически значимо снижалось содержание этих показателей в период ранней реконвалесценции, что в свою очередь приводило к сокращению острого периода заболевания и продолжительности болезни в целом.

Список литературы/References

1. Беляева Т.В., Исаков В.А., Рахманова А.Г., Тимченко В.И., Каболова И.В., Яковлев А.А. Грипп А (H1N1) Калифорния («свиной грипп»). Клиника, диагностика, этиология: Методические рекомендации для врачей. СПб., 2009. 87 с. [Belyaeva T.V., Isakov V.A., Rakhmanova A.G., Timchenko V.I., Kabolova I.V., Yakovlev A.A. *Gripp A (N1N1) Kaliforniya («svinoi gripp»)*. *Klinika, diagnostika, etiologiya: Metodicheskie rekomendatsii dlya vrachei* [Influenza A (H1N1) California («swine flu»)]. *Clinic, diagnosis, etiology: Methodical recommendations for doctors*. *St. Petersburg, 2009, 87 p.*]
2. Еженедельный бюллетень по информированному мониторингу проявлений гриппа H1N1 и других генотипов вируса с пандемическим потенциалом за период 09.05.2010–16.06.2010 // Референс-лаборатория ВОЗ по диагностике гриппа H5 ФГУН ГНЦВБ. Выпуск 7. 25 с. [Ezhenedel'nyi byulleten' po informirovannomu monitoringu proyavlenii grippa H1N1 i drugikh genotipov virusa s pandemicheskim potentsialom za period 09.05.2010–16.06.2010 [Weekly Bulletin informed monitoring of manifestations of H1N1 and other strains of the virus with pandemic potential during the period 09.05.2010–16.06.2010]. *Referens-laboratoriya VOZ po diagnostike grippa H5 FGUN GNTsVB = Reference Laboratory WHO for the Diagnosis of Influenza H5 FSRI GMCVB, iss. 7, 25 p. (In Russ.)*]
3. Инфекционная заболеваемость за январь–декабрь 2008 г. в Российской Федерации // Детские инфекции. 2009. Т. 8. С. 1–3. [Infektsionnaya zaboлеваemost' za yanvar'-dekabr' 2008 g. v Rossiiskoi Federatsii [Infectious morbidity in January–December of 2008 in the Russian Federation] *Detskie infektsii = Childhood infections. 2009, vol. 8, pp. 1–3. (In Russ.)*]
4. Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях за январь–декабрь 2010. Российская Федерация // Детские инфекции. 2011. Т. 10. № 2. С. 3. [Information about infectious and parasitic diseases, January–December 2010. Russian Federation. *Detskie infektsii = Childhood infections, 2011, vol. 10, no. 2, p. 3. (In Russ.)*]

5. Яковлев А.А., Полушин Ю.С., Котлярова С.И., Мусатов В.Б., Федуняк И.П., Цинзерлинг В.А., Вашукова С.С., Лукашевич Э.Н. Грипп А H1N1/2009 Калифорния — reassortment of vRNAs — как медицинская проблема // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2010. № 3. С. 45–55. [Yakovlev A.A., Polushin Y.S., Kotlyarova S.I., Musatov V.B., Feduniak I.P., Zinserling V.A., Vashukova S.S., Lukashevich E.N. Influenza A H1N1/2009 California reassortment of vRNAs as a medical problem. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta = Herald of St. Petersburg University*, 2010, no. 3, pp. 45–55. (In Russ.)]
6. Bussfeld D., Bacher M., Moritz A., Gemsa D., Sprenger H. Expression of transcription factor genes after influenza virus A infection. *Immunobiology*, 1997, vol. 198, pp. 291–298. doi: 10.1016/S0171-2985(97)80049-6
7. CDC news conference with Thomas R. Frieden. *Centers for Disease Control and Prevention*, Dec. 10, 2009.
8. Dixit R., Khandaker G., Hay P., McPhie K., Taylor J., Rashid H., Heron L., Dwyer D., Booy R. A randomized study of standard versus double dose oseltamivir for treating influenza in the community. *Antivir. Ther.*, 2014, 10 p. doi: 10.3851/IMP2807
9. Hermes-Lima M., Storey J.M., Storey K.B. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 1998, vol. 120, pp. 437–448. doi: 10.1016/S0305-0491(98)10053-6
10. Garg S., Fry A.M., Patton M., Fiore A.E., Finelli L. Antiviral treatment of influenza in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2012, vol. 31, iss. 2, pp. 43–51. doi: 10.1097/INF.0b013e31824671ab
11. Louie J.K., Schechter R., Honarmand S., Guevara H.F., Shoemaker T.R., Madrigal N.Y., Woodfill C.J., Backer H.D., Glaser C.A. Severe pediatric influenza in California, 2003–2005: implications for immunization recommendation. *J. Pediatr.*, 2006, vol. 117, pp. 610–618. doi: 10.1542/peds.2005-1373
12. Nguyen H.T., Fry A.M., Gubareva L.V. Neuraminidase inhibitor resistance in influenza viruses and laboratory testing methods. *Antivir. Ther.*, 2012, vol. 17, no. 1, pp. 159–173. doi: 10.3851/IMP2067
13. Nieto-Pascual L., Arjona-Berral J.E., Marín-Martín E.M., Muñoz-Gomariz E., Ilich I., Castelo-Branco C. Early prophylactic treatment in pregnant women during the 2009–2010 H1N1 pandemic: obstetric and neonatal outcomes. *J. Obstet. Gynaecol.*, 2013, vol. 33, no. 2, pp. 128–134. doi: 10.3109/01443615.2012.740526
14. Ramshaw I.A., Ramsay A.J., Karupiah G., Rolph M.S., Mahalingam S., Ruby J.C. Cytokines and immunity to viral infections. *Immunol. Rev.*, 1998, vol. 159, no. 1, pp. 69–77. doi: 10.1111/j.1600-065X.1997.tb01011.x
15. Wong Z.X., Jones J.E., Anderson G.P., Gualano R.C. Oseltamivir treatment of mice before or after mild influenza infection reduced cellular and cytokine inflammation in the lung. *Influenza Other Respir. Viruses*, 2011, vol. 5, iss. 5, pp. 343–350. doi: 10.1111/j.1750-2659.2011.00235.x

Авторы:

Волощук Л.В., к.м.н., старший научный сотрудник отделения РВИ у взрослых ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
Головачева Е.Г., к.м.н., старший научный сотрудник отделения РВИ у детей ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
Го А.А., руководитель отделения РВИ у взрослых ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
Мушкатина А.Л., научный сотрудник отделения РВИ у взрослых ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
Заришнюк П.В., старший научный сотрудник отделения РВИ у взрослых ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
Днепроvская Г.Л., ведущий научный сотрудник отделения РВИ у взрослых ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
Тумина Т.Л., научный сотрудник отделения РВИ у взрослых ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Voloschuk L.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Division of Viral Respiratory Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Golovacheva E.G., PhD (Medicine), Senior Researcher, Division of Viral Respiratory Infections in Children, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Go A.A., Chief, Division of Viral Respiratory Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Mushkatina A.L., Researcher, Division of Viral Respiratory Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Zarishnuk P.V., Senior Researcher, Division of Viral Respiratory Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Dneprovskaya G.L., Leading Researcher Division of Viral Respiratory Infections in Adults Ministry of Health Development of the Russian Federation Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Tumina T.L., Researcher, Division of Viral Respiratory Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 15.01.2015
 Отправлена на доработку 22.01.2015
 Принята к печати 06.03.2015

Received 15.01.2015
 Revision received 22.01.2015
 Accepted 06.03.2015