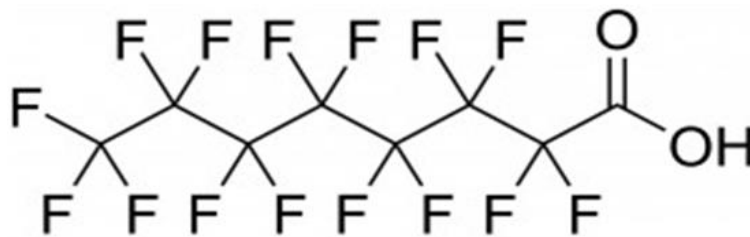




UPPSALA
UNIVERSITET

Perfluoroktansyra i sjöar, floder och hav påverkar fiskarna



Sofie Svanholm

Independent Project in Biology

Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2013

Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Perfluoroktansyra i sjöar, floder och hav påverkar fiskarna

Sofie Svanholm

Självständigt arbete i biologi 2013

Sammandrag

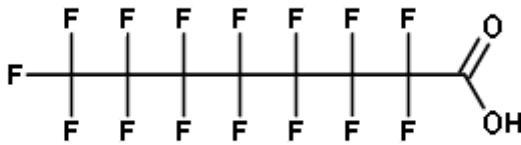
Många vardagliga produkter innehåller så kallade perfluorerade ämnen. De mest kända exemplen är perfluoroktansulfonat (PFOS) och perfluoroktansyra (PFOA). PFOS har visat sig vara reproduktionsstörande och giftigt för vattenlevande organismer och man misstänker att PFOA har liknande egenskaper. PFOA har hittats i vatten och i fiskar över hela världen. Det har dock visat sig att det inte är vare sig bioackumulerande eller akut dödligt i fiskar. Däremot har man sett stora effekter på hormonnivåer och mindre effekter på reproduktion. PFOA är ett östrogenliknande ämne vilket får till följd att hanar som exponerats för PFOA börjar uttrycka vitellogenin, ett hormon som normalt sett bara finns hos honor och styr äggtillväxten. Detta hormon gör så att det börjar utvecklas ägg hos hanar och stör reproduktionen. Även levern, immunförsvaret, sköldkörteln och mitokondrierna påverkas av PFOA-exponering genom att gentranskript ändras. Det finns metoder för att hindra PFOA för att komma ut i miljön genom bland annat rening med aktivt kol. En mer långsiktig lösning vore en hårdare reglering av PFOA-användning. Människor får också i sig PFOA bland annat från konsumtion av fisk som påverkar bland annat sköldkörteln, levern och kan eventuellt vara cancerogent.

Inledning

Perfluorerade ämnen har använts länge inom industrin. Trots det är de ändå en av de minst studerade halogenerade ämnena ur ekotoxikologisk synvinkel (Mortensen *et al.* 2011). Det mest uppmärksammade perfluorerade ämnet är perfluoroktansulfonat (PFOS). PFOS är mycket skadligt, både i miljön och för människor. Man har hittat PFOS i flera djurarter från många olika platser och man har även uppmätt det i blodet hos människor från hela världen (Kemikalieinspektionen 2009). Sedan år 2009 är PFOS med på European Chemicals Agencys (ECHA) lista över ämnen under mycket strikt kontroll (Commission of the European communities 2009). Det har även gjorts många undersökningar på det liknande ämnet perfluoroktansyra (PFOA) och det misstänks också vara reproduktionsstörande och eventuellt cancerogent (Kemikalieinspektionen 2011). Från och med 2013 finns det med på ECHAs kandidatlista över ämnen med mycket stora farhågor (European Chemicals Agency 2013a,b).

PFOA (figur 1) hör till ämnesgruppen perfluorerade karboxylsyror som i sin tur hör till gruppen perfluorerade ämnen. De perfluorerade ämnena är kolföreningar där alla väteatomer har ersatts med fluor. Dessa ämnen bildas inte naturligt, de som man hittar i miljön har skapats på syntetisk väg (Kemikalieinspektionen 2009). Bindningen mellan kol och fluor är en av de starkaste som finns och det får det till följd att perfluorerade ämnen är mycket stabila (Kissa 2001). De har också en förmåga att åstadkomma vatten-, fett- och smutsavvisande ytor (Kemikalieinspektionen 2009, U.S. Environmental Protection Agency 2012).

Gruppen polyfluorerade ämnen är också mycket använda inom industrin. Det är ämnen som inte har alla väteatomer utbytta mot fluor, bland annat fluortelomerer och fluorpolymerer (Kemikalieinspektionen 2011). Många av dessa ämnen kan brytas ner till PFOA när de kommer ut i miljön och kallas då PFOA-relaterade ämnen (Kemikalieinspektionen 2009).



Figur 1. Schematisk bild av perfluoroktansyra (PFOA).

Till skillnad från fettlösliga miljögifter, såsom DDT och tungmetaller, har de perfluorerade ämnena en hydrofob och en hydrofil del vilket innebär att de istället binder till proteiner och lagras i levern och blodet. Då man vill veta hur mycket ett ämne anrikas i en organism mäter man ämnets förmåga att bioackumuleras. Eftersom PFOA är både hydrofobt och hydrofilt lägger det sig i gränsskikt och leder till att man inte kan använda sig av de vanliga mättningsmetoderna för bioackumulering som exempelvis att beräkna logKow, vilket är fördelningskoefficienten i oktanol/vatten. På grund av att det har varit svårigheter i mättningsmetoder har dessa ämnen inte har upptäckts i miljön förrän på senare tid trots att de har använts i många år (Kemikalieinspektionen 2009).

Perfluoroktansyran är fluormättad och därför får ämnet en helixform, med fluor som omger kolkärlerna och förhindrar att kemiska reaktioner sker (Kissa 2001). På grund av detta sker ingen fotonedbrytning i luft eller biologisk nedbrytning, varken i vatten, jord eller sediment (Siegemund et al. 2000), vilket skulle kunna vara en förklaring till varför PFOA är svårnedbrytbart i naturen och misstänkt bioackumulerande.

Användning i produkter

PFOA och andra perfluorerade ämnen används brett inom industrin på grund av att de har sådana speciella kemiska egenskaper och är mycket stabila. Främst används PFOA som hjälpkemikalie vid framställning av fluorpolymerer som polytetrafluoreten (PTFE) och fluoretylenpropylen (FEP). Polymererna används bland annat i stekpannor (där Teflon[®] är ett känt exempel), elektronik, textilier, kablar och rymdmaterial. Efterfrågan av dessa ämnen ökar hela tiden vilket också innebär att bruket av PFOA ökar (Kemikalieinspektionen 2006).

