Cascada diagnóstica consecutiva al rastreo de cáncer colorrectal con sangre oculta en materia fecal: estudio de cohorte retrospectiva

Diagnostic cascade following colorectal cancer screening with fecal occult blood test: retrospective cohort study

VIETTO, Valeria; BELARDINELLI, Silvina**; RUBINSTEIN, Fernando***, TERRASA, Sergio Adrián*****

* Médica de Familia. Servicio de Medicina Familiar y Comunitaria, Hospital Italiano de Buenos Aires.

** Médica Laboral.

*** Médico de Familia. Instituto de Efectividad Clínica y Sanitaria. Escuela de Salud Pública de la Universidad de Buenos Aires.

**** Médico de Familia. Servicio de Medicina Familiar y Comunitaria y Departamento de Investigación, Hospital Italiano de Buenos Aires. Departamento de Salud Pública, Instituto Universitario Hospital Italiano.

Contacto: Méd. Valeria Vietto (valeria.vietto@hospitalitaliano.org.ar).

Fecha recibido: 18/04/2017
Fecha aceptado: 30/04/2017

RESUMEN

Las actuales guías de cuidados preventivos recomiendan el rastreo del cáncer colorrectal (CCR) a través de varias estrategias, entre ellas la pesquisa anual de sangre oculta en materia fecal (SOMF), que de resultar positiva, debe ir seguida de una evaluación completa de la mucosa colónica para identificar lesiones con riesgo de evolucionar hacia la malignidad. Con el objetivo de describir la cascada diagnóstica consecutiva a la realización de SOMF y sus resultados en el contexto de un programa de rastreo de CCR en una población asintomática de riesgo promedio, realizamos un estudio de cohorte retrospectiva basado en datos secundarios obtenidos de historias clínicas electrónicas de 42.770 pacientes de 50 a 75 años de edad, afiliados al Plan de Salud del Hospital Italiano de Buenos Aires, durante 2009.La tasa de rastreo anual con SOMF fue de 13,6% (n=5816). El 25% de estos pacientes presentó SOMF positiva (n=1454), y 53% realizó algún estudio de evaluación colónica (n=775, videocolonoscopía en 96%). Como resultado de esta estrategia de rastreo se diagnosticaron 174 adenomas (41 de ellos de alto riesgo) y 5 casos de CCR. El valor predictivo positivo de la SOMF para lesiones neoplásicas relevantes (adenomas de alto riesgo y CCR) fue de 3%, mientras que para la VCC a continuación de una SOMF positiva, de 6%.

PALABRAS CLAVE: Neoplasias Colorrectales; Cribado; Sangre Oculta.

ABSTRACT

Current preventive care guidelines recommend screening for colorectal cancer (CRC) through a number of strategies, including the annual fecal occult blood test (FOBT), which should be followed by a full assessment of the colonic mucosa in order to identify lesions at risk of developing into malignancy. With the objective of describing the diagnostic cascade following FOBT and its results in the context of a CRC screening program in an asymptomatic population of average risk, we designed a retrospective cohort study based on secondary data obtained from electronic medical records of 42,770 patients, aged between 50 and 75 years, affiliated to the Health Plan of the Hospital Italiano de Buenos Aires during 2009. FOBT screening rate was 13.6% for that period (n=5816). Twenty-five percent of the patients presented positive FOBT results (n=1454), and 53.3% performed some colonic evaluation study (n=775, videocolonoscopy in 96%). As a result of this screening strategy 174 adenomas (41 high risk adenomas), and 5 cases of CRC were diagnosed. Positive predictive values for relevant neoplastic lesions (high risk adenomas and CRC) were 3% and 6% for FOBT and videocolonoscopy after a positive FOBT, respectively.

KEYWORDS: Colorectal Neoplasms; Straining; Occult Blood.

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) es la segunda causa de muerte por cáncer en la Argentina, sólo superada por el cáncer de pulmón (1). El 90% de los casos de CCR ocurren en individuos mayores de 50 años de edad, la mayoría de ellos sin factores de riesgo específicos y sobre la base de lesiones premalignas llamadas adenomas, cuyo tiempo estimado de progresión a cáncer es de 10 a 15 años (2,3). En la actualidad, las tasas de supervivencia en pacientes con CCR están directamente relacionadas con el grado de invasión de las lesiones y es del 90% a cinco años para las formas localizadas (4).

