

Costruzione dell'evidenza scientifica nei siti contaminati

Liliana Cori, Francesca Gorini

In Italia, come in molti altri Paesi sviluppati, esistono alcune aree con elevati livelli di inquinamento di fondo, come è il caso dei siti di interesse per le bonifiche, nazionali (SIN). Conoscere lo stato di salute in queste aree richiede un sistema complesso di osservazione, diversificato per caratteristiche di esposizione della popolazione, e in grado di rilevare molti altri determinanti di salute e fattori di rischio

Gli studi nelle aree ad alto rischio ambientale sono aumentati negli ultimi anni in Italia, e stanno producendo conoscenze di buona qualità, che entrano nel dibattito pubblico quando ci sono amministratori pubblici e comunità attivi e impegnati nel contribuire al miglioramento del proprio territorio.

Il quesito sempre attuale, che non smette di appassionare e di far discutere, è come valutare i risultati conseguiti dagli studi clinici e epidemiologici. Così come è – giustamente – oggetto di discussione, anche accesa, quale peso dare e come valutare la qualità degli studi sperimentali, soprattutto per rispondere alle critiche legate all'incertezza.

È evidente che i ricercatori devono produrre studi di alta qualità, ma la richiesta di ottenere risultati non affetti da incertezza richiede un ampio spazio di approfondimento. Il tema è rilevante sul piano metodologico ma ha anche forti implicazioni pratiche, soprattutto per valutare la portata dei risultati ai fini delle decisioni.

La medicina basata sulle evidenze opera un processo sistematico di revisione, valutazione e utilizzo dei risultati della ricerca clinica che contribuisce a somministrare cure cliniche ottimali ai pazienti. I livelli di evidenza delle ricerche vengono classificati su una piramide, dove le revisioni sistematiche e le meta-analisi sono considerate al livello più alto, che sovrasta il blocco che include i trial clinici randomizzati, gli studi di coorte e gli studi caso-controllo; i *case-series* o *case-report* sono alla base della piramide¹ (Figura 1). In realtà le meta-analisi, collocate al livello più elevato, possono essere caratterizzate da eterogeneità (clinica, metodologica o statistica), che può essere

minimizzata o spiegata ma non del tutto eliminata². Anche gli stessi trial randomizzati, se ben condotti, possono fornire la migliore evidenza causale per l'efficacia di un trattamento, ma per aderire ai requisiti etici non devono esporre persone ad agenti sospettati di causare danni alla salute. Di conseguenza, la quasi totalità dei risultati epidemiologici provengono da studi osservazionali, siano essi descrittivi (ecologici, rapporti di casistica o di serie di casi) o *analitici*, definiti anche eziologici (di coorte, caso-controllo, trasversali, misti)³.

Se si considera che l'esposizione della popolazione a molti inquinanti ambientali è ubiquitaria, e che molte sostanze sono persistenti, bioaccumulano e provocano danni spesso irreversibili, emerge l'urgenza di abbreviare i tempi di trasferimento delle conoscenze scientifiche in azioni di prevenzione dei danni per ambiente e salute, riferiti sia ai pericoli riconosciuti che ai rischi stimati. Anche per il sistema normativo finalizzato alla protezione ambientale e sanitaria si pone il problema di applicare le evidenze scientifiche consolidate in tempi più rapidi possibili. Nella valutazione dei benefici sociali delle azioni di prevenzione, oltre ai costi in termini di salute persa o anticipazione del decesso, non dovrebbe essere trascurato l'impatto positivo diretto generato dalla riduzione dei costi sanitari.