I fluortelomerer och fluorpolymerer finns PFOA ofta som obundet restämne. Dessa är PFOA-relaterade ämnen eftersom de ofta också bryts ner till PFOA i djur och miljö. Det finns också PFOA-relaterade ämnen som är mycket flyktiga och därför kan de förflyttas långa sträckor i miljön. Man tror att denna flyktighet är en av anledningarna till varför halterna av perfluorerade karboxylsyror har ökat i Arktis (Kemikalieinspektionen 2009).

Eftersom PFOS har visat sig vara reproduktionsstörande och giftigt för vattenlevande organismer och tidigare har använts fritt (Kemikalieinspektionen 2011) är det viktigt att veta om PFOA, som nu används i stor skala, också har samma toxiska egenskaper. I den här uppsatsen undersöks om perfluoroktansyra påverkar fiskar då utsläpp från fabriker tenderar att komma ut i vatten. Fisk är dessutom en viktig födokälla för andra organismer och om fiskbestånd skadas kan det påverka hela ekosystemet.

Perfluoroktansyra i organismer

Bioackumulering

I ytvatten ligger PFOA-nivåerna mellan 0,011 och 67 µg L⁻¹, men vid utsläppsplatser kan det vara så högt som 17 mg L⁻¹ (Wei *et al.* 2007). PFOA har visat sig verka bioackumulerande i människor och misstänks med stor sannolikhet även vara det i terrestra däggdjur, men inte i fiskar (tabell 1) (European Chemicals Agency 2013).

Tabell 1. Laboratorieexperiment för att mäta biokoncentrationsfaktorn (BCF) (förhållandet mellan koncentrationen kemikalie i en organism jämfört med koncentrationen i omgivningen) för PFOA (L kg⁻¹) i olika fiskarter.

| Fiskart | Vävnad | BCF | Referens |
|---|---------|----------|----------|
| <i>Sebastes melanops</i> | Lever | 85±15 | 1 |
| Regnbåge (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Kadaver | 4,0±0,6 | 2 |
| Regnbåge (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Blod | 27±9,7 | 2 |
| Regnbåge (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Lever | 8,0±0,59 | 2 |
| Karp (<i>Cyprinus carpio</i>) | | 3,1 | 3 |

Referenser: 1: Jeon *et al.* (2010). 2: Martin *et al.* (2003). 3: Inoue *et al.* (2012).

Trots att PFOA är det perfluorerade ämne som det finns mest av i Stilla havet (Yamashita *et al.* 2005) så hittades det endast i 10% av de kommersiella fiskarna boniters (*Katsuwonus pelamis*) lever (Hart *et al.* 2008). I atlantlax (*Salmo salar*) visade det sig att PFOA inte lagras lika effektivt i vävnader såsom levern och njurarna som PFOS gör. Blodet har också visats sig rensa snabbare från PFOA. Detta tyder på att PFOA inte skulle vara bioackumulerande. Man har också sett att koncentrationen PFOA är högre i blodet än i levern och njurarna hos fiskarna i våtvikt (Mortensen *et al.* 2011).

Perfluoroktansyra i fisk

Perfluoroktansyra har hittats hos fiskar i hela världen och många studier har gjorts i Europa och Asien (tabell 2). Det har visats att upptag av PFOA ökar med ökande salthalt (Jeon *et al.* 2010), vilket skulle betyda att havslevande fiskar har högre halt PFOA än fiskar som lever i sjöar eller vattendrag.

I Medelhavet är PFOA-halten i fisk och mollusker är lägre än vad som tidigare rapporterats. Medelhavet har ingen speciellt alarmerande föroreningsnivå av perfluorerade ämnen, vilket kan bero på att Medelhavet är en halvstängd bassäng som sällan har något utbyte av vatten och där med inte heller får in något PFOA från de omkringliggande vattnen. Dock hittades det ett antal fiskar med alarmerande höga nivåer av PFOA (Nania *et al.* 2009).

Tabell 2. Koncentration perfluoroktansyra (ng g⁻¹ våtvikt) hos fisk.

| Fiskart | PFOA | Vävnad | Plats | Referens |
|--|--|--------|--------|----------|
| Blåfenad tonfisk (<i>Thunnus thynnus</i>) | < 2,5 | Blod | Europa | 1 |
| Svärdfisk (<i>Xiphias gladius</i>) | < 2,5 | Blod | Europa | 1 |
| Torsk (<i>Gadus morhua</i>) | 2·10 ⁻⁴ ±1,6·10 ⁻⁴ | Blod | Europa | 2 |
| Fläckpagell (<i>Pagellus bogaraveo</i>) | 15 | Lever | Asien | 3 |
| Rödtunga (<i>Glyptocephalus cynoglossus</i>) | 5,2 | Lever | Asien | 3 |

Referenser: 1: Kannan *et al.* (2002). 2: Falandysz *et al.* (2007). 3: Nakata *et al.* (2006).

Koncentrationen PFOA i fisk har visats bero på vilket habitat fiskarna lever i. Bottenlevande

fiskar hade i genomsnitt högre nivåer PFOA än fiskar som lever i pelagialen (den fria vattenmassan). En förklaring skulle vara att de bottenlevande fiskarna även tar upp PFOA som lagrats i sedimenten (Nania *et al.* 2009).

Perfluoroktansyras påverkan på fisk

Dödlighet

I ett experiment där knölskallelöja (*Pimephales promelas*) utsattes för höga mängder PFOA, fanns ingen signifikant skillnad i överlevnad (tabell 3) (Oakes *et al.* 2004). Det samma gäller regnbåge (*Oncorhynchus mykiss*) (Martin *et al.* 2003). Även i ett försök med japansk risfisk (*Oryzias latipes*) verkade inte PFOA påverka fitnessen (Ji *et al.* 2008).

Hormonaktivitet

Det har visats att det finns skillnad i ackumulering mellan könen då hanar hos zebrafisk (*Danio rerio*) ackumulerade nio gånger mer PFOA än vad honorna gjorde. Detta tros bero på skillnader i hormonnivåer och ändrat uttryck hos membrantransportproteiner (Hagenaars *et al.* 2013).