Existe evidencia que avala la eficacia y la efectividad (5,6) del rastreo del CCR, lo que contribuye a que exista consenso en recomendar su realización en los adultos asintomáticos de 50 a 75 años de edad con riesgo promedio de desarrollar esta enfermedad (es decir, sin antecedentes personales o familiares que impliquen un riesgo aumentado de CCR en relación a la población general) (6-8).

Entre las estrategias para realizar rastreo de CCR avaladas por la evidencia se encuentran la pesquisa anual de sangre oculta en la materia fecal (SOMF), la realización de una rectosigmoideoscopía (RSC) cada cinco años combinada con SOMF por método inmunológico anual, o bien, una videocolonoscopía (VCC) cada diez años (7,8).

La prueba de detección de SOMF es una estrategia de pesquisa no invasiva, de baja complejidad, cuyo resultado positivo debe ir seguido de una evaluación completa de la mucosa colónica. La VCC es el método ideal en ese caso, dado que permite el diagnóstico y la resección de lesiones con riesgo de evolucionar hacia la malignidad (5), y según datos recientes, termina realizándose en el 23% de las personas sometidas durante diez años a rastreo con SOMF (9).

La probabilidad de hallar un CCR en etapas tempranas luego de un resultado positivo de la SOMF oscila entre el 1,9 (9) y el 7% (10,11). Sin embargo, aún los en los ensayos clínicos controlados que comunicaron su eficacia (12), la adherencia completa a la realización de SOMF osciló entre el 38 y el 46%; y la evaluación completa de la mucosa colónica luego de un resultado positivo de la SOMF, entre el 75 (9) y el 85% (10,13). Como era de suponer, estudios pragmáticos realizados en países desarrollados afirman que la proporción de pacientes que luego de un resultado positivo de SOMF realiza una evaluación completa de su mucosa colónica es de 34 a 56% (14-16), sensiblemente inferior a la comunicada en los estudios experimentales.

Llamativamente, las experiencias en nuestra región arrojaron datos más optimistas; con tasas de adherencia a una única invitación para realizar prueba de SOMF inmunológica variable entre el 85 (17) y el 90% (18), y de realización de VCC luego de un resultado positivo, del 75 (18) al 78% (17).

Sin embargo, no hemos hallado reportes locales que hayan evaluado los procesos y los resultados de programas de rastreo del CCR, por lo que decidimos desarrollar esta investigación.

OBJETIVOS

Describir la cascada diagnóstica consecutiva a la realización de la detección de SOMF, la proporción de pacientes con SOMF positiva que recibieron una evaluación completa de la mucosa colónica y el tiempo medio a su realización, y la probabilidad de ocurrencia de los diferentes posibles resultados, en el contexto de un programa de rastreo de CCR en una población asintomática de riesgo promedio afiliada a un Hospital Universitario de Buenos Aires, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una cohorte retrospectiva. La población de referencia incluyó a los individuos de 50 a 75 años de edad afiliados al seguro de salud del Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA), un Hospital Universitario que atiende a una población predominantemente urbana y de clase media que vive en el Área Metropolitana de Buenos Aires. Se comporta como una población semi-cerrada, (el HIBA es su único prestador) pasible de un seguimiento longitudinal privilegiado, lo que se ve facilitado por la disponibilidad de una historia clínica electrónica (HCE)1.

Criterios de elegibilidad. Fueron incluidos todos los afiliados de 50 a 75 años de edad que hubiesen realizado al menos una determinación de SOMF entre el 1 de enero y el 31 de diciembre de 2009. La identificación de los sujetos elegibles se realizó a través de una base de datos secundarios provista por el Departamento de Informática Médica del HIBA, a partir del registro del informe de la prueba de SOMF generado por el laboratorio.