In Italia, come in molti altri Paesi sviluppati, esistono alcune aree con elevati livelli di inquinamento di fondo, come è il caso della Pianura Padana e di ampie aree urbane, e molte aree contaminate più circoscritte, talvolta anche di grandi dimensioni, come è il caso dei siti di interesse per le bonifiche, nazionali (SIN) e regionali (SIR), senza dimenticare le

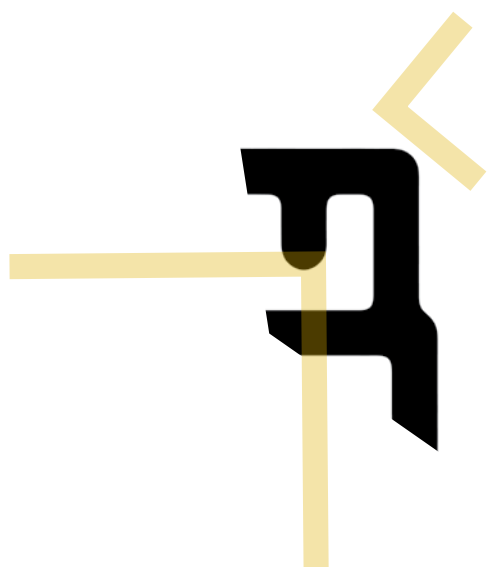




Figura 1 - La piramide tradizionale (modificato da Murad et al¹)

molte fonti inquinanti puntuali⁴. Conoscere lo stato di salute in queste aree richiede un sistema complesso di osservazione, diversificato per caratteristiche di esposizione della popolazione (tipo di inquinanti, dimensione della popolazione coinvolta, vie di assunzione, tempi e altro ancora), e in grado di rilevare molti altri determinanti di salute e fattori di rischio. Le attività osservazionali possono essere suddivise in studi conoscitivi (con disegno di tipo diverso), programmi di sorveglianza e valutazioni predittive (stime preventive di impatto atte a valutare scenari controfattuali). In riferimento ai siti contaminati, il Progetto SENTIERI (Studio Epidemiologico Nazionale dei Territori e degli Insediamenti Esposti a Rischio da Inquinamento), finanziato dal Ministero della Salute e coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità, è stata la prima trattazione sistematica in Italia della mortalità per causa nelle popolazioni residenti in 44 dei 57 SIN⁵. Elemento caratterizzante del Progetto SENTIERI è stata la valutazione a priori dell'evidenza epidemiologica dell'associazione

tra cause di morte ed esposizioni ambientali nei SIN (alla metodologia è stato dedicato un Supplemento di *Epidemiologia & Prevenzione*⁶). I diversi SIN sono stati classificati considerando la tipologia delle fonti inquinanti: contenenti amianto e altre fibre minerali; localizzati vicino ad aree industriali, attive o dismesse; in prossimità di miniere e/o cave; aree portuali; inceneritori o siti di discarica con rifiuti industriali o pericolosi. SENTIERI ha considerato per ciascun tipo di SIN le cause di morte, ricovero, incidenza tumori e malformazioni congenite per le quali, sulla base della letteratura scientifica, si è potuta ritenere plausibile un'associazione tra le esposizioni ambientali e gli esiti avversi di salute^{7,8}.

La valutazione delle evidenze in SENTIERI è stata fatta analizzando le fonti bibliografiche epidemiologiche dopo aver definito una gradazione che, partendo dall'esistenza di fonti primarie e meta-analisi quantitative, scende fino all'esistenza di studi discordanti o di un solo studio. È stata inoltre considerata la coerenza tra le fonti, al fine di stimare la forza delle

Tabella 1 - Valutazione dell'evidenza epidemiologica relativa all'associazione tra causa di decesso ed esposizione in SENTIERI (modificato da ⁶)