Analyserade hepatocyter från sötvattentilapia-hanar (*Oreochromis niloticus*) visade att PFOA har svaga östrogeneffekter (tabell 3). Effekter av östrogen bestäms vanligen genom att mäta vitellogenin (Liu *et al.* 2007), proteinet som till största del styr tillväxten av oocyter (Oakes *et al.* 2004) hos hanfiskar. Proverna tas antingen i blodplasma eller i levern. Syntesen av vitellogenin i levern står under kontroll av östrogenreceptorn (ER) som reagerar på östrogenet 17- β -östradiol. Normalt har hanfiskar så små mängder vitellogenin att det inte är mätbart då de endogena östrogenkoncentrationerna är låga. Levern hos hanfiskar kan dock syntetisera vitellogenin som en respons på exogent östrogen. Därför används hanfiskars hepatocyter för miljöövervakning av östrogena substanser (Liu *et al.* 2007).

Den relativa östrogenpotensen av PFOA bestämdes till 0,02 där 17- β -östradiol (det viktigaste östrogenet) har potensen 1. Det hade dock en anti-östrogeneffekt när det kombinerades med 17- β -östradiol vilket visar att PFOA både kan verka som östrogen och anti-östrogen. Den lägsta koncentrationen PFOA som behövdes för att se några östrogeneffekter hos fiskarna var $1 \cdot 10^{-5}$ mol (Liu *et al.* 2007). Exponering av PFOA hos Karp (*Cyprinus carpio*) orsakar vitellogenin (Kim *et al.* 2010) som innebär att levern producerar vitellogenin (Donohoe och Curtis 1996).

I ett experiment på *Gobiocypris rarus* ökar antalet testis-ova-gonader signifikant (gonader med både testiklar och oocyter). Det krävdes dock höga koncentrationer för att se denna utveckling, men det skulle kunna leda till könsbyte hos hanfiskarna (Wei *et al.* 2007). Även i zebrafiskar har det visats att PFOA har effekter på östrogenet. Där interfererar det med östrogenreceptorn och ändrar steroidhormonsyntesen. De exakta hormonreceptormekanismerna av PFOA behöver dock mer forskning för att man ska kunna förhindra och åtgärda effekterna som det ger (Du *et al.* 2013).

Tabell 3. Relativ östrogenpotens i hepatocyter från sötvattentiliapa (*Oreochromis niloticus*). NOEC: No Observed Effect Concentration, den högsta koncentration då ingen effekt uppmättes. LOEC: Lowest Observed Effect Concentration, den lägsta koncentrationen då effekt uppmättes. EC₅₀: koncentrationen för att uppnå halva den maximala vitellogenin-framkallningen. Östrogenpotensen räknades ut genom (EC₅₀ · 17-β-östradiol)/EC₅₀. Omskriven från Liu *et al.* (2007).

| Ämne | vitellogenin-induktion (mol) | | | | Östrogenpotens |
|----------------|------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------|
| | NOEC | LOEC | Maximal | EC ₅₀ | |
| 17-β-östradiol | $3,7 \cdot 10^{-8}$ | $1,8 \cdot 10^{-7}$ | $7,4 \cdot 10^{-6}$ | $4,7 \cdot 10^{-7}$ | 1 |
| PFOA | $4,8 \cdot 10^{-6}$ | $1 \cdot 10^{-5}$ | $3,4 \cdot 10^{-5}$ | $2,9 \cdot 10^{-5}$ | 0,02 |

Det var skillnader i elimineringshastighet av PFOA mellan zebrafiskhanar och honor som blivit utsatta för olika doser PFOA i fyra dagar. Detta tros bero på de naturligt skiljda mängderna testosteron. Hos de fiskar som blivit exponerade i 28 dagar fanns ingen signifikant skillnad mellan könen bortsett från de fiskar som fått de högsta koncentrationerna. Det förklaras med att PFOA kan ha haft effekter på steroidmetabolismen, då ändringar i transkription hos dessa fiskar upptäcktes. Gener involverade i både kolesterol- och progesteronsyntes hade ändrats vilket kan påverka steroidmetabolismen (Hagenaars *et al.* 2013). Knölskallelöja som utsatts för PFOA har visats få en minskad nivå av cirkulerande testosteron (Oakes *et al.* 2004). Om steroidnivåerna hos hanarna sänks kommer den inhiberande effekten att minska och koncentrationskillnaderna mellan hanar och honor minskar också (Hagenaars *et al.* 2013).

Reproduktion

I fiskar bestäms antalet oocyter som ska vidareutvecklas huvudsakligen av honans långsiktiga hälsa och miljöförhållanden. För knölskallelöjehonor som utsatts för höga koncentrationer PFOA dröjde det längre innan den första äggläggningen jämfört med kontrollfiskarna. Trots det hittades inga bevis om att fekunditeten (fortplantningskapaciteten) skulle försämrats eller att reproduktiva beteenden skulle förändras hos adulta fiskar över den tid och dos som undersökts (Oakes *et al.* 2004). Detta gäller också för zebrafiskar (Hagenaars *et al.* 2013). De mängder PFOA som man normalt påträffar i naturen verkar inte störa reproduktionen, men på platser med höga utsläpp PFOA kan det påverka viktiga skeden i reproduktionen (Oakes *et al.* 2004).

I en annan studie med zebrafiskar hittades bara effekter på reproduktionen på genetisk nivå och de visade sig inte påverka fekunditet, fertilitet eller kläckning. Fiskarna kunde klara av de koncentrationer PFOA som de utsatts för, men högre doser PFOA och långvarig exponering skulle kunna resultera i inhibering av reproduktionen (Hagenaars *et al.* 2013).

Många experiment med PFOA har utförts på råttor. Där har de som exponerats för PFOA har uppvisat ökad testikelvikt (Cui *et al.* 2009). Detta har inte observerats hos japansk risfisk som exponerats för PFOA då ingen signifikant skillnad fanns i gonadsomatiskt index (könsorganets vikt i förhållande till kroppsvikten) (Ji *et al.* 2008).

