

Мочальникова В.В., Перевошиков А.Г., Малихова О.А.

Ранний рак желудка: клинко-морфологическое изучение безопасности расширенных критериев эндоскопической резекции

НИИ КО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Mochalnikova V.V., Perevoschikov A.G., Malikhova O.A.

Early gastric cancer: clinico-morphological study of the safeness of expanded criteria for endoscopic resection

Резюме

Эндоскопическая резекция (ЭР) является широко распространенным вариантом лечения раннего рака желудка (РРЖ), при параметрах опухоли, соответствующих стандартным или расширенным показаниям ЭР, однако онкологическая безопасность расширенных критериев все еще изучается. Цель исследования: изучение онкологической безопасности расширенных показаний ЭР РРЖ на материале ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России на основании анализа частоты метастазирования и выживаемости больных РРЖ в соответствии с показаниями ЭР. Методы: изучен операционный материал четырехсот четырех пациентов, перенесших радикальную хирургическую операцию по поводу раннего рака желудка в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России в период с ноября 1990 по декабрь 2006 год. У всех больных был определен уровень регионарного метастазирования и прослежена 10- и 15-летняя общая выживаемость. К общей группе больных РРЖ были применены абсолютные и относительные показания ЭР РРЖ, определен уровень риска регионарного метастазирования и проведен анализ снижения уровня риска метастазирования при использовании абсолютных критериев ЭР РРЖ ко всем группам больных РРЖ. Результаты: метастазы в лимфатических узлах были обнаружены у 54 (13,4%) больных РРЖ, 50 пациентов соответствовали абсолютным показаниям, в этой группе РРЖ не было обнаружено метастатического процесса. В группе 125 пациентов с РРЖ, соответствовавшим расширенным показаниям, у 3 (2,4%) человек были обнаружены метастазы в регионарных лимфатических узлах. Изъязвление являлось наиболее важным параметром в уровне риска метастазирования РРЖ. Выводы: В целом, расширение показаний ЭР РРЖ оправдано с минимальным превышением риска по сравнению с абсолютными критериями. Однако расширение показаний должно быть соотнесено с рисками хирургической операции для этих пациентов.

Ключевые слова: ранний рак желудка, эндоскопическая резекция, расширенные показания, безопасность

Summary

Endoscopic resection (ER) is a common option of treatment for patients with early gastric cancer, in case if tumor's parameters meet standard or expanded indications for ER, however the expanded criteria's oncological safeness is yet being studied. Objective: to evaluate the oncological safeness of expanded indications for endoscopic resection in patients with early gastric cancer by analyzing the material of N.N. Blokhin NMRCO, considering the frequency of metastasis and survival rate of patients with EGC according to indications for ER. Methods: We studied surgery material of 404 patients with early gastric cancer, who have undergone radical surgeries in Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation during the period since November 1990 till December 2006. We have measured the level of regional metastasing and tracked 10- and 15-year survival for all of these patients. Absolute and relative indications for ER of RGC have been applied to the general group of patients, there has been measured the risk level of the regional metastasing and we analyzed the reduction of risk level of metastasing with the usage of absolute indications for ER of EGC in all groups of patients. Results: metastases in lymphatic nodes were detected in 54 cases (13, 4%) of EGC: 50 patients met absolute indications, in this group of patient metastatic process has not been revealed. In the group with 125 patients with EGC who met expanded indications, there have been detected metastases in regional lymph nodes in 3 patients (2.4%). The ulceration has been the most important criteria in risk level of metastasing of EGC. Conclusions: In general, the expanding of indications for ER of EGC is reasonable with minimal excess of risk in comparison with absolute indications. However, the expansion of indications must be sorted with surgery risks for these patients.

Key words: early gastric cancer, endoscopic resection, expanded indications, safeness

Таблица 1. Частота выявления регионарного метастазирования в зависимости от критериев ЭР.