| | |
|--|--|
| SUFFICIENTE sufficiente per inferire la presenza di un'associazione causale | <ul style="list-style-type: none"> > una o più fonti primarie esprimono la valutazione di sufficiente o fornisce dati per tale valutazione > meta-analisi quantitative forniscono dati per la valutazione di sufficienza |
| LIMITATA limitata ma non sufficiente per inferire la presenza di un'associazione causale | <ul style="list-style-type: none"> > una o più fonti primarie/meta-analisi quantitative/revisioni/studi multicentrici riportano l'esistenza di un'associazione ma non esprimono la valutazione di sufficiente ma non forniscono dati per tale valutazione |
| INADEGUATA inadeguata per inferire | <ul style="list-style-type: none"> > più fonti primarie esaminano l'associazione ma non sono concordi nell'esprimere una valutazione > meta-analisi quantitative/revisioni/studi multicentrici/due o più studi esaminano l'associazione ma non sono concordi nell'esprimere una valutazione > fonti primarie/meta-analisi quantitative/revisioni/studi multicentrici/due o più studi esaminano l'associazione ma nessuno ne riporta l'esistenza > sono più disponibili più studi che non sono concordi nell'esprimere una valutazione > è disponibile solo uno studio che esamina l'associazione |

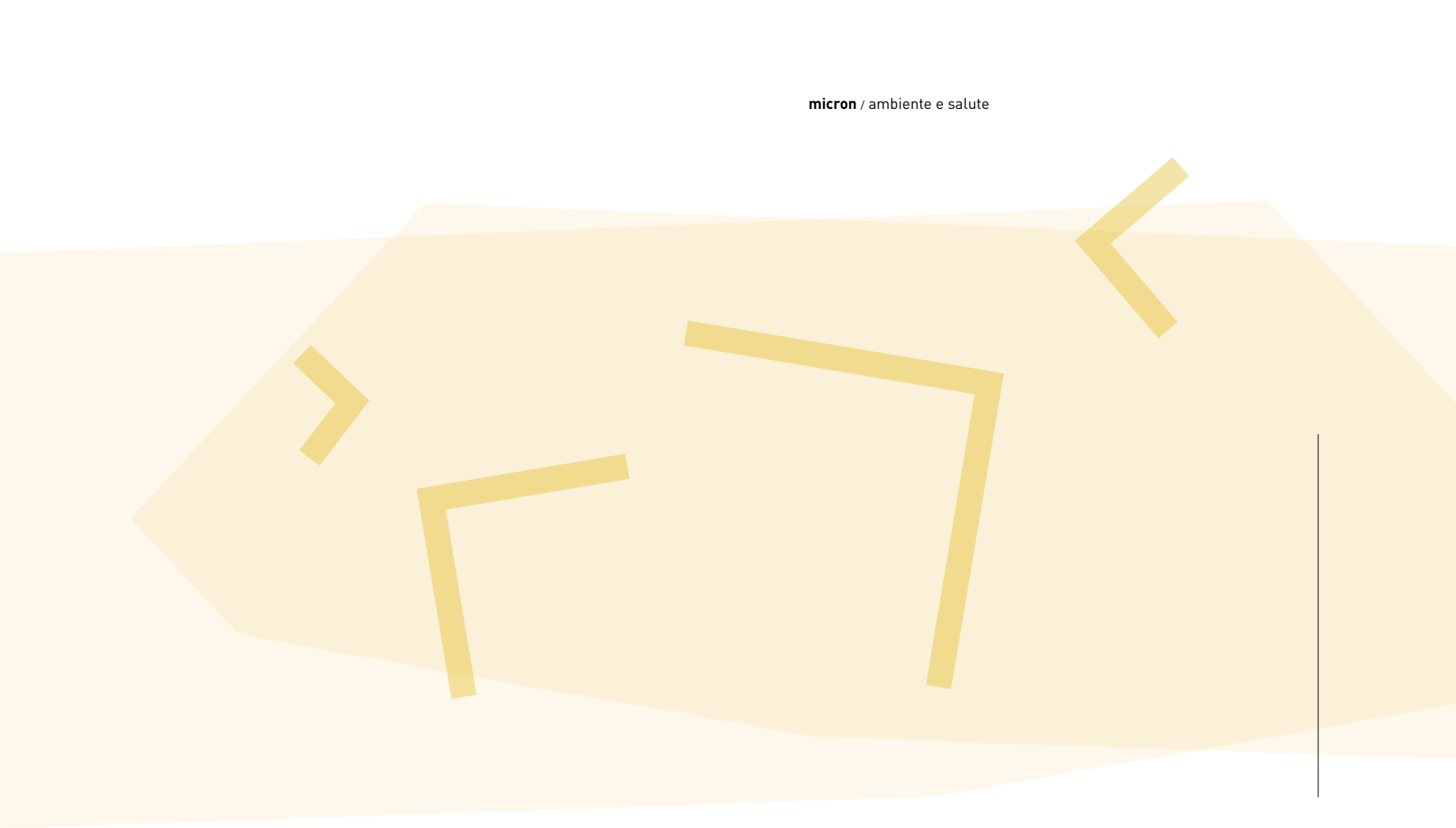
associazioni considerate. L'evidenza epidemiologica relativa all'associazione tra esito ed esposizione è stata classificata in tre categorie: sufficiente, limitata e inadeguata (tabella 1)⁶. Con lo stesso metodo sono state valutate le conoscenze disponibili sui principali fattori individuali di potenziale confondimento (fumo di tabacco attivo e passivo, assunzione di alcol, esposizioni professionali, stato socioeconomico, inquinamento atmosferico), per qualificare le valu-