Una segunda base de datos secundarios permitió identificar a aquellos sujetos que, con fecha posterior a la determinación de SOMF y hasta 12 meses después de la misma, hubiesen realizado algún estudio de evaluación de la mucosa colónica (VCC, RSC, radiografía de colon por enema y/o colonoscopía virtual por tomografía computada). La revisión manual de las HCE permitió acceder al informe de los resultados de los procedimientos diagnósticos mencionados, incluyendo los de la anatomía patológica en caso de que se hubiera efectuado una toma de biopsia.

De los pacientes que llegaron a realizar la VCC, fueron excluidos del análisis quienes al momento de la realización de la prueba SOMF tenían el registro en la HCE de antecedentes personales o familiares que implicaran un riesgo de desarrollar CCR superior a la media poblacional y aquellos con síntomas compatibles con alguna lesión neoplásica documentada durante los seis meses previos. Estos datos fueron relevados del listado de problemas de la HCE. Dado que en estos sujetos existe consenso en realizar una evaluación completa de la mucosa colónica, se consideró que la indicación de SOMF era inapropiada (ver cuadro 1) o por lo menos no realizada en el contexto de rastreo de CCR.

Cuadro 1. Situaciones clínicas que ameritan una evaluación colónica completa.

Antecedentes familiares de primer grado de tumor maligno del colon
- Antecedentes personales
- Tumor maligno del colon o adenoma del colon
- Enfermedad inflamatoria intestinal (incluye colitis ulcerosa idiopática y enfermedad de Crohn)
- Poliposis adenomatosa familiar y síndrome de Lynch

Síntomas documentados durante los seis meses previos a la determinación de sangre oculta en la materia fecal
- Hemorragia digestiva
- Alteración del ritmo evacuatorio
- Pérdida de peso no intencional
- Problemas locales (hemorroides, fisura anal)
- Anemia

Para describir la cascada diagnóstica consecutiva a la pesquisa de CCR con SOMF fue descripta: la proporción de pacientes que realizaron una evaluación colónica completa durante los 12 meses posteriores a un resultado positivo de la prueba de SOMF, la proporción de sujetos que fueron biopsiados durante esta evaluación de la mucosa colónica y las distribuciones de frecuencias de los diagnósticos macroscópicos e histológicos. Teniendo en cuenta el registro de los pacientes empadronados al principio del periodo (enero de 2009), fue calculada la proporción de sujetos que realizaron al menos una determinación de SOMF, la incidencia acumulada de casos de CCR diagnosticados a partir de la pesquisa con SOMF durante 2009 y el valor predictivo positivo de esta estrategia de pesquisa para las lesiones clínicamente relevantes (adenomas de alto riesgo, CCR temprano y carcinoma avanzado)2.

Análisis estadístico. El análisis estadístico se realizó con el programa Stata 8.0. Se empleó la estadística descriptiva correspondiente para las variables continuas según su distribución. Las variables continuas de distribución normal se compararon con la prueba de t para muestras independientes, mientras que para las variables categóricas se utilizó la prueba de chi-cuadrado.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Protocolos de Investigación del Hospital Italiano de Buenos Aires y financiado por el Servicio de Medicina Familiar del Hospital Italiano de Buenos Aires.

RESULTADOS

De un total de 42.770 afiliados al seguro de salud del HIBA con edad comprendida entre 50 y 75 años, 5.818 individuos (13,6%) realizaron al menos una determinación de SOMF durante 2009. La edad promedio de los sujetos tamizados a través de esta estrategia fue 63,2 años (DS=6,59). El 63,2% fue de sexo femenino (n=3.676). En 24,8% de las determinaciones (n=1.441) se observó al menos un resultado positivo. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el resultado de acuerdo al sexo ni a la edad de los afiliados.

La proporción de sujetos que se sometieron a algún estudio de evaluación de la mucosa colónica como resultado de una prueba de SOMF positiva fue 53,2% (767/1441)3. En la mayoría de los casos el estudio elegido para evaluar la mucosa colónica luego de un resultado de SOMF positivo fue la videocolonoscopía (96,0%), con un tiempo promedio transcurrido entre ambas pruebas de 120 días (DS=67). La distribución de frecuencias de los diagnósticos macroscópicos se resume en la Tabla 1. Solo el 4,0% de los sujetos optaron por realizar otro tipo de estudios, como la colonoscopía virtual o el colon por enema.