		Всего	N0		N+	
Число пациентов		404	350		54	
		Абс	Абс	%	Абс	%
Абсолютные показания		50	50	100,0	-	-
Расширенные показания	1	51	51	100,0	-	-
	2	17	15	88,2	2	11,8
	3	44	43	97,7	1	2,3
	4	13	13	100,0	-	-
Общая группа с расширенными показаниями		125	122	97,6	3	2,4
Группа, превысившая расширенные показания.		229	178	77,7	51	22,3

Введение

За последние 3 десятилетия ранняя диагностика РРЖ и совершенствование эндоскопической техники привели к разработке эффективных подходов выявления и минимально инвазивных методов эндоскопической хирургии РРЖ. Отбор кандидатов для эндоскопической резекции РРЖ зависит от клинической диагностики метастатического процесса, однако точность клинических методов исследования составляет 50-87% [1]. Вследствие этого, отбор больных РРЖ для ЭР зависит от возможности точного прогнозирования риска регионарного метастазирования на основании клинико-морфологических характеристик опухоли, проанализированных на ретроспективном операционном материале с известными показателями регионарного метастазирования и выживаемостью.

В 2000 году Gotoda с соавт. после 30-летнего наблюдения за 5265 пациентами с РРЖ, которые подверглись радикальной хирургической операции, были предложены расширенные критерии ЭР на основании отсутствия метастатического процесса при дифференцированном внутрислизистом РРЖ без изъязвления, независимо от размера опухоли, дифференцированном внутрислизистом РРЖ с изъязвлением менее 2 см, при недифференцированном РРЖ, размерами менее 3 см, и РРЖ, размером менее 3 см с небольшой подслизистой инвазией (<500 мкм) [2]. Эти характеристики РРЖ были рекомендованы Японской ассоциацией рака желудка (JGCA) и национальным японским клиническим центром онкологии (JCOG0607) в качестве расширенных показаний для ЭР РРЖ [3,4]. Отношение к расширению показаний для ЭР РРЖ было неоднозначным. Многие авторы сообщили о местных и отдаленных метастазах у больных РРЖ, которые соответствовали расширенным критериям [5,6,7]. Так, Wang с соавт. обнаружили, что у пациентов с РРЖ, соответствующих расширенным критериям, метастазирование составило 8,7%, в отличие от пациентов, соответствовавших абсолютным показаниям и не имевших метастазов [8]. Kang с соавт. выявили метастатический процесс у 15,0% пациентов при инвазии опухоли в подслизистый слой (SM 1). [9]. С учетом этих противоречивых данных, достоверность риска регионарного метастазирования при применении расширенных критериев остается спорной. Кроме того, некоторые авторы утверждают, что ЭР в соответствии с расширенными показаниями может привести к задержке выявления регионарного

метастазирования и, соответственно, к несвоевременности лечения, включая хирургию и химиотерапию [10,11]. Напротив, другие исследователи утверждают, что значительная часть пациентов с РРЖ могла бы выиграть при применении расширенных показаний для ЭР, чтобы избежать снижения качества жизни, связанной с резекцией желудка, и снизить послеоперационную летальность, которая составляет по мировым данным 1,0-3,0% [12].

Чтобы лучше оценить преимущества применения расширенных показаний ЭР и риск возникновения метастатического процесса, мы выполнили анализ уровня регионарного метастазирования у пациентов РРЖ, которые подверглись гастрэктомии с лимфодиссекцией в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с 1990 г. по 2006 г., а также оценили 10-летнюю общую и опухоль-специфическую выживаемость.

Материалы и методы

В исследование включены 404 больных РРЖ (214 (53,0%) мужчин и 190 (47,0%) женщин). Возраст больных варьировал от 24 до 90 лет (средний возраст 57,6±11,5 лет, медиана - 58,4 года). Всем пациентам в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина была проведена радикальная операция с лимфодиссекцией, за период с ноября 1990 года по июль 2006 года. Медиана времени наблюдения составила 132 мес..

Оперативное пособие и уровень лимфодиссекции основывались на рекомендациях JGCA. При пересмотре ретроспективный операционный материал был реклассифицирован в соответствии с гистологической классификацией опухолей Всемирной организации здравоохранения 2010 г., классификацией Lauren P. и классификацией JGCA 2014 г. Ко всем пациентам были применены абсолютные и относительные показания ЭР РРЖ, рекомендованные JGCA/JCOG0607 [таблица 1], был определен уровень регионарного метастазирования для абсолютного и каждого из расширенных критериев ЭР. Был рассчитан уровень снижения риска регионарного метастазирования при применении абсолютного критерия ЭР к подгруппам больных РРЖ, соответствующих каждому из расширенных критериев. Были изучены общая и опухоль-специфическая выживаемость больных в соответствии с критериями ЭР см. Таблица № 1.

Таблица 2. Уровень снижения относительного риска для РРЖ с расширенными критериями ЭР при применении к ним абсолютного критерия.