Fino alla fine degli anni '90 la valutazione delle evidenze epidemiologiche era basata su meta-analisi e rassegne

razioni delle evidenze a priori tra fattori ambientali tipici dei SIN e principali cause di morte/malattia⁷. Nonostante il valore della definizione a priori delle evidenze disponibili sull'associazione tra tipo di inquinanti presenti nel SIN e patologie correlate, che consente analisi specifiche e appropriate, il disegno di SENTIERI non riesce a superare il limite intrin-

seco degli studi ecologici, che sono condotti su dati aggregati, sia di esposizione che di malattie. Infatti, lo studio ecologico si basa sull'osservazione di fenomeni in una popolazione di un'area considerata come esposta nel suo complesso (un intero comune), posta a confronto con un'area di riferimento (nel caso di SENTIERI la regione in cui si trova il SIN), senza conoscere le informazioni individuali.

Altri approcci valutativi hanno obiettivi e metodologie diversificate. Il più consolidato è senz'altro quello della *International Agency for Research on Cancer*, IARC⁹, che esamina la qualità e la forza di singoli studi, sia sperimentali che epidemiologici, formulando alla fine una valutazione suddivisa in gradi sulla base dell'evidenza di cancerogenicità sull'uomo di sostanze e agenti chimici, che sono pertanto classificati in: probabilmente non cancerogeni (gruppo 4, con prove che suggeriscono l'assenza di cancerogenicità sia nell'uomo sia negli animali da esperimento); non classificabili (gruppo 3, con evidenze inadeguate nell'uomo e inadeguate o limitate nell'animale); possibili cancerogeni (gruppo 2B,



con evidenze meno che sufficienti/sufficienti negli animali e limitate/inadeguate per l'uomo); probabili cancerogeni (gruppo 2A, con evidenze sufficienti negli animali, limitate nell'uomo); cancerogeni per l'uomo (gruppo 1, con evidenze certe da studi epidemiologici sull'uomo e confermate da studi sperimentali su animali). Più recentemente, il gruppo di lavoro GRADE (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*) ha sviluppato un sistema che valuta la qualità dell'evidenza e la forza delle raccomandazioni che ne derivano¹⁰. Attualmente, le evidenze sulla forza di associazione tra esposizioni ed esiti di malattia all'interno dei SIN derivano principalmente da studi descrittivi, i quali, pur non indagando le cause degli eventi, possono fornire indicazioni in termini di sanità pubblica ed essere propedeutici a studi eziologici, in grado cioè di valutare associazioni pre-definite tra cause ed effetti. La valutazione della qualità degli studi è un'attività fondamentale sia per assegnare giudizi alle evidenze disponibili attraverso meta-analisi e rassegne sistematiche sia per costituire la base informativa per la

