UPPSALA
UNIVERSITET

Högfluorerade kemikaliers påverkan på fertilitet och reproduktion

Marcus Österkrans

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2016
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Högfluorerade kemikaliers påverkan på fertilitet och reproduktion

Marcus Österkrans

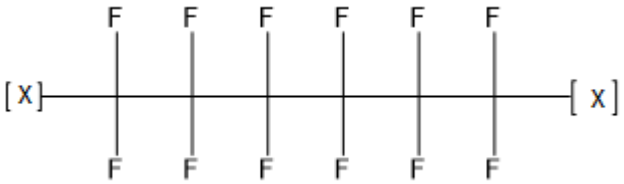
Självständigt arbete i biologi 2016

Sammandrag

Högfluorerade kemikalier (PFAS) är kolkedjor där väteatomerna helt eller delvis blivit ersatta av fluoratomer. Kemikaliernas starka kol-fluorbindningar gör att de blir väldigt stabila och motståndskraftiga mot degradering. Tack vare detta blir de väldigt persistenta och stannar kvar i miljön och i organiska vävnader under en lång tid. Det har spekulerats kring att PFAS är hormonstörande, påverkar fertilitet, storlek på avkomman, antalet spermier och spermiemorfologi. Genom studier på modellorganismer och primater så har även flera andra negativa påverkningar observerats dock inte hos människan. Korrelationerna mellan de skadliga effekterna och PFAS går inte alltid att bevisa. Några har uppvisat en befintlig eller svag korrelation: förändrad spermiemorfologi, störning av endokrina hormoner, påverkning på östrogen- och menstruationscykeln. Överföring av PFAS från mamma till barnet i livmodern och senare genom bröstmjölken visades vara de primära exponeringarna för barn vid tidig ålder. Det behövs mer forskning kring hur PFAS påverkar fertiliteten och hälsan hos människor, och dess persistens i miljön behöver undersökas mer för att få en bättre bild av hur PFAS sprids globalt.

Inledning

Högfluorerade kemikalier är kolkedjor som helt eller delvis är bundna till fluoratomer. PFAS är ett samlingsnamn som vanligt används för att inkludera alla högfluorerade kemikalier. PFAS står för per- och polyfluorerade alkylsubstanser, och kommer hädanefter förkortas PFAS. Under PFAS finns det två undergrupper: perfluorerade kemikalier och polyfluorerade kemikalier. Perfluorerade kemikalier är en fullständigt fluorerad kolkedja, den har alltså en kolkedja med enbart fluoratomer bundna till sig. Polyfluorerade kemikalier är delvis fluorerade kolkedjor och har fortfarande väteatomer bundna. Själva längden på kolkedjan kan variera och kolkedjan har oftast en funktionell grupp som även den kan variera, för generell strukturformel av PFAS se figur 1. Detta ger upphov till en stor variation bland PFAS. De kan genomgå förändringar i den hydrofila änden av molekylen, så att den funktionella gruppen ändras och då kan en PFAS förvandlas till en annan. De är alla framställda av människan och förekommer inte naturligt i miljön (Ressner *et al.* 2016).



Figur 1. Den generella strukturen för PFAS. X symboliserar att kolkedjan kan variera i längd, även den funktionella gruppen som normalt skrivs på höger sida kan variera beroende på kemikalie.

PFAS har hittats i miljön, i djur och i människan. Detta beror på att de ackumuleras i vatten och jord och sedan förs vidare in i näringskedjan (Huang *et al.* 2010). Deras närvaro i miljö och människa är en del av ett större kretslopp, där PFOS är den mest välkända slutprodukten av PFAS (Kannan *et al.* 2004). PFAS, till skillnad från andra kemikalier som till exempelvis bromerade och klorerade ämnen, är mycket stabila (Xu *et al.* 2004).

PFAS sprids oftast genom vatten, men vissa har iakttagits att ha en sådan flyktighet att de kan spridas med vinden. Spridning genom vatten och vind förklarar förekomsten av PFAS där ingen produktion sker, exempelvis till Arktis. Bindning till mineraler eller ackumulering i djur är också sätt som de vanligtvis sprids på. De skador som observerats som PFAS kan orsaka är nedsatt fertilitet, påverkan på kroppsvikten, försämrad tillväxt, påverkan på hormonnivåer, förändrade nivåer av lipidmetabolism samt skador och utvecklingsstörning på foster. Även neurologiska effekter, nedsatt immunförsvar, och att de är cancerframkallande, är ytterligare skador som man misstänker att PFAS kan orsaka. På grund av att det är ett relativt nytt forskningsområde där det finns för lite toxikologisk data, blir det svårt att dra några slutsatser om hur farliga de egentligen är (Ressner *et al.* 2016, Fei *et al.* 2009).

Det finns många faktorer som PFAS tros påverka. Denna studie är mer inriktad på vilka skador som PFAS åstadkommer på fertilitet och reproduktion. Men även data från flera länder som behandlar PFAS koncentration i blodserum kommer tas upp för att försöka ge en bild över hur utspridd PFAS är globalt. Labbexperiment som behandlar Zebrafisken (*Danio rerio*) är också intressanta för att deras embryologiska stadier är välkända, och att de är vertebrater med transparenta embryon. Fördelen med att de är vertebrater är till exempelvis att de har genetiska likheter med oss och det transparenta embryot gör det lättare att följa deras fosterutveckling (Huang *et al.* 2010). Det primära syftet med denna studie är att presentera de skador som PFAS kan åstadkomma på människan med hänsyn till fertilitet och reproduktion.