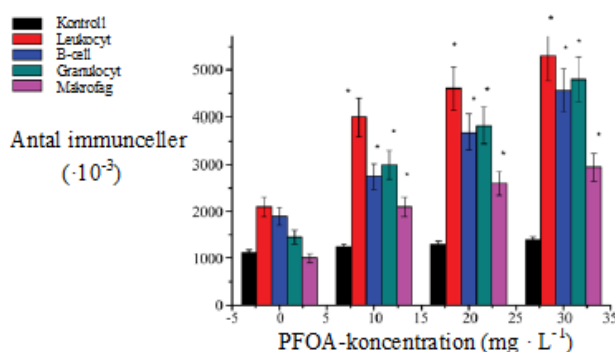
Levern

Levern är det organ som påverkas mest av PFOA (Han *et al.* 2007). Eftersom vitellogenin tillverkas där förväntas leverstorleken öka då fiskarna blivit utsatta för PFOA. Detta visade sig vara fallet hos zebrafiskar. Det hepatosomatiska indexet (leverstorleken i förhållande till kroppen) ökade hos honor som exponerats i 24 timmar (Ji *et al.* 2008).

Det har föreslagits att PFOA ger leverskador vid höga koncentrationer (Wei *et al.* 2007) och livsdugligheten hos hepatocyter (leverceller) har visats minska med ökande dos PFOA. Ethoxy-resorufin-O-deethylas (en biokemisk-markör känslig för ändringar i levern) i sötvattentilapia som utsatts för PFOA ökade kraftigt efter exponeringen och där såg man också hypertrofi i levern. Detta var också dosrelaterat vilket betyder att en ökad dos ger ökad hypertrofi (Han *et al.* 2012).

PFOA ökar antalet leukocyter, B-celler, granulocyter och makrofager bland de intrahepatiska immuncellerna (IHIC) jämfört med kontrollen hos sötvattentilapia (figur 2). Antalet leukocyter ökar med stigande koncentration PFOA och påverkar alltså leverns immunsystem. Dessutom har det föreslagits att PFOA triggar hepatiskt erythropoetin (protein som styr produktioner av erytrocyter) då en femfaldig ökning av proteinet sågs hos sötvattentilapia som exponerats för PFOA. En ökning av dos resulterade också i en ökning av erythropoetin (Han *et al.* 2012).

Kortvarig exponering för PFOA (24 timmar) hos sötvattentilapia leder till minskade glykogennivåer i levern, medan långvarig exponering (mer än 48 timmar) leder till ökade nivåer. Då fiskarna utsattes för doser på 20 mg L⁻¹ under lång tid minskade blodets glykosnivå också. Dessa resultat visar att PFOA har effekter på glykogensyntesen och att det kan minska blodsockernivån (Han *et al.* 2012).



Figur 2. Effekt av PFOA på immunceller från levern i sötvattentilapia (*Oreochromis niloticus*). Exponerad i 72 timmar. * Signifikant skillnad jämfört med kontrollen. Omritad efter Han *et al.* (2012).

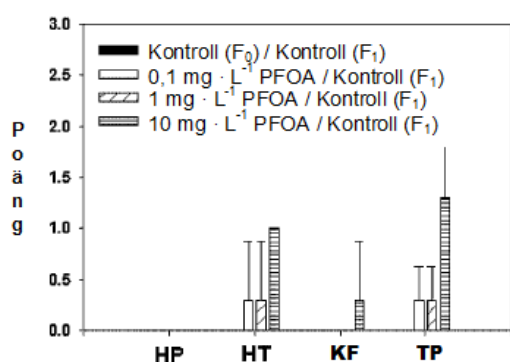
Sköldkörtelfolliklar

Sköldkörtelfolliklarnas främsta uppgift är att tillverka sköldkörtelhormon som sköter ämnesomsättningen och tillväxten. Om dessa folliklar skadas kan det leda till att det syntetiseras för lite eller inget hormon alls, vilket då hämmar tillväxten. Hämmad tillväxt och viktökning har observerats för fiskar som exponerats för PFOS, men inte för PFOA (Ji *et al.* 2008).

I experimentet med de japanska risfiskarna, vars föräldrar blivit exponerade för PFOA i 14 dagar, hittades dock förändringar i vävnaden i sköldkörtelfolliklarna hos avkommorna (figur 3). Ingen avkomma uppvisade follikel-hyperplasi (vävnadsökning i folliklar på grund av fler celler) (Ji *et al.* 2008), vilket innebär att PFOA inte skulle ha någon cancerogen effekt hos fiskar. Däremot uppvisade de hypertrofi (vävnadsökning på grund av storleksökning av celler) oavsett vilken dos föräldrarna utsatts för, men detta påverkade inte tillväxten (Ji *et al.*

2008).

De avkommor med föräldrar som utsatts för 10 mg L^{-1} PFOA uppvisade också viss kolloidförbrukning (finns i sköldkörtelns folliklar och består främst av tyroidhormonets förstadium tyreolobulin) (Ji *et al.* 2008). Det här stöds av en studie på zebrafiskar där det observerats att PFOA interagerar med tyroidhormonreceptorn och leder till anti-tyroideahormonaktivitet (Du *et al.* 2013). Om föräldrarna exponerats för PFOA kan det innebära att transporten av tyroidhormon till de befruktade äggen förhindras eller begränsas vilket påverkar utvecklingen negativt. De förändringar som sågs i avkommorna sågs också i föräldrarna och därför har det föreslagits att de effekter som PFOA har kan ärvas av nästa generation (Ji *et al.* 2008).