Tabla 1. Diagnósticos macroscópicos de los estudios de la mucosa colónica realizados a continuación de un resultado positivo de la prueba de SOMF (n=767).

	Frecuencia (%)
Normal	277 (36,1%)
Divertículos	142 (18,5%)
Lesiones vasculares	33 (4,3%)
Colitis	7 (0,9%)
Pólipo	292 (38,1%)
Lesión infiltrante	1 (0,1%)
Lesión vegetante	2 (0,3%)
Otras lesiones de aspecto no neoplásico	4 (0,5%)
Sin informe de anatomía patológica	9 (1,2%)

De los 767 individuos que realizaron algún estudio de la mucosa colónica fueron biopsiados el 32,7% (297/767). La distribución de frecuencias de los diagnósticos histopatológicos se resume en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Diagnósticos histopatológicos de los pacientes que recibieron biopsia durante la colonoscopía realizada luego de una prueba de SOMF positiva (n=297).

	Frecuencia (%)
Lesiones neoplásicas	179 (60,3%)
Lesiones no neoplásicas[a]	81 (27,3%)
Mucosa colónica normal	34 (11,4%)
Sin informe de anatomía patológica	3 (1%)

[a]De los 81 pacientes con lesiones no neoplásicas, en 68 (84%) fueron identificados pólipos hiperplásicos, en 11 (13,5%) colítis inespecífica y en 2 (2,5%), pólipos inflamatorios.

Tabla 3. Distribución de frecuencias de las lesiones neoplásicas detectadas en los pacientes que recibieron biopsia durante la colonoscopía (n=179).

	Número de pacientes con el diagnóstico (%)
Adenoma de bajo riesgo	133 (74,3%)
Adenoma de alto riesgo	41 (22,9%)
Carcinoma temprano	3 (1,7%)
Carcinoma avanzado	2 (1,1%)

Las incidencias acumuladas de todas las lesiones neoplásicas (adenomas y CCR) y de lesiones clínicamente relevantes (adenomas de alto riesgo y CCR) detectadas a partir del rastreo de CCR con la estrategia de detección de SOMF en el periodo evaluado fue de 4 por mil y 1 por mil, respectivamente, con un valor predictivo positivo de 12,4% y 3,2% en cada caso. Si consideramos solamente a los sujetos con SOMF positiva que adhirieron a la evaluación colónica con VCC, el valor predictivo positivo se eleva a 23,3% y 6,0%, respectivamente.

DISCUSIÓN

El 24,8% de los pacientes que realizaron SOMF durante 2009, tuvo al menos un resultado positivo. Un dato preocupante es que sólo el 53,2% realizó una evaluación completa de la mucosa colónica dentro de los 12 meses siguientes a la prueba positiva (de estos últimos, el 32,7% fue biopsiado). El valor predictivo positivo de la SOMF fue de 12% para la detección de lesiones neoplásicas y de 3% para lesiones clínicamente significativas como los adenomas de alto riesgo y el CCR.

Si bien existen pocos reportes de experiencias de rastreo de CCR en Latinoamérica, la tasa de positividad de SOMF (24,8%) que hemos documentado en nuestra población fue mayor que la informada por un estudio piloto de 332 pacientes de riesgo promedio (5,4%) (18) y la de otro de base poblacional (11%) realizado en Uruguay sobre la base de una muestra de 10.573 individuos (17). Parte de estas diferencias

pueden explicarse por el tipo de técnica utilizada en las determinaciones de SOMF ya que la prueba de guayaco utilizada por el laboratorio de HIBA tiene una mayor sensibilidad y una menor especificidad que la prueba inmunológica que había sido empleada en los estudios mencionados.