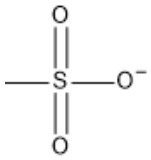
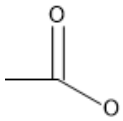
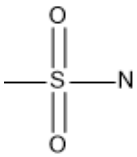
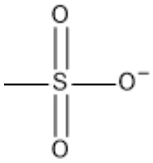
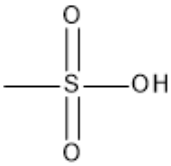
Kemiska egenskaper och produktion

Förr ansågs PFAS vara biologiskt inaktiva och därför utgöra en mindre skaderisk för människa och miljö. Klorerade och bromerade kemikalier har därför studerats mer. En annan anledning till att de fått mindre uppmärksamhet är att de är svårare att analysera och svårare att separera från organiska vävnader. För analys krävs det speciella kromatografi- och masspektrometrimetoder (Giesy & Kannan 2001). Vanligtvis används high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS) (Fei *et al.* 2007). Anledningen till att de varit så populära inom produktion är de egenskaper som PFAS har. Kol-fluorbindningen är en av de starkaste bindningarna som finns. Dess elektronegativa laddning skapar ett skyddande hölje runt de svagare bindningarna i molekylen, och ger även molekylen förmågan att dra åt sig elektroner. Den kan också motstå syra-basreaktioner och UV-ljus har inte heller någon påverkan på molekylen. PFAS har en hydrofob och en hydrofil ände vilket gör att de har förmågan att stöta bort både vatten och olja. Detta leder till att de oftast lägger sig i ett gränsskikt mellan ett fast och ett lösligt medium (Ressner *et al.* 2016).

PFAS har en lång nedbrytningstid på grund av sina starka kol-fluorbindningar och kan finnas kvar i naturen länge. Det finns indikationer på att PFAS som används för kommersiellt bruk är mer långlivade och stabila vid utsläpp i naturen (Giesy & Kannan 2001). Exponering för PFAS sker främst genom oralt intag, inhalering eller hudexponering (Fei *et al.* 2007). Metabolism och eliminering i naturen har ännu inte karaktäriserats, men man vet att PFAS ackumuleras i den högsta trofinivån (Huang *et al.* 2010). Dess ursprung härleds från karboxylater, sulfonater och fosfonater. De som förekommer mest är: perfluorooktanesulfonate (PFOS), perfluorooktanoate (PFOA), perfluorohexanesulfonate (PFHxS), perfluoroktansulfonamid (PFOSA), perfluorbutansulfonsyra (PFBS) och perfluorerade alkylsyror (PFAA) (Sundström *et al.* 2011). Tabell 1 visar de funktionella grupper och längden på kolkedjan för alla nämnda PFAS förutom PFAA som är en klassifikation av en vis undergrupp inom PFAS.

Det finns två olika sätt att producera PFAS. Perfluoroktan- sulfonsyra (PFOS) med flera produceras genom elektrokemiskfluorering, där en elektrisk ström används för att fluorera tillsatta kolkejdor. Här kan förgrenade isomerer och andra homologer skapas under en icke-selektiv process. Den andra väl använda processen kallas telomerisation där tetrafluoretyl reagerar med perfluoralkylioder för att skapa olika typer av intermediära fluorerade molekyler. Detta ger inte upphov till några isomerer eller homologer (Fromme *et al.* 2009). PFAS har använts i stor utsträckning från 1950-talet och framåt inom industriella och kommersiella områden. De förekommer vid tillverkning av ytaktiva medel, smörjmedel, vax, glansmedel, lim, anti-korrosionsmedel, fläckborttagning, skum för brandsläckare, papperstillverkning och insektsmedel (Xu *et al.* 2004).

Tabell 1. Olika högfluorerade kemikalier (PFAS). Antal kol och funktionell grupp visas. Kolkedjan börjar vid den vänstra bindningen.

Kemikalie	Antal kol	Funktionell grupp
PFOS	8	
PFOA	8	
PFOSA	8	
PFHxS	6	
PFBS	4	

Längd på kolkedjan påverkar persistens

Längden på kolkedjan avgör hur långlivad den är i naturen och även till en stor del dess elimineringstid ur kroppen. Dess starka kol-fluorbindningar gör den långlivad och längden på kolkedjan har en proportionell styrka att binda till partiklar i jorden, där en lång kolkedja binder starkare. PFAS har en tendens att lägga sig mellan ett fast och ett lösligt medium på

grund av sin kombination av en hydrofil- och hydrofob ände. De kortkedjade har visats befinna sig mest i vattenfasen och de långkedjade har en större tendens att ackumuleras i djur och jord (Ressner *et al.* 2016). PFAS ansamlas i kroppen genom att de binder till proteiner i blodet och proteinrika ytor på utsatta organismer. En längre fluorerad kolkedja har generellt sett en längre elimineringstid (Glynn *et al.* 2012). Längre elimineringstid innebär att de har en förmåga att ackumulera snabbare under en period av längre exponering, vilket innebär att de tar en längre tid att få ur kroppen när exponering har upphört (Zhang *et al.* 2013).

Utfasning av långkedjade PFAS
De största företagen som tillverkar produkter relaterade till PFAS fasade ut PFOS från sin produktion mellan åren 2000-2002 och den ersättes av en annan PFAS, den heter PFBS som har kortare kolkedja. Detta leder till en kortare halveringstid i människan vilket innebär att PFBS elimineras snabbare ur kroppen och därför inte ackumuleras i en stor mängd. Därför tror man att PFAS med korta kolkedjor är säkrare att använda (Glynn *et al.* 2012).

Samband mellan utfasning och minskning i blodserum av långkedjade PFAS
Långkedjade PFAS kan brytas ner till PFAA både i kroppen och i miljön. Dessa alkylsyror bryts inte ned till någon annan produkt utan tar en lång tid att eliminera ur kroppen. Det kan finnas ett sammanband mellan mängden av blodproteinet albumin och mängden PFAA i blodet, eftersom att PFAA (och andra PFAS) kan binda till albumin. Albumin tros vara en viktig faktor för hur mycket PFAS som kan ackumuleras i blod. För att titta närmare på detta så gjorde Glynn *et al.* (2012) en studie där 413 kvinnor från Uppsala län lämnade in prov med blodplasma (Glynn *et al*. 2012).

Studien ägde rum mellan 1996-2010 och syftet var att se om utfasningen 2000-2002 visade någon skillnad i koncentration av PFAS med långa respektive korta kolkedjor. Studien visade att mängden PFAS med korta kolkedjor ökade i kvinnornas blodserum efter 2002. Regressionsanalyser visade en dubblering av korta PFAS vart sjätte år. Med avseende på halveringstid så har PFAS med korta kolkedjor en positiv effekt jämfört med de som har längre kolkedjor. För korta kolkedjor uppskattas halveringstiden till ungefär en månad medan de längre kedjorna har en betydligt längre tid, till exempelvis PFOS som har 4-5 år. Det finns indikationer som visar att minskningen av PFOS i Sverige, Norge och USA faktiskt berodde på företagens utfasning. Produktionen av PFOS-kemikalier fortsätter dock i Sydostasien, vilket kan vara anledningen till att exponering av PFOS ökar i Kina. Det finns hypoteser att både albumin och PFAA minskar under graviditeten, men i studien framkom ingen signifikant korrelation. Avslutningsvis visar studien att PFAS med långa kolkedjor har minskat i USA och Nordeuropa samtidigt som de med korta kolkedjor har ökat (Glynn *et al.* 2012).