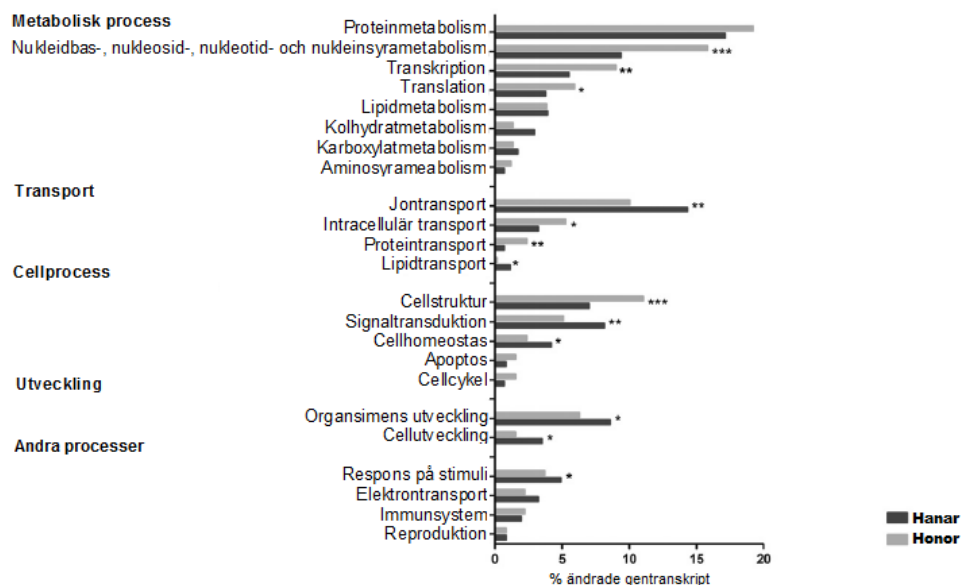


Figur 3. Hispatologiska effekter på sköldkörteln hos japansk risfisk (*Oryzias latipes*) observerat i avkommor med föräldrar som exponerats för olika doser PFOA i 14 dagar. Poängen är baserade på graden av vävnadsändring. HP = follikel-hyperplasi, HT = hypertrofi och KF = kolloidförbrukning. TP = total poäng. Omritad efter Ji *et al.* (2008).

Mitokondrien

PFOA påverkar transportproteiner i cellmembranen för organiska anjoner och förhindrar därmed att det exkretteras med urinen. Många av de gentranskript som kodade för dessa proteiner skiljde sig mellan hanar och honor, vilket också skulle kunna förklara skillnaden i PFOA mellan könen hos zebrafiskar (figur 4) (Guruge *et al.* 2005).

Det har observerats en minskning i elektrontransportkedjan med 55% hos zebrafiskar som utsatts för PFOA i 14 dagar. PFOA får mitokondrierna att fungera felaktigt genom att öka deras permabilitet genom att interagera med MPT-porer (Mitokondriepermabilitet-övergångsporer) och gör dem icke-selektivt permeabla. Detta får till följd att små molekyler fritt kan röra sig genom membranet. Flera MPT-por-relaterade gentranskript ändrades hos zebrafiskarna då de blivit utsatta för PFOA (figur 4). Den ökade permabiliteten i mitokondrierna och det konstanta läckaget av joner påverkar protongradienten och därmed också den oxidativa fosforyleringen som krävs för att bilda ATP (Hagenaars *et al.* 2013). En störning i mitokondriens elektrontransportkedja innebär en minskning i ATP-produktion, som i sin tur leder till att reaktiva syreföreningar bildas (Li *et al.* 2002). Nivåerna av flera antioxidanter såsom glutation-S-transferas och katalas minskade också i både hanar och honor, vilket leder till obalans av reaktiva syreföreningar, oxidativ stress och kanske även apoptos (Hagenaars *et al.* 2013). Detta har också observerats hos karp (Kim *et al.* 2010).



Figur 4. De processer i zebrafiskhanar och honor (*Danio rerio*) som påverkats mest då de exponerats för $1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PFOA. Uttryckt som procent av det totala antalet gentranskriptioner för varje kön. De signifikanta resultaten indikeras med asterisker (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Omritad efter Hagenaars *et al.* (2013).

Enzymer som associeras med peroxisomer ökade hos knölskallelöjor då de utsattes för PFOA (Oakes *et al.* 2004). Hos råttor ökade PFOA β -fettoxidation i både mitokondrier och peroxisomer vilket tros bero på att PFOA misstas för substrat i oxidationen. Fler studier skulle dock behöva göras för att klargöra de här observationerna (Guruge *et al.* 2005).

Diskussion

PFOA hittats i fisk från hela världen och ämnet har en endokrinstörande effekt, men endast i höga doser. I haven idag finns höga halter PFOA, men inga alarmerande halter har påträffats i fisk. PFOA påverkar som sagt hormonnivåer, men det är osäkert hur stor påverkan blir på reproduktionen. Den största effekten har setts hos hanar som blivit exponerade för PFOA och producerat vitellogenin (Liu *et al.* 2007, Kim *et al.* 2010). De utvecklade då testis-ovagonader vilket tyder på att PFOA är ett östrogen-liknande ämne (Liu *et al.* 2007).

Det är intressant med alla förändringar i som man har observerat i gentranskript men som inte fått utslag fysiologiskt eller beteendemässigt. Om PFOA också skulle orsaka förändringar i gentranskript i gameterna skulle dessa ändringar kunna överföras till avkomman. Detta skulle i sin tur kunna leda till att hela populationer fiskar förändras genetiskt på bara några generationer på platser där utsläpp är höga. Kanske kan de till och med förändras så mycket att de blir en helt egen art. Det bör därför göras längre studier på fiskar och undersöka flera generationer, för att se eventuella långvariga effekter av PFOA.

Att avkommor får liknande förändringar i sköldkörtelfolliklarna som sina föräldrar som utsatts för PFOA skulle också kunna göra nästa generation olik den innan. Om sköldkörtelfolliklarna förändras tillräckligt mycket kanske de inte fungerar korrekt vilket skulle hämma tillväxten hos fiskarna. Även om inga allvarliga fysiologiska förändringar eller beteendeförändringar ses idag så kan de visa sig först efter ett par generationer.

Trots att halterna i fisk inte är tillräckligt höga för att ha någon betydande effekt idag, har man i laboratorieförsök visat vad höga koncentrationer kan göra. Eftersom PFOA är mycket svårnedbrytbart kommer mängderna att ackumuleras om utsläppen fortsätter och koncentrationerna i sjöar, floder och hav att öka. Några stora problem ses inte nu, men om PFOA ökar i naturen kanske till exempel sterila fiskar på grund av missbildade gonader, ses om fem, tio eller 50 år. Det är därför som det är så viktigt att vi vet vad ämnena som släpps ut i miljön har för effekter på organismerna.

Lösningar

Ett steg på vägen till en lösning på PFOAs påverkan på fiskar är att det har kommit med på EU:s kandidatlista över ämnen med mycket stora farhågor, vilket skulle kunna begränsa användningen av det inom EU. I Norge har det redan tagits ett beslut om att förbjuda PFOA som träder i kraft första juni 2014 (Cirkulation 2013). Även om det är ett bra steg på vägen kvarstår dock många andra länder som har en betydligt mer tillåtande lagstiftning om utsläpp. De PFOA-relaterade ämnena är inte heller under någon lagstiftning så även om själva ämnet PFOA skulle vara under strikt kontroll, finns det fortfarande kemikalier som kan brytas ner till det.