	N+	Без	RR	CI	p
Абсолютный критерий	0	50			
1 расширенный критерий	0	51	-	-	-
2 расширенный критерий	2 (11,8%)	17	1,133	0,953-1,348	0,062
3 расширенный критерий	1 (2,3%)	44	1,023	0,978-1,070	0,468
4 расширенный критерий	0	13	-	-	-
Расширенные критерии общая группа	3 (2,4%)	125	1,025	0,997-1,053	0,559
Группа, превысившая критерии ЭР	51 (22,3%)	229	1,287	1,200-1,379	0,00001

Таблица 3. Влияние принадлежности пациентов РРЖ к любому из показаний ЭР на выживаемость по сравнению с выживаемостью группы больных РРЖ, не соответствующих ни одному из показаний ЭР (относительный риск пациентов).

Вид выживаемости	HR	CI	p
Общая	0,724	0,508-1,032	0,074
Опухоль-специфическая	0,223	0,093-0,531	0,0007
Без признаков прогрессирования	0,210	0,088-0,499	0,0004

Абсолютные критерии JGCA [8]: дифференцированные карциномы, без поверхностного изъязвления, T1a (внутрислизистая карцинома), диаметром менее 2 см.

Расширенные критерии: Japan Clinical Oncology Group study (JCOG0607)[9]:

1. - T1a, дифференцированный тип, без изъязвления, более 2 см в диаметре;
2. - T1a, дифференцированный тип, с изъязвлением, менее 3 см в диаметре;
3. - T1a, недифференцированный тип, без изъязвления, менее 2 см в диаметре;
4. - T1b (карцинома с инвазией в подслизистый слой), дифференцированный тип, менее 3 см, глубина инвазии менее 500 мкм;

Результаты и обсуждение

1. Общая характеристика уровня регионарного метастазирования РРЖ, соответствующего абсолютным и расширенным критериям ЭР.

В нашем исследовании регионарные метастазы были выявлены у 54 (13,4%) больных РРЖ. В таблице №1 приведена общая характеристика больных РРЖ в соответствии с показаниями ЭР.

У 50 больных РРЖ, соответствующих абсолютному критерию ЭР, регионарных метастазов выявлено не было. У больных, соответствующих расширенным показаниям, метастазы были выявлены в трех случаях (3/122 [2,4%]) – в двух случаях у больных РРЖ, соответствующих второму расширенному критерию (2/15 [11,8%]) и одном случае (1/43 [2,3%]), соответствующем третьему расширенному критерию. У больных РРЖ, соответствующим первому и четвертому расширенным критериям метастазов выявлено не было. У пациентов, не соответствующих ни одному из критериев, метастазирование было выявлено в 22,3% случаев (51/178).

2. Оценка уровня снижения риска регионарного метастазирования РРЖ при применении абсолютных показаний ЭР на группах больных РРЖ с расширенными показаниями.

Для оценки уровня снижения риска регионарного метастазирования у пациентов с РРЖ, соответствующих расширенным критериям ЭР, мы применили к группам пациентов с расширенными показаниями характеристики РРЖ с абсолютными критериями.

Относительное снижение риска метастазирования при применении абсолютного критерия к общей группе пациентов РРЖ (125 пациентов) с расширенными критериями составило 1,025 (0,997, 1,053) ($p = 0,559$), данные приведены в таблице №2.

При анализе уровня метастазирования в группах пациентов, соответствующих каждому из расширенных критериев, были получены следующие данные.

1. При анализе подгруппы случаев РРЖ, соответствующих первому расширенному критерию, регионарное метастазирование отсутствовало (0/51), как и в подгруппе случаев с абсолютными критериями (0/50). (Таблица 2).

2. Уровень метастазирования в группе РРЖ, соответствовавших второму расширенному критерию, был значительно выше, чем в группе РРЖ с абсолютными критериями (2/17 [11,8%] против 0/50 [0%]). Относительное снижение риска при применении абсолютного критерия в группе случаев РРЖ, соответствующей второму расширенному критерию составило 1,133 (0,953; 1,348), определялась тенденция ($p = 0,062$). (Таблица 2).

3. Уровень метастазирования в группе РРЖ, соответствующих третьему расширенному критерию, был несколько выше, чем в группе, соответствующей абсолютных критериев (1/44 [2,3%] против 0/50 [0%]). Относительное снижение риска при применении к группе РРЖ, соответствующих третьему расширенному критерию, по сравнению с группой абсолютных критериев составило 1,023 (0,976; 1,07048) ($p = 0,468$). (Таблица 2).