PFAS i Sverige

Den huvudsakliga kontamineringskällan för PFAS i Sverige är förorenat dricksvatten, men även animaliska matprodukter är en källa. De mest förekommande fluorerade kemikalierna i Sverige är PFOS, PFOA och PFHxS. Av 236 prover från dricksvatten så kunde PFOS och PFOA detekteras i 22 stycken vattenprover. Både Svenska och Europeiska studier visar att halten fluorerade kemikalier i dryckesvatten i allmänhet är låg (under 10 ng/L). I Uppsala var Ärna länge i bruk som flygbas för militären där PFOS, PFOA och PFHxS släpptes ut i grundvattnet genom användningen av brandskum. De halter som uppmättes i Ärna går att se i tabell 2. En annan analys gjordes vid Arlanda flygplats där det hittades större halter, som går att se i tabell 3 (Ressner *et al.* 2016).

Tabell 2. Halter av PFOS, PFOA och PFHxS vid Ärna flygplats. Data tagen från Ressner *et al.* (2016). Uppmättes år 2012.

	Grundvatten	Dricksvatten (ng/L)
PFOS	1300	198
PFOA	96	11
PFHxS	590	79

Tabell 3. Halter av PFOS, PFOA och PFHxS vid Arlanda flygplats. Data tagen från Ressner *et al.* (2016). Uppmättes år 2015.

Kemikalie	(ng/L)
PFOS	2340
PFOA	980
PFHxS	210

Blodserum från flera länder

En studie som analyserade blodet från flera länder visade att PFOS var den PFAS som förekom mest i mänskligt blodserum. 473 blodprover från länderna USA, Polen, Colombia, Brasilien, Belgien, Italien, Indien, Malaysia och Korea analyserades. Koncentrationen var som högst i USA och Polen där den uppmättes till 30 ng/mL. De andra hade lägre koncentrationer som låg mellan 29 -3 ng/mL. Ingen skillnad beroende på ålder eller kön kunde ses i studien. En tidigare studie av Olsen *et al*. (2003) visade en liknande medelkoncentration från USA på cirka 35 ng/mL (Kannan *et al*. 2004).

De insamlade proven kommer från vissa utvalda städer och är inte nödvändigtvis representativa för sina respektive länder. Insamlingen av proven var slumpmässig och kom från en mångfaldig grupp med olika fall av tidigare exponering. PFOSA har hittats i blodserum i USA, det är en produkt som deriveras från nedbrytningen av N-metyl och N-etyl-perfluoroktansulfatamidetanol. Den används inom olika områden, främst ytbehandlingsmedel och textilbehandling; kan också deriveras från ett insektbekämpningsmedel (sulfuramid). PFOSA kan sedan i sin tur brytas ned till PFOS i blodet (Kannan *et al.* 2004).

Långkedjade PFAS i Kina

I Europa och Nordamerika har produktionen av PFOS-relaterade produkter avslutats men i Kina så fortsätter den och produktionen snarare ökar. Den fortsätta användningen av PFAS med långa kolkedjor förväntas ge en högre koncentration i blodserum hos kinesiska medborgare. Forskningen inom PFAS är otillräcklig i Kina och den första studien gjordes under 2000-talet av Jin *et al.* (2003). För att få en bättre bild över den geografiska spridningen av PFAS gjorde Yeung *et al.* (2006) en studie där 85 prov från nio städer: Shenyang, Beijing, Zhengzhou, Jintan, Wuhan, Zhoushan, Guiyang, Xiamen, och Fuzhou analyserades. Jin *et al.* (2003) hittade tidigare en koncentration på 5 – 145 ng/mL i staden Shenyang, jämfört med den nyare studien då 79 ng/mL hittades i samma stad. Kina har visat den högsta koncentrationen av PFAS jämfört med andra länder. En korrelation hittades i närvaron mellan PFOS/PFHxS. PFOS är en slutmetabolit av många PFAS produkter och PFHxS är en metabolit som förekommer som en oren restprodukt. Därför har båda en liknande förekomst i

länder där långkedjade PFAS fortfarande används inom produktionen (Yeung *et al.* 2006).

Framtidens brandskum med kortare kolkedjor
De äldre modellerna av brandsläckningsskum innehåller mer utav de farligare långkedjade PFAS, nya brandsläckningsskum innehåller istället PFAS med kortare kolkedjor. Kortkedjade anses mer vänliga ur miljö- och hälsoperspektiv eftersom att de har en kortare elimineringstid och inte ackumuleras i samma mängd i kroppen som de långkedjade gör. Kemikalieinspektionen anser att alla högfluorerade kemikalier bör behandlas inom samma grupp eftersom mer utsläpp av de kortkedjade kan fortsätta att förstärka de risker som redan finns. De kortkedjade har kortare elimineringstid ur kroppen men de är fortfarande lika stabila och långlivade ute i naturen. Det finns ett starkt behov av fler fluorfria brand-släckningsskum och som det ser ut just nu så säger till exempelvis Försvarsmakten att det inte finns någon pålitlig ersättare mot deras nuvarande fluorerade brandskum. De nuvarande icke-fluorerade brandskummen är helt enkelt inte tillräckligt effektiva (Ressner *et al.* 2016).