Eftersom de perfluorerade ämnena först fått stor uppmärksamhet på senare år, är det först nu som det forskas på metoder att få bort dem från miljön. En lättanvänd och miljövänlig metod är att använda så kallad Supercritical Fluid Extration (SFE). Den går ut på att separera en vätska från ett fast material med hjälp av så kallad "supercritical fluid" som oftast är koldioxid; ibland blandas också metanol med. Denna metod har testats använts i ett experiment för att ta bort PFOA från fyllnadsmassor, papper, textilier och sand med lyckade resultat (Chen *et al.* 2012).

PFOA och andra perfluorerade ämnen kan renas från vatten med aktivt kol som används i de flesta reningsverk. När föreningar kommer i kontakt med kolet binds det till detta, som är i form av små korn, och bildar föreningar som inte följer med vattnet. Det har gjorts ett experiment på japanska reningsverk där halterna PFOA efter olika steg i reningsprocessen mättes. Ingen skillnad fanns i koncentration efter sand- eller ozonrening, utan det var bara det aktiva kolet som kunde rena vattnet från de perfluorerade ämnena. Kolet måste dock bytas efter ett år för att reningen ska fungera (Takagi *et al.* 2011).

Att det finns fungerande rening för PFOA och metoder för att få bort det ur jord och sediment är en bra början, men om utsläppen fortsätter kommer det inte vara hållbart. Den mest självklara lösningen vore att minska utsläpp och användning av PFOA och PFOA-relaterade ämnen och även ta bättre hand om resterna från produktioner. I verkligheten är dock inte alltid så lätt då det är mer ekonomiskt gynnsamt att släppa ut kemikalierna i miljön. Problemet är då att vattnet blir kontaminerat, inte bara för organismerna som lever där utan också för människor som får i sig det via fisk, skaldjur eller dricksvattnet.

Mänsklig exponering från fisk

Då fisk är en viktig basföda för många människor världen över blir människor som äter fisk automatiskt exponerade för PFOA. I en studie i USA har man jämfört mängden av olika hälsoskadliga ämnen i kroppen, bland annat PFOA och bly, mellan socioekonomiska klasser. Där kunde man konstatera att PFOA finns i högre koncentrationer i människor med hög inkomst, vilket man tror har att göra med att de med högre inkomst äter mer mjölkprodukter och fisk (Tyrrell *et al.* 2013). Då man har sett att PFOA kan överföras från kontaminerad mat till fårens kött och mjölk (Kowalczyk *et al.* 2012) är det rimligt att dra slutsatsen att djur

som äter fisk som är kontaminerad med PFOA också får i sig dessa ämnen och kan i sin tur föra vidare dessa till människor. Människor kan även exponeras för PFOA genom dricksvatten, potatis, matförpackningar och genom inandning. Hos kvinnor har även rökning associerats med högre halter PFOA i blodet, men det är oklart varför (Jain 2013).

PFOA orsakar minskning i triglycerider i levern hos möss. Forskning visar dock att fiskolja ger resistens mot minskningen (Kudo & Kawashima 2001). Eftersom PFOA framförallt påverkar levern hos människor skulle fiskolja eventuellt motverka effekten. Fiskolja får man i sig då man äter fisk, speciellt fet fisk. Då man också får i sig PFOA då man äter fisk skulle detta inte vara en hållbar lösning.

Höga doser PFOA (mer än 200 μM) under lång tid har visat sig ha cytotoxiska effekter på HepG2-cellerna (en cellinje från lever som används för att testa genotoxiska effekter) hos människor. PFOA har visat sig ha cancerogena effekter i gnagare, men det har aldrig kunna visas hos människor. PFOA orsakade inte ökad DNA-skada vilket skulle tyda på att det inte har någon cancerogen effekt på mänskliga leverceller, i alla fall inte i de koncentrationer som har testats. Inte heller fann man några reaktiva syreföreningar, men i studien som gjorts har bara effekterna av ett enda ämne testats. I vardagen utsätts en människa för flera kemikalier på en gång och om PFOA kombineras med andra kemikalier skulle det kunna få andra effekter och därför bör cancereffekter inte uteslutas (Florentin *et al.* 2011).

I en studie som gjorts på USA:s befolkning visade sig serumkoncentrationen av PFOA ha ett samband med sköldkörtelsjukdomar. Sköldkörtelsjukdomar är mycket vanligare hos kvinnor än hos män och sambandet mellan PFOA och sköldkörtelsjukdomar var speciellt starkt hos kvinnor som behandlats mot det (Melzer *et al.* 2010).

Halveringstiden i blodet hos människor uppskattas vara mellan två och fyra år. Halterna i kroppen ökar med stigande ålder och överförs från moder till barn via bröstmjölken (Commission of the European communities 2009). Kvinnor som har ammat minst ett barn har lägre PFOA-koncentrationer än de som inte ammat, vilket skulle tyda på att barnet fått i sig PFOA via bröstmjölken (Jain 2013). I gnagare har man funnit att avkomor till honor som utsätts för PFOA under graviditeten är försenad i den motoriska utvecklingen och har problem med beteende även som adulta. Detta har man dock inte sett hos människor (Fei *et al.* 2008, Chen *et al.* 2013).

I en studie som undersökte spermier hos danska män som utsätts för PFOA som foster hade män som blivit exponerade i livmodern en lägre koncentration spermier än de män som inte blivit det (Vested *et al.* 2013). Det har däremot visat sig i en studie från USA på vuxna män att PFOA inte har någon påverkan på spermerna, varken koncentrationen, volym, dödlighet eller mobilitet (Raymer *et al.* 2012).

Honfiskar som utsattes för PFOA hade längre till första äggläggningen än kontrollfiskarna. Liknande resultat har också hittats hos människor. Det tog längre tid för kvinnor som exponerats för PFOA i livmodern till den första menstruationen än för de som inte gjort det. Däremot fanns inget samband mellan PFOA-exponering och längden på cyklarna, antal folliklar eller könshormon-nivåer (Kristensen *et al.* 2013).

Hos fiskar sågs också förändringar i gentranskript. Hos människor har det visats att gener inblandade i metabolism stimuleras då humanceller exponeras för PFOA. Till exempel

stimulerar gener som är involverade glykolys och lipidomsättning (Bjork *et al.* 2011).