realizzazione di studi ecologici evoluti, come abbiamo visto nel caso di SENTIERI, ed identificare ipotesi salde da valutare negli studi eziologici. In particolare, la presenza di errori sistematici, che inficiano la validità interna di uno studio, possono influire o persino compromettere la credibilità dell'associazione riportata (o la mancanza di associazione) tra esposizione ed esiti considerati. Per la crescita di evidenze sulle cause di malattia è importante sottolineare che negli anni recenti, in alcuni SIN, SIR, e altri siti rilevanti, sono stati portati a termine numerosi studi con disegno di coorte residenziale, che hanno fornito contributi notevoli alle conoscenze sulle associazioni causa-effetto. Si tratta di studi di tipo multisorgente, come Monitor e ERAS, sia in siti singoli come Taranto, Brindisi, Val d'Agri, Vado Ligure, San Zenò, Busto Arsizio.

Se fino alla fine degli anni '90 la valutazione delle evidenze epidemiologiche era basata prevalentemente su meta-analisi e rassegne bibliografiche sempre più sistematiche, dagli inizi del nuovo millennio sono stati introdotti nuovi sistemi più complessi di va-

lutazione. Il GRADE, nato nei primi anni 2000, è diventato lo strumento di riferimento di più di 100 organizzazioni in 19 Paesi in tutto il mondo per la valutazione dell'affidabilità delle prove scientifiche e per la formulazione di raccomandazioni cliniche basate sulle evidenze¹. In Italia, presso il Dipartimento di Epidemiologia – ASL Roma1 della Regione Lazio, è stato recentemente inaugurato il primo centro GRADE per la produzione di linee guida e raccomandazioni cliniche. Il metodo GRADE non è basato solo sulla valutazione del tipo di disegno di studio – i trial randomizzati partono con una valutazione più alta, gli studi osservazionali con una valutazione più bassa – ma anche su altri criteri che sono indipendenti dal disegno di studio, ma influiscono sulla qualità dell'evidenza che ne deriva:

- il rischio di bias (validità interna) di uno studio;
- l'eterogeneità o variabilità dei risultati (*inconsistency*) tra studi;
- la non diretta trasferibilità dei risultati alla questione di interesse (*indirectness*);
- l'imprecisione (*imprecision*) attribuibile alla bassa numerosità del campione e alla scarsa quantità di eventi misurati;
- il bias da pubblicazione (*publication bias*), ossia la mancanza di studi nell'insieme delle evidenze disponibili, che determina una sottostima o una sovrastima dei veri effetti da esposizione.


Vi sono anche criteri che, nell'ambito degli studi osservazionali, possono determinare un aumento del punteggio:

- la misura di un effetto molto grande;
- la presenza di un gradiente dose-risposta tra esposizione ed esito;
- la presenza di confondenti che possono aver mitigato l'effetto o sono responsabili di un effetto spurio quando i risultati non mostrano alcun effetto¹¹.

Il GRADE valuta pertanto non solo la qualità interna dei singoli studi, ma il complesso delle evidenze per ciascuna misura di esito considerata, sulla base di quattro livelli: alto, moderato, basso e molto basso¹². Secondo il metodo GRADE, la piramide sulla qualità dell'evidenza può essere quindi modificata



Figura 2 - La piramide tradizionale (modificato da Murad et al¹)



separando i livelli corrispondenti ai diversi disegni di studio tracciando linee che non sono dritte ma ondulate, tenendo conto del rating attribuito agli studi per ciascuno dei fattori di valutazione, come si osserva in figura 2¹. In altre parole, ci possono essere studi di fascia “bassa” che acquisiscono un punteggio più alto di uno studio caso-controllo, oppure uno studio caso-controllo accreditato che assume un punteggio più elevato di uno studio di coorte. Un’ulteriore variante è rappresentata dall’approccio suggerito dal *Journal of the American Medical Association*, centrato inizialmente sulle revisioni sistematiche attraverso la ricerca esauriente delle fonti bibliografiche ed un processo rigoroso di selezione degli studi, e successivamente sulla valutazione dell’evidenza basata sul metodo GRADE. Pertanto, una modifica ulteriore alla piramide consiste nel rimuovere le revisioni sistematiche e meta-analisi dal livello più elevato ed utilizzarle come lente di lettura attraverso cui valutare i singoli studi¹³.