PFAS i människan

Enligt de flesta studier så är PFOS, PFOA och PFHxS de PFAS som är mest etablerade i naturen och har länge ansetts som de mest farliga för människan. Halveringstiden för de tre har uppskattats till olika estimeringar beroende på graden av exponering. Tabell 4 visar halveringstiden inuti människan för normalt exponerade människor och pensionerade fabriksarbetare som har en större exponering. De flesta PFAS och de derivat som leder till dess sönderfall fasades som tidigare nämnt ut av de största företagen mellan åren 2000-2002. Dessutom så blev PFOA utfasat år 2015. Deras konstanta närvaro i människan och dess långa halveringstid har lett till mer forskning kring dem, speciellt om exponering vid tidig ålder. Från modern misstänks den större delen av PFAS komma till fostret genom amning och placentan i livmodern (Sundström *et al.* 2011, Olsen *et al*. 2007).

Tabell 4. Halveringstid (antal år). De normalt exponerade är svenska medborgare och fabriksarbetarna är amerikanska. Data från (Sundström *et al.* 2011, Olsen *et al.* 2007).

	Normalt exponerade	Fabriksarbetare[a]
Insamlingsår	1972 – 2008	1999 – 2004
PFOS	4,8	5,4
PFOA	3,5	3,8
PFHxS	7,5	8,5

[a] Arbetare vid produktion av högfluorerade kemikalier.

Eliminering av PFAS från människan
PFAS har rapporterats orsaka problem med fosterutveckling i livmodern och lipidmetabolism. I en studie gjord av Fei *at el.* (2007) valde de slumpmässigt ut 1400 danska kvinnor och deras barn. Ryggmärgsprov togs på 146 av de barnen, och en lägre koncentration hittades av PFOS i fostrets ryggmärgsvätska än i mammans blodserum. Syftet med studien som Fei *et al.* (2007) gjorde var att studera ifall det fanns någon koppling mellan koncentrationen av PFOA, koncentrationen av PFOS, vikten på fostret samt om barnet var för tidigt eller för sent fött. PFOA koncentrationen i ryggmärgsvätskan var mer lik den i serumet, vilket antyder att PFOA lättare tar sig över placentan än vad PFOS gör. Placentan är en skyddsbarriär som separerar fostrets blod från mammans blod, men ändå låter näringsämnen ta sig över. Den har länge

ansetts filtrera bort de flesta skadliga kemikalier men den är kanske inte lika effektiv som man tidigare har trott (Fei *et al.* 2007).

Ingen signifikant skillnad gick att se på mängden PFOS/PFOA och dess koppling till längden på graviditeten. Medelkoncentrationen för PFOS (35,3 ng/mL) är högre än det för PFOA (5,6 ng/mL). PFOS-värdet liknar det från USA som Kannan *et al.* (2004) rapporterade in, vilket var 31,2 ng/mL. PFOS och PFOA produceras inte längre i Europa eller Amerika, men det gör det i Asien vilket gör att dessa långkedjade PFAS kontinuerligt kommer att fortsätta tillföras till naturen, samt att de redan finns kvar sedan tidigare (Fei *et al.* 2007).

För kvinnor är menstruation, graviditeten och amning de tre primära sätten för eliminering av PFAS. Eliminering genom urinen fungerar för både män och kvinnor. Det framkom att eliminering genom urin blev mer osäker när kolkedjan i molekylen blev längre (Zhang *et al*. 2013). Kolkedjor som är sex till tio kolatomer långa har en lägre elimination genom urin (Yang *et al.* 2009). Hår- och nageltillväxt har spekulerats fungera som eliminering men inte till en stor grad, beroende på att PFOA eller PFHxS inte har upptäckts i varken naglar eller hår. PFHxS är svårare att eliminera genom urin än PFOS, trots att PFHxS har en kortare kolkedja än vad PFOS har. Detta är en fysikalisk egenskap av PFHxS som hittills inte kunnat förklaras (Zhang *et al.* 2013).

PFAS – bindning till blodproteiner och fettsyror

PFOS, PFHxS och PFOA påvisades vara starkt bundna i blodplasma från råttor, apor och människor vid en koncentration över 1-500 pg/mL. När de inkuberades med plasmaproteiner (proteiner i blodplasman) så band de alla tre väldigt starkt. Vissa band till globuliner och andra till transferriner, två olika familjer av plasmaproteiner som fyller olika roller, som till exempel transport eller blodkoagulering (Olsen *et al*. 2007). Som tidigare nämnts kan PFAS också binda till proteinet albumin (Glynn *et al*. 2012). En bindningsaffinitet för fettsyre-bindningsytor har också visats, PFOS och PFOA har visats konkurrera om dessa ytor mot lever-fettsyror (Olsen *et al*. 2007). De observerade effekter som PFOS ger hos råttor och primater (ej människor inräknat) är minskad kroppsvikt, lägre kolesterol-koncentration i blodserum och tyngre lever. Inga sammanband mellan PFOS i människan och långvarande toxiska effekter har hittills dragits. PFOS har också rapporterats orsaka onormala nivåer av lipider i kroppen, störningar i gap-junction kommunikation mellan celler och ökad permeabilitet av cellmembran (Xu *et al*. 2004). Studien av Olsen *et al.* (2007) visar att människor är mycket långsammare på att eliminera PFAS ur kroppen jämfört med möss, kaniner och långsvansade makaker (*cynomolgus*). Makakerna och mössen hade en elimineringshalvtid på 14-40 dagar, medan kaninernas elimineringstid var bara på några timmar. Varierande exkretioner från gallblåsan och återupptagning av näring i tarmarna kan påverka resultaten (Olsen *et al*. 2007).

Blodserum som analysmetod i Sverige

Att använda blodserum för att studera förekomsten av PFAS är den bästa metoden för att få en global bild över dess utspridning. En svensk studie av Sundström *et al.* (2011) hade målet att studera mjölkprov från 1972 – 2008; det är den period som vi antagligen utsattes för mest PFOS, PFOA och PFHxS samt fem år efter de större företagens utfasning. Under de undersökta åren så var det oftast PFOS som var mest närvarande, det hade ungefär dubbelt så hög koncentration jämfört med PFOA och elva gånger högre än PFHxS. En ökande trend av närvaro i bröstmjölken gick att se mellan 1972 och 1990. Trenden minskade och började sjunka vid 2001 och fortsätter sedan att plana nedåt till 2008. De högsta koncentrationerna

mättes upp i slutet av 90-talet. Hypotesen som Sundström *et al*. (2011) hade var att koncentrationerna i bröst-mjölken skulle likna koncentrationerna som fanns i blodserum under dessa år. Överföring av PFAS genom bröstmjölk från mamman till barnet har bekräftats. I en råttas bröstmjölk så har koncentrationen observerats vara tio gånger lägre än vad den är i mammans blodserum. De bakomliggande mekanismerna för hur PFAS tar sig från mamman till avkomman är inte kartlagda (Kannan *et al.* 2004).