I de flesta försök som gjorts är halterna PFOA mycket lägre än de kan vara vid utsläppsplatser och det har ändå setts förändringar hos både fiskar, gnagare och människor. Det skulle vara en bra idé att studera fiskar som kommer från just utsläppsplatserna för att se vad dessa mycket högre koncentrationer gör. Problemet är att lokalisera dessa platser och att det är svårt att veta om fiskarna faktiskt lever där eftersom de har lätt att flytta sig.

Det kan tyckas att det inte spelar någon roll om fiskar får i sig PFOA om de ändå inte påverkas speciellt mycket, men man vet inte vad som händer efter generationer, då ändringar i gener och vävnader kan föras vidare till avkomman. Dessutom får människor i sig PFOA bland annat genom fiskkonsumtion och effekterna av PFOA är fortfarande inte helt kända. Det är därför viktigt att veta vad som släpps ut i miljön då det påverkar oss människor också.

Tack

Stort tack till min handledare Anders Ödeen för många hjälpsamma kommentarer och förslag. Ett tack även till Johanna Sundqvist och Viveka Törnqvist för uppskattad återkoppling på arbetet och Robin Löfgren och Axel Spaxes för givande förbättringsförslag.

Referenser

- Bjork JA, Butenhoff JL, Wallace KB. 2011. Multiplicity of nuclear receptor activation by PFOA and PFOS in primary human and rodent hepatocytes. *Toxicology* **288**: 8-17.
- Cirkulation. 2013. Norge förbjuder PFOA. WWW-dokument 2013-09-17: <http://www.cirkulation.com/2013/09/norge-forbjuder-pfoa/> Hämtad 2013-12-11
- Chen H-Y, Liao W, Wu B-Z, Nian H, Chiu KH, Yak H-K. 2012. Removing perfluorooctanate sulfonate and perfluorooctanoic acid from solid matrices, paper, fabrics, and sand by mineral acid suppression and supercritical carbon dioxide extraction. *Chemosphere* **89**: 179-184.
- Chen M-H, Ha E-H, Liao H-F, Jeng S-F, Su Y-N, Wen T-W, Lien G-W, Chen C-Y, Hsieh W-S, Chen P-C. 2013. Perfluorinated compound levels in cord blood and neurodevelopment at 2 years of age. *Epidemiology* **24**: 800-808.
- Commission of the European communities. 2009. Commission regulation (EC) No 552/2009 of 22 June 2009 amending regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards Annex XVII. Official Journal of the European Union, L 164/7.
- Cui L, Zhou Q, Liao C, Fu J, Jiang G. 2009. Studies on the toxicological effects of PFOA and PFOS on rats using histological observation and chemical analysis. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **56**: 338-349.
- Ding G, Zhang J, Chen Y, Wang L, Wang M, Xiong D, Sum Y. 2013. Combined effects of PFOS and PFOA on Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **64**: 668-675.
- Donohoe R.M, Curtis L.R. 1996. Estrogenic activity of chlordecone, *o,p'*-DDT and *o,p'*-DDE in juvenile rainbow trout: induction of vitellogenesis and interaction with hepatic estrogen binding sites. *Aquatic Toxicology* **36**: 31-52.
- Du G, Huang H, Hu J, Qin Y, Wu D, Song L, Xia Y, Wang X. 2013. Endocrine-related effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) in zebrafish, H295R steroidogenesis and receptor reporter gene assays. *Chemosphere* **91**: 1099-1106.
- European Chemicals Agency. 2013a. Candidate list of substances of very high concern for authorisation. WWW-dokument 2013-06-20: <http://echa.europa.eu/web/guest/candidate-list-table> Hämtad 2013-11-18.
- European Chemicals Agency. 2013b. Member state committee support document for identification of Pentadecafluorooctanoic acid (PFOA) as a substrate of very high concern because of its CMR and PBT properties. WWW-dokument 2013-06-14: <http://echa.europa.eu/documents/10162/1b26b219-6783-4981-9acf-154d620937b4>. Hämtad 2013-11-18
- Falandysz J, Taniyasu S, Yamashita N, Rostkowski P, Zalewski K, Kannan K. 2007. Perfluorinated compounds in some terrestrial and aquatic wildlife species from Poland. *Journal of Environmental Science and Health*, **42**: 715-719.
- Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J. 2008. Prenatal exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS) and maternally reported developmental milestones in infancy. *Environmental Health Perspectives* **116**: 1391-1395.
- Florentin A, Deblonde T, Diguio N, Hautemaniere A, Hartemann P. 2011. Impacts of two perfluorinated compounds (PFOS and PFOA) on human hepatom cells: Cytotoxicity but no genotoxicity? *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **214**: 493-499.
- Guruge K.S, Yeung L.W.Y, Yamanaka N, Miyazaki S, Lam P.K.S, Giesy J.P, Jones P.D, Yamashita N. 2005. Gene expression profiles in rat liver treated with erfluorooctanoic acid (PFOA). *Toxicological Sciences* **89**: 93-107.