Si comparamos las tasas de incidencia de adenomas de alto riesgo y CCR con las reportadas por los investigadores uruguayos (11,2% y 8,6%, respectivamente) (17), observamos que la incidencia de este tipo lesiones fue sensiblemente menor en nuestro estudio. Varios factores podrían explicar estas discrepancias: la mayor tasa de estudio de la mucosa colónica obtenidas en el estudio poblacional luego de un resultado positivo (75,1% vs 53,2%) (17), la inclusión en el estudio uruguayo de pacientes con antecedentes familiares de neoplasia colónica (17), y otras posibles diferencias en la población sujeta a rastreo con SOMF en nuestro medio, en el que se viene implementando un programa de calidad de atención médica desde 2005, que viene informado tasas anuales de rastreo crecientes (desde 9% en 2005 hasta 29% en 2007, incluyendo SOMF y VCC) (19).

Sin embargo, los estudios prospectivos clásicos de cribado de CCR con SOMF por el método de guayaco, arrojaron tasas de positividad sensiblemente menores (entre el 1 y el 2,4%), y valores predictivos positivos mayores a los observados en nuestro estudio (entre el 22 y el 58% para adenoma y CCR) (10,11,13,20), diferencias que pueden ser atribuibles a las tecnologías empleadas en el procesamiento de las muestras, pero que pone en duda si las características operativas de la prueba empleada en nuestra institución son equiparables a las descritas en la bibliografía. Considerando la limitada capacidad de los sistemas de salud para afrontar la demanda de estudios complementarios invasivos, no exentos de riesgos para los pacientes como la VCC, puede ser cuestionable si el método de detección de SOMF actualmente utilizado en nuestro medio es lo suficientemente eficiente en comparación con el método inmunológico como para justificar la continuidad de su uso como estrategia de rastreo del CCR.

Por otro lado, cabe reflexionar si la estratificación de riesgo de la población general basada sólo en la edad mayor de 50 años para la indicación del cribado de CCR es uno de los factores que podrían condicionar el bajo rendimiento observado de la prueba de SOMF para la detección de lesiones clínicamente relevantes. Se ha documentado que modelos de estratificación de riesgo de CCR que incluyen factores ambientales, antecedentes hereditarios de CCR y susceptibilidad genética podrían facilitar la adopción de diferentes estrategias de rastreo en relación a las edades de inicio y discontinuación, así como el tipo de prueba recomendada y su periodicidad, de acuerdo al riesgo individual de desarrollar este tipo de lesiones (21,22).

CONCLUSIÓN

Este es el primer estudio que describe la tasa de rastreo de CCR a través de la estrategia de SOMF, la cascada diagnóstica subsecuente (con la probabilidad de ocurrencia de los principales procedimientos y hallazgos diagnósticos relevantes), y el valor predictivo positivo de dicha prueba en adultos atendidos en un Hospital académico del Área Metropolitana de Buenos Aires. Consideramos que esta información será valiosa para ser compartida con los pacientes a la hora de informarles las diferentes alternativas de cribado de CCR.

NOTAS FINALES

[1]En esta institución se desarrolla desde 2005 un programa de mejora de la calidad de atención de los médicos de atención primaria (quienes brindan cuidados longitudinales a su población a cargo), que incluye entre sus indicadores a la tasa de rastreo de CCR a través de SOMF y/o colonoscopía.
[2]Fueron considerados adenomas de bajo riesgo las lesiones tubulares de menos de 10 mm de diámetro con displasia de bajo grado; y adenomas de alto riesgo, las lesiones mayores o iguales de 10 mm de diámetro con componente velloso o alto grado de displasia. Fueron considerados carcinoma CCR tempranos las lesiones cuyo informe histopatológico mencionara un carcinoma sin compromiso de la capa muscular de la mucosa (carcinoma in-situ), y carcinoma CCR avanzado, las lesiones mayor severidad de compromiso tisular.
[3]Con el objetivo de no sobre estimar la incidencia de hallazgos colorectales, fueron excluidos del análisis los 45 pacientes (3,1%) en quienes se constató la presencia de antecedentes que, en el momento de realizar la SOMF, les conferían un riesgo de CCR mayor que el promedio y en quienes se asumió que la pesquisa con SOMF no debía haber sido la estrategia de rastreo recomendada.