En studie gjord av Kärrman *et al*. (2007) undersökte sambanden mellan koncentrationen i mammans blodserum och koncentrationen i bröstmjölken. Tolv svenska kvinnor som var gravida för första gången lämnade in blodserum och bröstmjölk. Kvinnorna kom från Uppsala, Lund, Göteborg och Lycksele. Åtta olika PFAS hittades i blodserumet där PFOS hade högst koncentration, det återfanns också i alla mjölkprov. Det var en betydligt lägre koncentration av PFOS i bröstmjölken än i blodserum, förhållandet var 0,01:1 (bröstmjölk: blodserum). För de andra kemikalierna var förhållandet lägre eller inte detekterbart. Resultaten visade att det fanns ett sammanband mellan koncentrationen av PFOS i bröstmjölk och blodserum. Medel-koncentrationerna är liknande de som rapporterats in tidigare i Sverige, även likt värden från Kanada och Australien (Kärrman *et al.* 2007).

Vissa PFAS (främst PFOSA) kan gå förlorade vid separeringen av blodceller när serumet renas. De kan degraderas till andra PFAS vilket påverkar dessa tester negativt eftersom koncentrationen blir lägre, vilket gör att de kan hamna utanför detektionsgränsen. Anledningen till att koncentrationen är lägre i bröstmjölk än i blodserum är inte känd, men det kan vara relaterat med den högre lipidkoncentrationen som finns i bröstmjölken. Proteinet albumin har visats ha en stark affinitet att binda till PFOA i blodserum, men detta har inte uppvisats i bröstmjölk. I mjölk har det visats att det kan binda på minst två olika sätt, till mjölkproteiner eller till ytan av lipider. Mängden lipider varierar inte så mycket över tid men det gör proteinerna, därför krävs det vissa estimeringar vid beräkning om hur mycket PFAS som förs vidare till barnet (Kärrman *et al.* 2007).

Det har observerats att kvinnor har lägre koncentrationer i blodet än män, det har spekulerats om detta beror på att kvinnor eliminerar PFAS genom bröstmjölken och över placentan i graviditeten vilket män inte kan göra. PFAS har funnits i Sveriges miljö sedan 1968. År 2001 beslutades det att de ska fasas ut. På grund av kemikaliernas stabila struktur så kommer det finnas kvar i miljön länge. Koncentrationen PFAS i mänsklig bröstmjölk motsvarar ungefär 1 % av den mängd som finns i blodserum. Denna studie visar att ungefär 200 ng PFAS kan överföras från en ammande mamma till sitt barn, det behövs mer forskning kring barnets upptagning och mammans eliminering för att kunna dra en säker slutsats (Kärrman *et al.* 2007).

Sundström *et al.* (2011) kunde dra samma slutsats som Kärrman *et al* (2007), att det finns en korrelation mellan blodserum och bröstmjölk. De visar hur viktigt det är att föra en löpande forskning under flera år med insamling av prov på blodserum och bröstmjölk (Sundström *et al.* 2011).

PFAS påverkan på avkomma och fertilitet

Flera studier på möss, råttor och kaniner har visat att exponering för PFAS i livmodern är kopplat till lägre vikt på avkomman. Studier har gjorts på människan också men inga sammanband till exponering av PFAS har kopplas till lägre vikt på avkomman. Samtidigt har andra studier inte visat några kopplingar alls. De två kemikalier som låg i fokus i studien

gjord av Stein *et al.* (2009) var PFOS och PFOA, ingen av de två visade sig vara relaterade till missfall. Tillståndet preeklampsi (eller graviditetstoxikos) är ett tillstånd där både modern och barnet får ett förhöjt blodtryck och en större mängd proteiner i urinen. Detta kan även leda till lägre mängd röda blodkroppar, samt nedsatt funktion hos levern och njurarna. PFOS och PFOA visades ha en svag korrelation med preeklampsi när exponeringen överskred exponeringsmedianen. PFOA hade ingen korrelation med för tidig födsel men PFOS hade en svag korrelation. Sammanfattningsvis så har en svag eller ingen korrelation hittats mellan PFAS och påverkan på avkomman (Stein *et al*. 2009).

Hormonstörningar och försämrad spermiekvalité

PFAA misstänks kunna ha störande effekter på endokrina hormoner. De PFAA som har undersökts av Fei *et al.* (2009) och Joensen *et al.* (2009) är PFOA, PFOS och PFHxS. De biologiska mekanismer som PFAS använder för att försämra fertiliteten är inte kända, men det har hypotiserats att de kan påverka den hormonella kommunikationen mellan hypotalamus och äggstockarna. De tros kunna orsaka oregelbundna menstruationer, oregelbundna östrogen-cyklar och för tidig ägglossning (Fei *et al.* 2009). Det misstänks finnas ett samband mellan exponering för PFAA och försämrad spermiekvalité. I studien gjord av Fei *et al.* (2009) så mättes koncentrationen av PFOA och PFOS i blodplasman från kvinnor i Danmark med en medelålder på 30,6 år; mätningen skedde under graviditeten mellan vecka 4-14. Mängden PFAS var som högst i början av graviditeten och lägre senare eftersom kemikalierna överfördes till barnet i livmodern. Ingen signifikant korrelation gick att se mellan PFOA eller PFOS och dess koppling till förändringar i menstruationscykeln och förlossning, men kan förklara skillnader man ser på längden av förlossning i utvecklade länder (Fei *et al* 2009).