La qualità dell’evidenza guida la forza delle raccomandazioni, che rappresenta l’ultima fase di trasferimento della ricerca, per chi è direttamente impegnato nella cura della salute individuale e collettiva, e per chi porta responsabilità di decisioni e pianificazione.

In campo ambiente e salute, l’istituzionalizzazione di metodi sistematici e trasparenti di revisione delle evidenze scientifiche sulla relazione tra esposizione ambientale ed esiti di malattia rappresenta uno strumento utile per rafforzare le raccomandazioni basate sulle evidenze, in tema di prevenzione e di tutela della salute pubblica¹⁴. Anche in questo settore occorre pertanto una produzione di alto livello qualitativo, per poter spostare positivamente la lancetta delle evidenze, rifuggendo tuttavia dall’errata convinzione che si possa pervenire a risultati scientifici dotati di certezza completa. Sosteneva infatti Sir August Bradford Hill oltre 50 anni fa: «Tutto il lavoro scientifico è incompleto – che sia osservazionale o sperimentale: tutto il lavoro scientifico è suscettibile di essere alterato o modificato dall’avanzamento delle conoscenze, il che non ci conferisce la libertà di ignorare la conoscenza che già abbiamo o di rimandare l’azione che sembra necessaria in un dato momento».

Un contributo del CNR con CISAS

Centro Internazionale di Studi avanzati su Ambiente, ecosistema e Salute umana

Per contribuire alle conoscenze sull'associazione tra ambiente e salute in siti contaminati il CNR, in collaborazione con molte altre istituzioni, enti e agenzie nazionali e regionali, sta conducendo un progetto FISR in Sicilia e in Calabria (www.cisas.cnr.it). CISAS è un progetto multi ed interdisciplinare all'interno di una complessa azione di ricerca scientifica volta alla comprensione dei fenomeni di inquinamento ambientale e del loro impatto sull'ecosistema e sulla salute umana, finalizzato all'avanzamento della conoscenza e al trasferimento dei risultati per il contrasto degli effetti avversi dell'inquinamento e la prevenzione dei rischi per la salute umana.

Nell'ambito del progetto CISAS sono in corso tre studi su ambiente e salute nei SIN di Priolo, Milazzo e Crotone per valutare lo stato di compromissione di aria, acqua e suolo, le vie di contaminazione, i profili di esposizione delle comunità locali e l'associazione tra esposizione ad inquinanti specifici ed indicatori precoci di rischio pre-clinico di malattia. Il progetto, coordinato da Mario Sprovieri dell'Istituto per l'Ambiente Marino-Costiero del CNR, è articolato in sei Work Package finalizzati allo studio dei processi chimico-fisici dei principali inquinanti (identificati

nelle diverse matrici ambientali delle aree di studio) e del loro trasferimento nelle catene trofiche marina e terrestre, e alla comprensione degli effetti sulla salute umana.

Due gruppi di lavoro sono dedicati agli studi epidemiologici, coordinati da Fabrizio Bianchi dell'Istituto di Fisiologia Clinica del CNR e da Fabio Cibella dell'Istituto di Biomedicina ed Immunologia Molecolare del CNR, in collaborazione con esperti di modellistica dell'Istituto di Analisi dei Sistemi ed Informatica del CNR. Avvalendosi dei dati di letteratura e dei risultati degli studi ambientali e sperimentali sono stati scelti inquinanti target, mentre le malattie sono state selezionate sulla base delle conoscenze epidemiologiche, in particolare prodotte dallo studio SENTIERI, e della loro rilevanza per la ricerca e l'innovazione.