4. В группе, соответствующей четвертому расширенному критерию, регионарное метастазирование отсутствовало (0/13), также как и в группе абсолютных критериев (0/50). (Таблица 2).

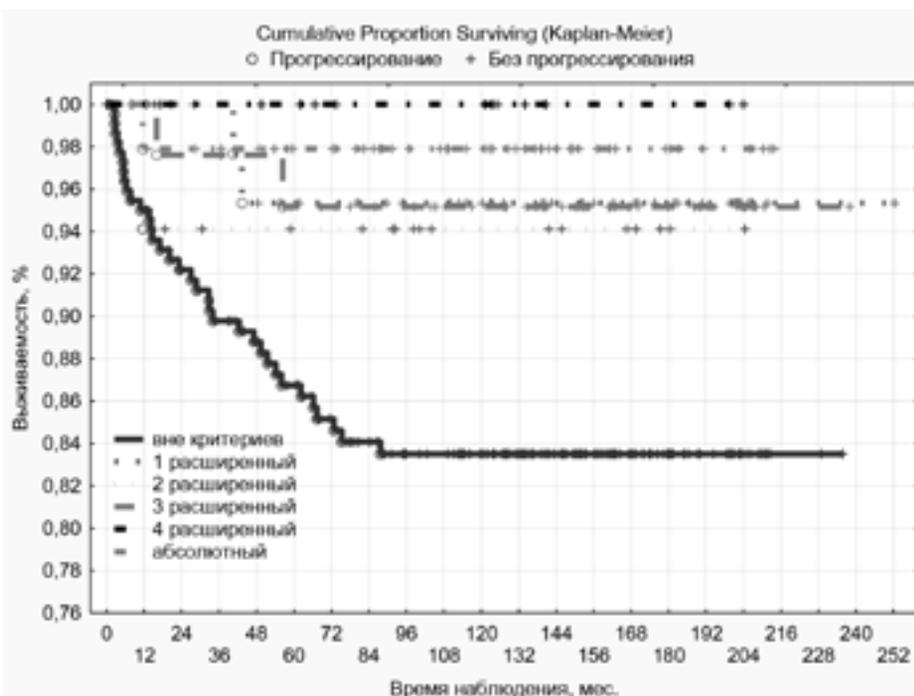


График 1. Опухоль-специфическая выживаемость больных РРЖ в соответствии с критериями ЭР.

Выводы: Риск регионарного метастазирования в общей группе больных РРЖ, опухоль которых удовлетворяет расширенным показателям ЭР, по сравнению с больными, соответствующими абсолютным критериям, незначим (3/125, 2,4% и 0/50, 0% соответственно).

В группе больных РРЖ, соответствующих второму расширенному критерию, при применении абсолютных показаний имеется лишь тенденция к снижению уровня риска ($p=0,062$). Таким образом, в нашем исследовании наличие изъязвления является наихудшим фактором для прогнозирования риска метастазирования.

У 223 пациентов, выживших за рамки расширенных критериев, регионарное метастазирование выявлено у 22,4%, относительное снижение риска - 1,287 (1,200; 1,379), данные достоверны ($p = 0,00001$).

3. Общая и опухоль-специфическая выживаемость больных РРЖ в соответствии с критериями ЭР.

Из 404 пациентов за время наблюдения от разных причин умер 131 (32,4%) больной, от прогрессирования РРЖ – 39 (9,7%) больных. Для 175 больных, соответствующих абсолютным и расширенным критериям, среднее время наблюдения составило $129,6 \pm 55,8$ мес. (от 0,7 до 252,3, медиана - 133,9 мес). Среди 175 пациентов за это время 6 пациентов умерло от прогрессирования РРЖ, 42 пациента умерли от других заболеваний и один пациент – от ранних послеоперационных осложнений.

Все смерти от РРЖ происходили в первые 6 лет наблюдения, уровни выживаемости 10 и 15 летней выживаемости совпадают. Опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость в группе больных РРЖ с абсолютными критериями составила 98%. В течение второго года наблюдения (12,5 мес.) одна больная скончалась на фоне генерализации опухолевого процесса и метастазов Крукенберга. Опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость

в группах больных РРЖ, соответствующих первым трем расширенным критериям составляла в среднем 95%. Основной причиной смерти являлись локорегионарные рецидивы с последующей генерализацией опухолевого процесса. В 6 случаях генерализация началась с отдаленных метастазов. В группе больных, соответствующих 4 расширенному критерию (подслизистая инвазия при опухоли до 3см) - 15 летняя выживаемость составила 100%. Данные приведены графике №1.