PFAA har spekulerats kunna störa hyperplasi vilket är en massiv celldelning av en typ av cell. Det har inte bevisats att PFAA kan störa hyperplasi, men om så vore fallet så kan det vara en anledning till att antalet spermier sjunker när de utsätts för en större exponering av PFAA (Joensen *et al.* 2009). Kvalitén på mannens spermier kan ha en påverkan på fertilisering. Koncentrationer av PFAA i bägge partner är ofta lika eftersom att de bor på samma plats och har liknande livsstilar. Med hänsyn till boplats och livsstil så kan man dra slutsatsen att det kan ha en negativ effekt ifall de båda har en hög koncentration av PFAA (Fei *et al.* 2009). De mekanismer som PFAA använder för att fungera som en endokrin hormonstörare är inte kända men det tros dock att morfologin på spermierna påverkas mer än antalet spermier. Inom de frågor som rör fertilitet hos män så har morfologi visat sig vara viktigare än antalet spermier, då morfologin är en bättre egenskap att observera vid bestämning av kvalitén (Joensen *et al.* 2009).

I studien gjord av Joensen *et al.* (2009) så lämnade män (med en medelålder på 19 år) från Danmark in spermieprover. I proven undersöktes tio olika PFAA, alla tio återfanns men bara tre utav dem i en signifikant koncentration: PFOS (24,5 ng/mL), PFOA (4,9 ng/mL) och PFHxS (6,6 ng/mL). Det gick att se en signifikant skillnad mellan män som hade en hög respektive låg halt PFAA, där skillnaden baserades på det totala antalet spermier i förhållande till antalet morfologiskt normala spermier. Forskarna drar slutsatsen att en högre exponering av PFAA leder till en lägre grad av morfologiskt normala spermier. Det är möjligt att fler negativa effekter på spermiekvalité kan finnas, men de fann en negativ korrelation till andra faktorer kring spermiekvalité och PFAA koppling till reproduktiva hormoner (Joensen *et al.* 2009).

Embryologiska studier på Zebrafisk

För att få en bättre bild över framtida konsekvenser som exponering av PFAS kan ge så är det viktigt att studera modellorganismer. Enligt en studie som gjordes av Huang *et al.* (2010) så har det funnits otillräcklig information om hur havslevande organismer påverkas, så det gjordes därför en studie om embryopåverkan hos zebrafisken. Flera negativa effekter hos zebrafisken observerades när de exponerades för en koncentration av PFOS på 0 - 8 mg/L. Detta skedde under 6 till 120 timmar efter fertilisering. De störningar som de såg att PFOS gav upphov till i studien var en icke-uppblåst simblåsa, en böjd ryggrad, ökad puls samt spontana, ofrivilliga rörelser. Celldöd vid ögon- och hjärnregion skedde vid 24 timmar och svansregion vid 72 timmar efter fertilisering. Det var fler celler som begick apoptos i de PFOS-exponerade embryona än i kontroll-embryona vilket förklarar celldöden. Gener som styr apoptos var mindre reglerade i embryon som var exponerade för högre koncentrationer av PFOA, mekanismerna som styr detta är okända. Under en period på 121 timmar efter fertilisering så gick det inte att se några bevis på att PFOS eliminerades ur kroppen. Detta är den första artikeln som fokuserar på de skadliga effekter som PFOS ger zebrafiskar (Huang *et al.* 2010).

PFOS samlas i organismer genom att binda till proteiner i blod- och levervävnad. Det är dock inte alltid som de är delaktiga i metabolismen; hos råttor ansamlas de i levern och stannar där, antagligen på grund av molekylens starka kol-fluorbindningar. Även längre ägg-kläckningsperiod och färre ägg som kläcks har observerats hos Zebrafisk. Exponering ledde också till skador i muskelfibrerna myosin och myotom, det orsakade antagligen den böjning av rygg och svans som observerades i experimentet. Huang *et al*. (2010) anser att ett mer analytiskt tillvägagångssätt för att analysera PFOS krävs för att bestämma effekter på kroppen, eliminering från kroppen, och metabolism. Shi *et al.* (2008) konstaterar att zebrafisken är en bra modellorganism för att testa PFOS-utvecklingstoxikologi (Huang *et al.* 2010, Shi *et al.* 2008).

Diskussion

Sammanfattningsvis så medför användningen av PFAS, åtminstone de med längre kolkedjor, stora risker. Med tanke på nuvarande forskningsunderlag framstår det som att det finns ett flertal potentiellt stora hot i framtiden. Nuvarande problem med störningar i hormonbalansen, fertilitet och utvecklingsskador på foster verkar vara de som står i fokus. Tidsperioden från 1950 till utfasningen 2000-2002 har gett utsläpp till otaliga mängder PFAS i miljön. Vad jag kunde se så har man inte hittills kommit med något konkret svar för exakt hur länge PFAS ligger kvar i miljö. Det beror antagligen på flera faktorer som längden på kolkedjan och det mineral/substrat som de ligger bundna till i jorden. Ackumulering i levande varelser, hav, grundvatten med mera ger även de ett stort tillskott till den totala mängden PFAS som finns i miljön (Ressner *et al.* 2016). Även nu när hela Europa gått över till att sluta använda långkedjade PFAS (till stor del) produceras det fortfarande PFAS relaterade produkter i Asien, som genom ackumulering i djur och hav samt spridning genom vind ändå kan spridas globalt (Fei *et al.* 2009).

För att få ett totalt stopp skulle en världsomfattande reglering samt stöd till utvecklingsländer behövas, så att de kan börja använda mer miljövänliga alternativ. Den här studien har inte behandlat alternativ till PFAS men som en övergångsfas till andra alternativ så går det att använda kortkedjade PFAS som Europa nu har börjat med. Kortkedjade PFAS har som tidigare nämnts en kortare elimineringstid i organiska vävnader vilket leder till att det inte ackumuleras i samma mängd och inte når en farlig koncentration. De kortkedjade har

fortfarande en lång halveringstid i miljön, så från det perspektivet så spelar det mindre roll om de är lång- eller kortkedjade (Glynn *et al.* 2012).

Det finns säkert andra faktorer som påverkar dess persistens i miljön och i organiska vävnader. PFAS har förmågan att samexistera med andra PFAS och kan även få förändrad struktur på den funktionella gruppen vilken får den att omvandlas till en annan. I människan så estimerades elimineringstiden till att vara 4,8; 3,5 och 7,5 år för PFOS, PFOA och PFHxS (Sundström *et al.* 2011). Jämfört med elimineringstiden för PFAS med korta kolkedjor (till exempelvis PFBS) som estimerades till att vara ungefär en månad (Glynn *et al.* 2012). Enligt Glynn *et al*. (2012) så är utvecklingen delvis positiv eftersom mängden kortkedjade har ökat och långa kolkedjor minskat i blodserum sedan företagens utfasning. En studie om pensionerade fabriksarbetare som har haft en större exponering av PFAS än genomsnittet hade en längre elimineringstid, ses i tabell 4 (Olsen *et al.* 2007). Detta visar att elimineringstiden kan variera beroende på grad av exponering, jämfört med data från Sundström *et al.* (2011).