Sono in corso di realizzazione tre studi epidemiologici eziologici su: associazione tra esposizione a contaminanti organici, aumento dei fattori di rischio, presenza di biomarcatori epatici e di carcinoma epatocellulare (indice di steatosi epatica, indice di fibrosi epatica, lipogenesi de novo, marcatori di infiammazione) nel SIN di Priolo; studi sull'associazione tra esposizione a metalli pesanti, incremento del rischio di ipotiroidismo clinico e subclinico, indicatori precoci di cancro tiroideo (misura di ormoni tiroidei, Cd e Pb in sangue ed urine, evidenze eco-

grafiche) nel SIN di Milazzo; studi sull'associazione tra esposizione a metalli pesanti, alterazioni precoci di rischio cardiovascolare (misura di marcatori di infiammazione, di stress ossidativo, salute ossea, Cd e Pb nel sangue, ecodoppler carotideo, valutazione della funzione endoteliale ed elettrocardiogramma) e danno renale (Cd e Pb nelle urine, misura del danno renale, stima della velocità di filtrazione glomerulare) nel SIN di Crotona.

Una seconda linea di studio su coorti di nati reclutati e seguiti nelle tre aree SIN, è stata disegnata per approfondire le conoscenze sugli effetti sulla salute nel corso della vita dell'esposizione ambientale durante la gravidanza. Infatti, lo sviluppo fetale rappresenta una finestra temporale particolarmente suscettibile alle condizioni ambientali e, in utero, possono instaurarsi risposte adattive del feto che, unitamente alla predisposizione genetica, agli effetti delle esposizioni postnatali e in particolare alle esposizioni durante l'infanzia, determinano la suscettibilità anche a patologie croniche nel corso della vita^{15,1}. Le coorti di nascita create sono costituite dalle mamme e dai loro bambini residenti nei SIN e in comuni limitrofi di riferimento.

Per ciascun arruolamento, al momento del parto, vengono raccolti campioni di sangue materno, sangue cordonale e biopsie placentari al fine di stimare l'esposizione diretta agli inquinanti ambientali rite-

nuti critici per ciascuna delle aree SIN. Avvalendosi di indagini biomolecolari sarà indagato il ruolo della placenta nel determinare sia l'esposizione fetale sia gli esiti a lungo termine.

Nei tre studi epidemiologici eziologici di tipo campionario, la valutazione dell'associazione tra esposizione ed esiti di malattia è prevista in due passaggi consecutivi, il primo basato sulla residenza nei comuni all'interno dei SIN e in aree esterne di riferimento, il secondo basato sulla somministrazione di questionari e sulla misura individuale di biomarcatori di esposizione e di effetto precoce.

I gruppi di soggetti, identificati in modo randomizzato sulla popolazione residente, si prestano ad essere seguiti nel tempo per valutare l'evoluzione spazio-temporale. I questionari, somministrati tramite intervista, oltre ad includere informazione su fattori di rischio e potenziali confondenti, prevedono una sezione specifica sulla percezione del rischio. L'approfondimento su determinanti ambientali e indicatori di malattia e su loro interazioni, oltre a proporsi di dare un contributo che si possa collocare nella parte più alta della piramide della formazione delle evidenze, si confida possa anche contribuire alla costruzione di sistemi mirati di sorveglianza ambiente-salute, con l'obiettivo di fornire una corretta misura dei rischi e dare indicazioni per gli interventi di bonifica nelle aree ad alto rischio.

