

Sakrapport till Naturvårdsverkets Miljöövervakning:

Perfluorerade organiska ämnen i blod under graviditet och amning

Avtalsnummer:	215 0811
Utförare:	Livsmedelsverket
Programområde:	Hälsorelaterad miljöövervakning
Delprogram:	Biologiska mätdata – organiska ämnen
Undersökningar/uppdrag:	PFOS- och PFOA-halter i serum - tidsserie

Anders Glynn¹, Urs Berger², Sanna Lignell¹, Per Ola Darnerud¹ och Marie Aune¹

¹FOU-avdelningen, Livsmedelsverket, Uppsala

²Institutionen för tillämpad miljövetenskap, Stockholms universitet, Stockholm

2009-10-28

Sammanfattning

I ett utvecklingsprojekt inom Naturvårdsverkets Hälsorelaterade Miljöövervakning undersöktes om resultat från endast en blodprovtagning under graviditeten eller amningsperioden kan ge en korrekt bild av mammas och fostrets kroppsbelastning av miljöföreningarna perfluoroktan sulfonat (PFOS), perfluoroktanoat (PFOA) och perfluorononanoat (PFNA). Resultaten visade en god korrelation mellan halter av PFOS och PFOA i navelsträngsblod och halter i blodserumprover tagna från modern i tidig och sen graviditet, samt 3 veckor och 3 månader efter förlossningen. För PFNA låg halterna i navelsträngsblod under kvantifieringsgränsen, men korrelationerna mellan halter uppmätta hos mamman vid olika tillfällen var relativt starka. Detta innebär att det räcker med endast en provtagning under graviditeten eller efter förlossningen för att få en god uppskattning av mammas och fostrets kroppsbelastning PFOS och PFOA, och sannolikt också PFNA.

Bakgrund

Perfluorerade alkylsubstanter (PFAS) är en grupp svårnedbrytbara halogenerade organiska ämnen som är spridda i miljön över hela norra hemisfären (Bossi et al., 2005; Giesy and Kannan, 2001; Verreault et al., 2005). I motsats till fettlösliga persistenta halogenerade organiska föreningar, såsom PCB och dioxiner, ackumuleras PFAS inte främst i organismers fettvävnad. PFAS binds istället till blodproteiner och ackumuleras i levervävnad (Han et al. 2003; Jones et al., 2003; Luebker et al. 2002). Toxicitetsstudier har visat att flera olika PFAS påverkar cell-cellkommunikation och orsakar peroxisomproliferation vilket kan leda till cancer (Berthiaume and Wallace, 2002; Hu et al., 2002, Upham et al. 1998). Vissa PFAS tycks också påverka fettmetabolism och reproduktion (Haugom and Spydevold, 1992; Lau et al., 2003; Thibodeaux et al., 2003). Några nyligen publicerade studier antyder att fostrets exponering för PFOS och PFOA kan påverka fostertillväxten negativt (Apelberg et al. 2007; Fei et al. 2007, 2008; Stein et al. 2009; Washino et al. 2009).

I en tidstrendsstudie av PFOA och PFOS i sillgrissleägg från Östersjön observerades en 30-faldig ökning av PFOS under perioden 1968 till 2003 (Holmström et al. 2005). Halterna av PFOA var dock genomgående låga. För PFOS observerades de högsta halterna 1997. I en tidstrendsstudie med grårutägg från Norge visades att halterna av PFOS och andra fluorerade ämnen ökat från 1983 till 1993 men börjat plana ut mellan 1993 och 2003 (Verreault et al., 2007). Kunskaperna är obefintliga när det gäller hur kroppsbelastningen av PFAS i den svenska befolkningen förändrats med tiden sedan 60-talet. Några få studier har visat att serum/plasmahalterna av PFOS och PFOA hos vuxna i Sverige ligger på samma nivåer som halter uppmätta i USA, Canada, Australien och Japan (Berglund et al. 2004; Harada et al. 2004; Kärrman et al. 2006; Kärrman et al. 2007; Kubwabo et al. 2004; Olsen et al. 2003). En studie av kvinnor med högt fiskintag antyder att fiskkonsumtion kan vara en källa till PFOS-exponering (Berglund et al. 2004). Begränsade studier av PFAS-halter i fisk pekar också på att fisk kan vara en källa för exponering av den svenska befolkningen, framförallt fisk från vatten påverkade av utsläpp från till exempel reningsverk (Berger et al. 2009).