Det gick inte att dra några säkra samband mellan PFOS/PFOA och längden på graviditeten (Fei *et al.* 2007), men det är bekräftat att amning och passering genom placentan är två av de största riskerna för exponering hos foster (Zhang *et al*. 2013, Kannan *et al.* 2004).
Det var en betydligt lägre koncentration i bröstmjölken än i blodserum (koncentrationen i bröstmjölk motsvarar ungefär 1 % av den mängd som finns i blodserum), förhållandet var 0,01:1 (bröstmjölk: blodserum). Mängden som förs över till fostret är betydligt mindre, för det första är det mindre PFAS i bröstmjölken, vilket antagligen beror på att protein-uppsättningen är annorlunda och så binder PFAS inte lika bra bland lipiderna. För det andra är det inte 100 % av PFAS i bröstmjölken som förs vidare till barnet. Mekanismerna bakom detta är inte helt kända och hur mycket mjölk ett barn dricker kan variera. Studien estimerar att mängden PFAS som förs vidare till barnet genom amning är 200 ng (Kärrman *et al.* 2007). Ingen tidsenhet angiven så det får antas att det är den totala mängden. Tillståndet preeklampsi visades ha en svag korrelation med PFOS och PFOA när exponeringen överskred exponeringsmedianen (Stein *et al*. 2009).

Enligt embryologiska studier på zebrafisk så inträffar flera allvarliga effekter som påverkar fitness negativt. PFOS gav celldöd vid ögon, hjärna och svansregion. Även muskelfibrerna myosin och myotom påverkades negativt vilket gav upphov till sämre rörlighet (Huang *et al.* 2010, Shi *et al.* 2008). Ingen av dessa symptomer har hittills uppvisats hos människan. Andra effekter har uppmärksammats hos råttor och primater som minskad kroppsvikt, lägre kolesterol nivåer och en tyngre lever. PFOS misstänks också orsaka fel nivåer av lipider i kroppen, störa gap-junctions mellan celler och öka permeabiliteten hos cellmembran, vilket gör de mer genomträngliga och möjligtvis stör osmos-balansen i celler (Xu *et al*. 2004). Att fortsätta föra studier på modellorganismer och primater kan ge en bra bild över tänkbara negativa effekter som PFAS kan ge på människor.

Slutsats
Ett fortsatt insamlande av blodserum och bröstmjölk är viktigt för att få en bild av hur den globala spridningen för PFAS ser ut (Sundström *et al.* 2011). Biologiska mekanismer som PFAS använder sig utav är inte kända men det misstänks att de kan påverka den hormonella kommunikationen mellan hypotalamus och äggstockarna. Även oregelbundna menstruationer, oregelbundna östrogencyklar och för tidig ägglossning tros vara symptom som påverkas av PFAS exponering. En korrelation gick att se i vissa studier mellan PFAS och dess koppling till hormonell störning, medans andra visade en svag eller ingen korrelation (Fei *et al.* 2009).

Vidare så kan exponering av PFAA leda till försämrad kvalité på spermier. Det misstänks kunna störa hyperplasi men ingen signifikant skillnad gick att se där, men en försämrad celldelning av könsceller kan om det är fallet vara en orsak till sämre fertilitet (Joensen *et al.* 2009).

Sammanfattningsvis anser jag att PFAS är en kemikalie som är tillräckligt farlig för att företag världen runt borde överväga mer miljövänliga och hälsosammare alternativ. Ifall inget alternativ finns så borde de i alla fall övergå till PFAS med korta kolkejdor. Detta är inte en långsiktig lösning eftersom att även de stannar kvar länge i miljön och kan brytas ned och övergå i olika former. Studierna jag har undersökt är överens om att vissa hälsoaspekter som rör fertilitet och rent allmänt försämrad hälsa blir påverkade vid exponering av PFAS, kring vissa undersökningar går ingen stark korrelation att dra. Det behövs mer forskning kring detta för att kasta mer ljus på området; vilket innebär mer insamling av blodserum och mjölkprov. Mer fokus behövs på de mekanismer som ligger bakom PFAS och dess integrering med organisk vävnad men också de mekanismer som sker med icke-organisk vävnad, för att bättre förstå dess persistens i miljön.

Tack

Tack till Monika Schmitz för stöd och handledning. Tack till Lars Höök, Moa Nordin, Alexander Fransson Valen och Gustav Wikström för värdefulla återkopplingar och kommentarer.

Referenser

Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J. 2009. Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. Human Reproduction **24**: 1200–1205.

Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. 2007. Perfluorinated Chemicals and Fetal Growth: A Study within the Danish National Birth Cohort. Environmental Health Perspectives **115**: 1677–1682.

Fromme H, Tittlemier SA, Völkel W, Wilhelm M, Twardella D. 2009. Perfluorinated compounds – Exposure assessment for the general population in western countries. International Journal of Hygiene and Environmental Health **212**: 239–270.

Glynn A, Berger U, Bignert A, Ullah S, Aune M, Lignell S, Darnerud PO. 2012. Perfluorinated Alkyl Acids in Blood Serum from Primiparous Women in Sweden: Serial Sampling during Pregnancy and Nursing, And Temporal Trends 1996–2010. Environmental Science & Technology **46**: 9071–9079.

Giesy P.J, Kannan.K. 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. Enviromental science & technology **35**: 1339-1342.

Huang H, Huang C, Wang L, Ye X, Bai C, Simonich MT, Tanguay RL, Dong Q. 2010. Toxicity, uptake kinetics and behavior assessment in zebrafish embryos following exposure to perfluorooctanesulphonicacid (PFOS). Aquatiq toxicology **98**: 139–147.