REFERENCIAS

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. [citado el 09 febrero 2017] Disponible en: http://globocan.iarc.fr
2. Stryker SJ, Wolff BG, Culp CE, et al. Natural history of untreated colonic polyps. Gastroenterology. 1987 Nov;93(5):1009-1013.
3. Neri E, Faggioni L, Cini L, et al. Colonic polyps: inheritance, susceptibility, risk evaluation, and diagnostic management. Cancer Manag Res 2011. 3:17-24.
4. Cancer of the Colon and Rectum - SEER Stat Fact Sheets [Internet]. [citado el 09 febrero 2017]

Disponible en: http://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html
5. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, et al. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. N. Engl. J. Med. 1993 Dic 30;329(27):1977-1981.
6. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. Gastroenterology. 2008 May;134(5):1570-1595.
7. US Preventive Services Task Force, Bibbins-Domingo K, Grossman DC, et al. Screening for colorectal cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. JAMA. 2016 Jun 21;315(23):2564-75
8. Lin JS, Piper MA, Perdue LA, et al. Screening for Colorectal Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. JAMA. 2016 Jun 21;315(23):2576-94.
9. Hubbard RA, Johnson E, Hsia R, et al. The cumulative risk of false-positive fecal occult blood test after 10 years of colorectal cancer screening. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2013;22(9):1612-9.
10. Kronborg O, Fenger C, Olsen J, et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal occult blood test. Lancet 1996;348(9040):1467-71.
11. Hardcastle J, Chamberlain, Robinson M, et al. Randomised controled trial of faecal occult blood screening for colorectal cancer. Lancet 1996;348(9040):1472-7.
12. Ransohoff D, Lang C. Screening for Colorectal Cancer with the Fecal Occult Blood Test: A background paper. Ann Intern Med 1997;126:811:822
13. Mandel J, Bond J, Church T, et al. Reducing mortality from clorectal cancer by screening for faecal occult blood. Minnesota Colon Cancer Control Study. N Engl J Med. 1993;328:1365-1371
14. Lurie J, Welch G. Diagnostic Testing Following Fecal Occult Blood Screening in the Elderly. JNCI J Natl Cancer Inst (1999) 91(19): 1641-1646.doi: 10.1093/jnci/91.19.1641
15. Kistler C. Long-term Outcomes Following Positive Fecal Occult Blood Test Results in Older Adults. Arch Intern Med. 2011;171(15):1344-1351.
16. Carlson S. Lack of Follow-up after Fecal Occult Blood Testing in Older Adults: Inappropriate Screening or Failure to Follow-up? Arch Intern Med. 2011;171(15):1344-1351.
17. Fernández JL, Gallegos M, Brochero A, et al. [Screening for colorectal cancer with an immunological fecal occult blood test]. Acta Gastroenterol. Latinoam. 1999;29(2):73-78.
18. Fenocchi E, Martínez L, Tolve J, et al. Screening for colorectal cancer in Uruguay with an immunochemical faecal occult blood test. Eur. J. Cancer Prev. 2006 Oct;15(5):384-390.
19. Rubinstein A, Rubinstein F, Botargues M, et al. A multimodal strategy based on pay-per-performance to improve quality of care of family practitioners in Argentina. J Ambul Care Manage. 2009 Jun;32(2):103-114.
20. Winawer SJ, Flehinger BJ, Schottenfeld D, et al. Screening for colorectal cancer with fecal occult blood testing and sigmoidoscopy. J Natl Cancer Inst. 1993 Aug 18;85(16):1311-8.
21. Usher-Smith JA, Walter FM, Emery JD, et al. Risk Prediction Models for Colorectal Cancer: A Systematic Review. Cancer Prev Res (Phila). 2016 Jan;9(1):13-26. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-15-0274. Epub 2015 Oct 13.
22. Ibáñez-Sanz G, Díez-Villanueva A, Alonso MH, et al. Risk Model for Colorectal Cancer in Spanish Population Using Environmental and Genetic Factors: Results from the MCC-Spain study. Sci Rep. 2017 Feb 24;7:43263. doi: 10.1038/srep43263.