С учетом того, что пациент относится к любому из критериев, это улучшает его общую (HR 0,724) и опухоль-специфическую (HR 0,223) выживаемость. Данные приведены в таблице № 3.

Недавно опубликованное исследование Японской клинической Онкологической группы (JCOG0607) является доказательством того, что расширение критериев ЭР является безопасным и эффективным, и утверждением, что ЭР должна стать стандартом лечения РРЖ [3]. В группах пациентов, соответствовавших 1 и 2 расширенным критериям ЭР, не было выявлено рецидива опухоли, а 5-летняя общая выживаемость составила 97,0%. Напротив, по данным JCGA 2010 и 2014 г. расширение показаний к ЭР по-прежнему классифицируются как процедура риска [4].

По данным Abdelfatah M с соавт., (мета-анализ 12 крупнейших исследований, включавших в себя ретроспективное исследование операционного материала 9798 больных РРЖ, перенесших радикальную операцию с расширенной лимфодиссекцией) регионарное метастазирование в общей группе пациентов, соответствовавших расширенным критериям, составило 0,7% (68/9798), абсолютным критериям - 0,2% (6/3025) [13]. В нашем исследовании в общей группе пациентов РРЖ, соответствовавших расширенным критериям, регионарное ме-

тастазирование наблюдалось в 2,4% (3/122) случаев, что несколько выше данных такого крупного исследования. Напротив, в группе, соответствующей абсолютным показаниям в нашем исследовании регионарных метастазов не обнаружено, в то время как по данным Abdelfatah M с соавт., регионарное метастазирование в этой группе больных наблюдалось в 0,2% случаев. Наиболее высокий риск метастазирования в исследовании Abdelfatah M с соавт., наблюдался при соответствии 4 расширенному критерию (инвазия РРЖ в подслизистый слой), (25/972 [2,6%], OR = 6,79 [p = 0,0004]) [p = 0,004]. В нашем исследовании наиболее высокий уровень регионарного метастазирования наблюдался при дифференцированных карциномах слизистой оболочки <2 см с изъязвлением - 11,8% (2/17).

Недавно опубликованное исследование Клинической Онкологической группы (JCOG0607) показывает, что расширение критериев ЭР до карцином дифференцированного типа размером > 2 см и изъязвленных дифференцированных карцином <3 см является безопасным и эффективным, утверждая, что ЭР должна быть стандартом лечения этих пациентов. У больных, карциномы которых соответствовали критериям лечебной резекции, 5-летняя общая выживаемость составила 97,0% [14]. В нашем исследовании 15-летняя опухоль-специфическая выживаемость при соответствии абсолютным показаниям составила 98,0%, при соответствии расширенным (1, 2, 3 показания) – 95,0%, при 4-м расширенном показании – 100,0%. Это подтверждается данными Choi JY с соавт., что в группе 375 больных РРЖ с абсолютным показаниям (медиана наблюдения - 76,4 месяца) 5-летний показатель опухоль-специфической выживаемости составил 100,0% [15]. Ряд мета-анализов со сравнением долгосрочных

результатов ЭР и радикальной хирургической операции РРЖ, в соответствии с абсолютными и расширенными показаниями, также подтверждают полученные нами данные о том, что ЭР РРЖ с учетом расширенных показаний в целом безопасна [16,17,18,].

Заключение

В целом, расширение показаний к ЭР оправдано с минимальным превышением риска по сравнению с абсолютными критериями ЭР. Тем не менее, расширение показаний для дифференцированных карцином ≤3 см с изъязвлением должны быть сбалансированы с учетом послеоперационных осложнений, учитывая повышенный риск регионарного метастазирования у данных пациентов. ■

*Мочальникова Валерия Васильевна, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. **Первоищиков Александр Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник патологоанатомического отделения отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. **Малихова Ольга Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая эндоскопическим отделением ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Автор, ответственный за переписку — Мочальникова В. В. Москва, Каширское шоссе, 24, Mochalnikova Valerijia, Kashirskoe highway, 24. +79166408595, mochalnikova 70@yandex.ru*****

Литература:

1. Nakagawa M, Choi YY, An JY, Chung H, Seo SH, Shin HB. Difficulty of predicting the presence of lymph node metastases in patients with clinical early stage gastric cancer: a case control study. *BMC Cancer*. 2015;15:943.
2. Gotoda T, Yanagisawa A, Sasako M, Ono H, Nakanishi Y, Shimoda T. Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: estimation with a large number of cases at two large centers. *Gastric Cancer*. 2000;3:219-225.
3. Hasuike N, Ono H, Boku N, et al. A non-randomized confirmatory trial of an expanded indication for endoscopic submucosal dissection for intestinal-type gastric cancer (cT1a): the Japan Clinical Oncology Group study (JCOG0607). *Gastric Cancer* 2017.
4. Japanese Gastric Cancer A. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). *Gastric Cancer* 2017;20:1-19.
5. Chung JW, Jung HY, Choi KD, et al. Extended indication of endoscopic resection for mucosal early gastric cancer: analysis of a single center experience. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26:884-7.
6. Kang HJ, Kim DH, Jeon TY, et al. Lymph node metastasis from intestinal-type early gastric cancer: experience in a single institution and reassessment of the extended criteria for endoscopic submucosal dissection. *Gastrointest Endosc* 2010;72:508-15.
7. Choi KK, Bae JM, Kim SM, et al. The risk of lymph node metastases in 3951 surgically resected mucosal gastric cancers: implications for endoscopic resection. *Gastrointest Endosc* 2016;83:896-901.
8. Wang H, Zhang H, Wang C, et al. Expanded endoscopic therapy criteria should be cautiously used in intramucosal gastric cancer. *Chin J Cancer Res* 2016;28:348-54.
9. Kang HJ, Kim DH, Jeon TY, et al. Lymph node metastasis from intestinal-type early gastric cancer: experience in a single institution and reassessment of the extended criteria for endoscopic submucosal dissection. *Gastrointest Endosc* 2010;72:508-15.
10. Ishikawa S, Togashi A, Inoue M, et al. Indications for EMR/ESD in cases of early gastric cancer: relationship

- between histological type, depth of wall invasion, and lymph node metastasis. *Gastric Cancer* 2007;10:35-8.
11. Degiuli M, Calvo F. Survival of early gastric cancer in a specialized European center. Which lymphadenectomy is necessary? *World J Surg* 2006;30:2193-203.
 12. Gotoda T. Endoscopic resection of early gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2007;10:1-11.
 13. Abdelfatah, M. M., Barakat, M., Lee, H., Kim, J. J., Uedo, N., Grimm, I., & Othman, M. O. The incidence of lymph node metastasis in early gastric cancer according to the expanded criteria in comparison with the absolute criteria of the Japanese Gastric Cancer Association: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Gastrointestinal Endoscopy*, 87(2), 338–347. doi:10.1016/j.gie.2017.09.025.
 14. Choi IJ, Lee JH, Kim YI, et al. Long-term outcome comparison of endoscopic resection and surgery in early gastric cancer meeting the absolute indication for endoscopic resection. *Gastrointest Endosc*. 2015;81:333-41 e1.
 15. Park, S. W., Lee, H., Park, C. H., Jang, H. J., & Ahn, H. Endoscopic and oncologic outcomes according to indication criteria of endoscopic resection for early gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *Surgical Endoscopy*, 30(4), 1270–1281. doi:10.1007/s00464-015-4376-6.
 16. André Kondo, Eduardo Guimarães Hourneaux de Moura, Diogo Turiani Hourneaux de Moura, Eduardo Turiani Hourneaux de Moura, José Gonçalves Pereira Bravo, Kendi Yamazaki, Paulo Sakai. Endoscopy vs surgery in the treatment of early gastric cancer: Systematic review. *World J Gastroenterol*. Dec 14, 2015; 21(46): 13177-13187.
 17. Ning, F.-L., Zhang, C.-D., Wang, P., Shao, S., & Dai, D.-Q. (2017). Endoscopic resection versus radical gastrectomy for early gastric cancer in Asia: A meta-analysis. *International Journal of Surgery*, 48, 45–52. doi:10.1016/j.ijssu.2017.09.068.
 18. Sun, W., Han, X., Wu, S., & Yang, C. (2015). Endoscopic Resection Versus Surgical Resection for Early Gastric Cancer. *Medicine*, 94(43), e1649. doi:10.1097/md.0000000000001649.