Bibliografia

- ¹Murad MH, Asi N, Alsawas M, Alahdab F. "New evidence pyramid", *Evid Based Med*, 2016; 21(4): 125-7.
- ²Dechartres A, Altman DG, Trinquart L, Boutron I, Ravaud P. "Association between analytic strategy and estimates of treatment outcomes in meta-analyses", *JAMA*, 2014; 312(6): 623-30.
- ³Rooney AA., Cooper GS, Jahnke GD, Lam J, Morgan RL, Boyles AL, Ratcliffe JM, Kraft AD, Schünemann HJ, Schwingl P, Walker TD, Thayer KA, Lunn RM. "How credible are the study results? Evaluating and applying internal validity tools to literature-based assessments of environmental health hazards", *Environ Int*, 2016; 92-93: 617-29.
- ⁴Musmeci L., Bellino M, Binetti R, Ceccarelli F, Costamagna FM, D'Angiolini A, Fabri A, Falleni F, Ferri M, Piccardi A, Roazzi P, Trucchi D, Marcello I. "The ISS Reclamation Data Bank", *Ann Ist Super Sanita*, 2008; 44(1): 75-80.
- ⁵Pirastu R., Iavarone I, Pasetto R, Zona A, Comba P; Comba P, SENTIERI Working Group. "SENTIERI – Studio epidemiologico nazionale dei territori e degli insediamenti esposti a rischio di inquinamento", *Epidemiol Prev*, 2011; 35(5-6 Suppl 4): 1-204.
- ⁶Pirastu R, Ancona C, Iavarone I, Mitis F, Zona A, Comba P; SENTIERI Working Group. "SENTIERI. Studio epidemiologico nazionale dei territori e degli insediamenti esposti a rischio di inquinamento: valutazione dell'evidenza epidemiologica", *Epidemiol Prev*, 2010; 34(5-6 Suppl 3): 1-96.
- ⁷Pirastu R., Comba P, Conti S, Iavarone I, Fazzo L, Pasetto R, Zona A, Crocetti E, Ricci P, SENTIERI Working Group. "SENTIERI. Studio epidemiologico nazionale dei territori e degli insediamenti esposti a rischio di inquinamento: mortalità, incidenza oncologica e ricoveri ospedalieri", *Epidemiol Prev*, 2014; 38(2 Suppl 1): 1-170.
- ⁸Santoro M., Minichilli F, Pierini A, Astolfi G, Bisceglia L, Carbone P, Conti S, Dardanoni G, Iavarone I, Ricci P, Scarano G and RiscRipro_SentieriWorking Group. "Congenital anomalies in contaminated sites: A multisite study in Italy", *Int J Environ Res Public Health*, 2017; 14, 292; doi:10.3390/ijerph14030292
- ⁹World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. *IARC monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans* Preamble. Lyon, 2006. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/CurrentPreamble.pdf>
- ¹⁰GRADE Working Group. "Grading the quality of evidence and strength of recommendations", *BMJ*, 2004; 328: 1-8.
- ¹¹Guyatt GH., Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, Schünemann HJ; GRADE Working Group. "GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations", *BMJ*, 2008; 336: 924–6.
- ¹²Malmivaara A. "Methodological considerations of the GRADE method", *Ann Med*, 2015; 47(1):1-5.
- ¹³Murad MH., Montori VM, Ioannidis JP, Jaeschke R, Devereaux PJ, Prasad K, Neumann I, Carrasco-Labra A, Agoritsas T, Hatala R, Meade MO, Weyer P, Cook DJ, Guyatt G. "How to read a systematic review and meta-analysis and apply the results to patient care: users' guides to the medical literature", *JAMA*, 2014; 312(2): 171-9.
- ¹⁴Woodruff TJ., Sutton P. The Navigation Guide Systematic Review Methodology: A Rigorous and Transparent Method for Translating Environmental Health Science into Better Health Outcomes. *Environ Health Perspect*. 2014; 122(10): 1007-14.
- ¹⁵Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med*. 2008; 359(1): 61-73.
- ¹⁶Balbus JM, Barouki R, Birnbaum LS, Etzel RA, Gluckman PD Sr, Grandjean P, Hancock C, Hanson MA, Heindel JJ, Hoffman K, Jensen GK, Keeling A, Neira M, Rabadán-Diehl C, Ralston J, Tang KC. Early-life prevention of non-communicable diseases. *Lancet*. 2013; 381(9860): 3-4.