- Hagenaars A, Vergauwen L, Benoot D, Laukens K, Knapen D. 2013. Mechanistic toxicity study of perfluorooctanoic acid in zebrafish suggest mitochondrial dysfunction to play a key role in PFOA toxicity. *Chemosphere* **91**: 844-856.
- Han Z, Liu Y, Wu D, Zhu Z, Chunxia L. 2012. Immunotoxicity and hepatotoxicity of PFOA and PFOA in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chinese Journal of Geochemistry* **31**: 424-430.
- Hart K, Kannan K, Tao L, Takahashi S, Tanabe S. 2008. Skipjack tuna as a bioindicator of contamination by perfluorinated compounds in the oceans. *Science of the Total Environment* **403**: 215-221.
- Inoue Y, Hashizume N, Yakata N, Murakami H, Suzuki Y, Kikushima E, Otsuka. 2012. Unique physicochemical properties of perfluorinated compound and their bioconcentration in common carp *Cyprinus carpio* L. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **62**: 672-680.
- Jain RB. 2013. Effect of pregnancy on the levels of selected perfluoroalkyl compounds for females aged 17-39 years: Data from National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2008. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **76**: 409-421.
- Jeon J, Kannan K, Lim H.K, Moon H.B, Kim S.D. 2010. Bioconcentration of perfluorinated compounds in blackrock fish, *Sebastes schlegeli*, at different salinity levels. *Environmental Toxicology and Chemistry* **29**: 2529-2535.
- Ji K, Kim Y, Oh S, Ahn B, Jo H, Choi K. 2008. Toxicity of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid on freshwater macroinvertebrates (*Daphnia magna* and *Moina macrocopa*) and fish (*Oryzias latipes*). *Environmental toxicology and chemistry* **27**: 2159-2168.
- Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Oehme G, Focardi S, Giesy J.P. 2002. Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean seas. *Environmental Science & Technology* **36**: 3210-3216.
- Kemikalieinspektionen. 2011. Perfluorerade ämnen (PFOS, PFOA med flera). WWW-dokument 2013-07-31: <http://www.kemi.se/Innehall/Fragor-i-fokus/Perfluorerade-amnen-PFOS-PFOA-med-flera/>. Hämtad 2013-11-14.
- Kemikalieinspektionen . 2009. Högfluorerade ämnen i kläder, skor och kemiska produkter – ett tillsynsprojekt –. WWW-dokument 2009-08: http://www.kemi.se/Documents/Publikationer/Trycksaker/PM/PM4_09_Hogfluorerade.pdf?epslanguage=sv. Hämtad 2013-11-12.
- Kemikalieinspektionen. 2006. Perfluorerade ämnen- användningen i Sverige. WWW-dokument 2006-11: http://www.kemi.se/Documents/Publikationer/Trycksaker/Rapporter/Rapport6_06.pdf?epslanguage=sv. Hämtad 2013-11-12.
- Kim W-K, Lee S-K, Jung J. 2010. Integrated assessment of biomarker responses in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to perfluorinated organic compounds. *Journal of Hazardous Materials* **180**: 395-400.
- Kissa E. 2001. Physical and chemical properties. Fluorinated. *Texter J* [red.]. Surfactants and repellents, ss. 80-102. Marcel Dekker, INC, New York.
- Kristensen SL, Ramlau-Hansen CH, Ernst E, Olsen SF, Bonde JP, Vested A, Halldorsson TI, Becher G, Haug LS, Toft G. 2013. Long-term effects of prenatal exposure to perfluoroalkyl substances on female reproduction. *Human Reproduction* **28**: 3337-3348.
- Kowalczyk J, Ehlers S, Fürst P, Schafft H, Lahrssen-Wiederholt M. 2012. Transfer of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanate sulfonate (PFOS) from contaminated feed into milk and meat of sheep: pilot study. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **63**: 288-298.

- Kudo N, Kawashima Y. 2001. Effects of perfluorooctanic acid on the synthesis of phospholipids in the liver of mice fed a dietary soybean oil, perilla oil or fish oil. *Journal of Health Science* **47**: 168-174.
- Li N, Ragheb K, Lawler G, Sturgis J, Rajwa B, Melendez J.A, Robinson J.P. 2002. Mechanisms of signal transduction: Mitochondrial complex I inhibitor rotenone induces apoptosis through enhancing mitochondrial reactive oxygen species production. *The Journal of Biological Chemistry* **278**: 8516-8525.
- Liu C, Du Y, Zhou B. 2007. Evaluation of estrogenic activities and mechanism of action of perfluorinated chemicals determined by vitellogenin induction in primary cultured tilapia hepatocytes. *Aquatic Toxicology* **85**: 267-277.
- Martin JW, Mabury SA, Solomon KR, Muir DCG. 2003. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **22**: 196-204.
- Melzer D, Rice N, Depledge MH, Henley WE, Galloway TS. 2010. Association between serum perfluorooctanoic acid (PFOA) and thyroid disease in the U.S. National health and nutrition examination survey. *Environmental Health Perspectives* **118**: 686-692.
- Mortensen AS, Letcher RJ, Cangialosi MV, Chu S, Arukwe A. 2011. Tissue bioaccumulation patterns, xenobiotic biotransformation and steroid hormone levels in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a diet containing perfluorooctane sulfonic of perfluorooctane carboxylic acids. *Chemosphere* **83**: 1035-1044.
- Nakata H, Kannan K, Nasu T, Cho H-S, Sinclair E, Takemura A. 2006. Perfluorinated contaminant in sediments and aquatic organisms collected from shallow water and tidal flat areas of the Ariake Sea, Japan: Environmental Fate of Perfluorooctane Sulfonate in Aquatic Ecosystems. *Environmental Science & Technology* **40**: 4916-4921.
- Nania V, Pellegrini GE, Fabrizi L, Sesta G, De Sanctis P, Lucchetti D, Di Pasquale M, Coni E. 2009. Monitoring of perfluorinated compounds in edible fish from the Mediterranean Sea. *Food Chemistry* **115**: 951-957.
- Oakes KD, Sibley PK, Solomon KR, Mabury SA, Van Der Kraak GJ. 2004. Impact of perfluorooctanoic acid on fathead minnow (*Pimephales promelas*) fatty acyl-coA oxidase activity, circulating steroids, and reproduction in outdoor microcosms. *Environmental Toxicology and Chemistry* **23**: 1912-1919.
- Raymer JH, Michael LC, Studabaker WB, Olsen GW, Sloan CS, Wilcosky T, Walmer DK. 2012. Concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) and their associations with human semen quality measurements. *Reproductive Toxicology* **33**: 419-427.
- Takagi S, Adachi F, Miyano K, Koizumi Y, Tanaka H, Watanabe I, Tanabe S, Kannan K. 2011. Fate of perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate in drinking water treatment processes. *Water Research* **45**: 3925-3932.
- Tyrrell J, Melzer D, Henley W, Galloway TS, Osborne NJ. 2013. Associations between socioeconomic status and environmental toxicant concentrations in adults in the USA: NHANES 2001-2010. *Environmental International* **59**: 328-335.
- U.S. Environmental Protection Agency. 2012. Perfluorooctanoic acid (PFOA) and fluorinated telomers. WWW-dokument 2012-09-17: <http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/pfoainfo.html> . Hämtad 2013-11-11.
- Vested A, Ramlau-Hansen CH, Olsen SF, Bonde JP, Kristensen SL, Halldorsson TI, Becher G, Haug LS, Ernst EH, Toft G. 2013. Associations of *in utero* exposure to perfluorinated alkyl acids with human semen quality and reproductive hormones in adult men. *Environmental Health Perspectives* **121**: 453-458.
- Wei Y, Dai J, Liu M, Wang J, Xu M, Zha J, Wang Z. 2007. Estrogen-like properties of perfluorooctanoic acid as revealed by expressing hepatic estrogen-responsive genes in

rare minnows (*Gobiocypris rarus*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **26**: 2440-2447.