Jin Y, Liu X, Zhang X, Li T, Zhang Y, Saito N, Sasaki K, Koizumi A. 2003. Perfluorooctane sulfonate situation in serum of common population. Chinese Journal of Public Health **19**: 1200−1201.

Joensen UN, Bossi R, Leffers H, Jensen AA, Skakkebæk NE, Jørgensen N. 2009. Do Perfluoroalkyl Compounds Impair Human Semen Quality? Environmental Health Perspectives **117**: 923–927.

Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Fillmann G, Kumar KS, Loganathan BG, Mohd MA, Olivero J, Wouwe NV, Yang JH, Aldous KM. 2004. Perfluorooctanesulfonate and Related

Fluorochemicals in Human Blood from Several Countries. Environmental Science & Technology **38**: 4489–4495.
Kärrman A, Ericson I, van Bavel B, Darnerud PO, Aune M, Glynn A, Lignell S, Lindström G. 2007. Exposure of Perfluorinated Chemicals through Lactation: Levels of Matched Human Milk and Serum and a Temporal Trend, 1996–2004, in Sweden. Environmental Health Perspectives **115**: 226–230.
Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, Zobel LR. 2007. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. Environmental Health Perspectives **115**: 1298–1305.
Olsen GW, Church TR, Miller JP, Burris JM, Hansen KJ, Lundberg JK, Armitage JB, Herron RM, Medhdizadehkashi Z, Nobiletti JB, O'Neill EM, Mandel JH, Zobel LR. 2003. Perfluorooctanesulfonate and Other Fluorochemicals in the Serum of American Red Cross Adult Blood Donors. Environmental Health Perspectives **111**: 1892–1901.
Ressner OI, Ivarsson J, Feng CM, Sandström F, Borg D, Cederberg I. 2016. Förslag till nationella regler för högfluorerade ämnen i brandsläckningsskum. Kemikalieinspektionen.
Shi X, Du Y, Lam PKS, Wu RSS, Zhou B. 2008. Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS. Toxicology and Applied Pharmacology **230**: 23–32.
Sundström M, Ehresman DJ, Bignert A, Butenhoff JL, Olsen GW, Chang S-C, Bergman Å. 2011. A temporal trend study (1972–2008) of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in pooled human milk samples from Stockholm, Sweden. Environment International **37**: 178–183.
Stein CR, Savitz DA, Dougan M. 2009. Serum Levels of Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctane Sulfonate and Pregnancy Outcome. American Journal of Epidemiology **170**: 837–846.
Yang C-H, Glover KP, Han X. 2009. Organic anion transporting polypeptide (Oatp) 1a1-mediated perfluorooctanoate transport and evidence for a renal reabsorption mechanism of Oatp1a1 in renal elimination of perfluorocarboxylates in rats. Toxicology Letters **190**: 163–171.
Yeung LWY, So MK, Jiang G, Taniyasu S, Yamashita N, Song M, Wu Y, Li J, Giesy JP, Guruge KS, Lam PKS. 2006. Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Human Blood Samples from China. Environmental Science & Technology **40**: 715–720.
Zhang Y, Beesoon S, Zhu L, Martin JW. 2013. Biomonitoring of Perfluoroalkyl Acids in Human Urine and Estimates of Biological Half-Life. Environmental Science & Technology **47**: 10619–10627.

Högfluorerade kemikaliers påverkan på fertilitet och reproduktion: etisk bilaga

Marcus Österkrans

Självständigt arbete i biologi 2016

Etik kring produktion av högfluorerade kemikalier

Det första kring etik som jag började tänka över när jag började med detta arbete var vilket ansvar företagen och industrin har. De kan säkert släppa ut kemikalier som de vet är farliga men på grund av kostnaderna som det innebär att byta till en annan mer miljövänlig kemikalie så är de inte beredda att ta det steget. Så trots den medvetna risken det innebär så kan de fortsätta att använda den kemikalien vid produktion. Det kanske inte blir någon ändring kring detta förr än en lag införs som förbjuder användningen utav denna kemikalie. De är alltså antagligen inte så villiga att ta det första steget själva för att det kostar för mycket pengar. Så där har vi en krock mellan det vinstintresse som finns hos företagen och vad som är bäst för miljön och människan ur ett hälsoperspektiv.

Djurförsök

Djurförsök är något som de flesta i forskar-världen behöver ta ställning till. Det handlar ofta om vad som är gynnsamt från ett eventuellt forskningsresultat och om resultatet överväger djurets smärta. Om sannolikheten att upptäcka någonting viktigt är stor, så kan man rättfärdiga försöket som potentiellt innebär lidande för ett djur. I denna artikels fall så orsakar PFAS skador på människan under en väldigt lång tid, det kan ta årtionden innan man kan se vilken skada de gör. Genom att använda möss och till exempelvis zebrafiskar så kan man snabbare få ett resultat, då man kan dosera kemikalien efter behov. Syftet med detta är då att påvisa skadliga effekter som denna kemikalie har och då hinna göra de ändringar som krävs, inom till exempelvis industri, för att reducera de skadliga effekter det kommer att ha på människan i framtiden. I det här fallet så skulle man även kunna säga att man inte bara räddar människan från skadliga effekter, utan även hela ekosystem där exponeringen för till exempelvis PFAS (eller annan skadlig kemikalie) är stor och då även räddar de djur som lever i detta ekosystem.

Forskningsetik

Angående min egen etiska reflektion så har jag så vitt jag vet inte varit partisk vid urval av källor. Har ej utgått efter kön eller institution/universitet. Vid sökresultat så har jag utgått efter antalet citeringar och hur vida artikelns sammandrag var relevant till mitt arbete. Har alltså försökt varit så opartisk som möjligt. Upprepning av artiklar från samma författare skedde två gånger, man ska ju självklart inte förlita sig till en författare, utan försöka variera. Jag har som sagt valt ut artiklar med högt antal citeringar, helt ärligt så har jag inte lagt så mycket fokus på vilket universitet eller institution författarna kommer ifrån. Att kolla universitet kan vara något att ta hänsyn till, men mina artiklar hade så pass höga citeringar att jag inte var jätte oroad. En forskare kan vara expert på sitt område oavsett vilket universitet hen jobbar för. Jag har tydliggjort vad som är min åsikt respektive vad som kommer från en artikel, det som är hämtat från en artikel har en referens.