Som en bas för en framtida tidstrendsstudie av PFAS-halter i blod hos gravida och ammande kvinnor genomfördes en studie av korrelationer mellan halter av PFOS, PFOA eller PFNA uppmätta i blodserum från förstfödorskor i tidig graviditet (vecka 6-11), sen graviditet (vecka 32-34), 3 veckor och 3 månader efter förlossningen, samt i navelsträngsblod. Syftet var att ta reda på om PFAS-halterna i blodserum varierar under graviditeten och efter förlossningen, samt att undersöka om halter uppmätta efter förlossningen kan sägas representera de halter som kvinnorna har under graviditeten, samt även halterna i navelsträngsblod. I förlängningen planeras prover från ammande förstfödorskor från

Uppsalaområdet, tagna 3 veckor efter förlossningen från 1996 och framåt, att användas för tidstrendsstudier.

Material och metoder

Under 1996-1999 togs blodprover från 19 kvinnor i tidig graviditet (vecka 6-11), sen graviditet (vecka 32-34), 3 veckor och 3 månader efter förlossningen. Kvinnorna kom från Uppsala och födde sitt första barn. PFAS mättes i blodserum från mammorna och i helblod från navelsträngen med en metod som blev utvecklad under EU projektet PERFORCE (PERFORCE 2006) och som har visat sig fungera bra i en internationell metodjämförbarhetsstudie (Fluoros Report 2006). Kortfattat blev 0,5 g prov (serum eller helblod) spikat med de interna standarderna $^{13}\text{C}_4\text{-PFOA}$ och $^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$ och extraherat med acetonitril i ultraljudsbad. De utfällda proteinerna centrifugerades ner. Extraktet koncentrerades upp och renades med aktivt kol. Efter en tillsats av en volymstandard analyserades PFAS med vätskekromatografi kopplat till tandem masspektrometri. Den instrumentella metoden och kvantifieringen är beskrivna i detalj i Verreault et al. (2007). I kvalitetskontrollen av analyserna ingick bestämning av PFAS-halterna i metodblank, detektionsgränser, återvinning av de interna standarderna och reproducerbarheten. Dessutom analyserades ett serumprov från den internationella metodjämförbarhetsstudien (Fluoros Report 2006) fyra gånger med olika provbatcher. Alla kvalitetskontrollkriterier visade på utmärkt prestation av analysmetoden.

Skillnader i halter i serum hos mammorna vid de olika provtagningstillfällena analyserades med hjälp av ett parvis t-test. Mann-Whitneys U-test användes för att analysera skillnader i halter mellan navelsträngsblod och mammans blodserum. Korrelationer mellan halter av PFOS, PFOA eller PFNA i de olika proven studerades med hjälp av Spearmans korrelationsanalys.

Tabell 1. Halter av PFOS, PFOA och PFnA i blodserum från gravida och ammande kvinnor samt i navelsträngsblod från deras nyfödda barn^a

	Graviditet (ng/g serum)		Förlossning (ng/g blod)	Amningsperiod (ng/g serum)	
	1:a trimestern	3:e trimestern	Navelsträngsblod	3 veckor	3 månader
PFOS	33 (18-53) ^b	32 (14-44) ^c	5,6 (2,5-8,4)*	29 (13-51) ^c	29 (17-42) ^c
PFOA	4,4 (2,5-11) ^b	3,7 (2,0-7,5) ^c	1,4 (0,66-2,3)*	3,5 (1,4-7,3) ^c	3,1 (1,4-5,4) ^d
PFnA	0,78 (0,36-1,1) ^b	0,52 (0,20-1,1) ^c	<0,16 (<0,16-0,25)	0,43 (0,27-0,85) ^d	0,44 (0,19-0,98) ^{cd}

^aMedian (min-max). Resultat markerade med olika bokstäver (b-d) skiljer sig från varandra (parvis t-test, $p \leq 0.05$, $N=19$)

*Halter i navelsträngsblod skiljer sig från halten i moderns blodserum (Mann-Whitney U test, $p \leq 0.05$, $N=19$)

Resultat och diskussion

PFOS-halterna var högst följt av PFOA och PFNA både i blodserum från mammorna och i navelsträngsblod (Tabell 1). Navelsträngsblodet hade signifikant lägre halter än mammans blodserum, men skillnaden i medianhalt var större för PFOS (en faktor 5) än för PFOA (en faktor 2-3). För PFNA låg de flesta halterna i navelsträngsblod under kvantifieringsgränsen. Vid omräkning av halterna i navelsträngsblod, med hänsyn taget till att PFOS- och PFOA-halten i blodserum är ungefär dubbelt så höga som halten i helblod (personlig kommunikation, Urs Berger), ligger PFOS-halterna i navelsträngsblod ändå klart lägre än i moderns blod. För PFOA blir skillnaderna inte så stora. Även andra studier har funnit att skillnaden i halt mellan navelsträngsblod och mammans blod är större för PFOS än för PFOA (Midasch et al. 2007; Monroy et al. 2008), vilket pekar på att PFOA har lättare att passera placentan än PFOS.

Halten av ämnena i mammornas blodserum var signifikant lägre under 3:e trimestern än under 1:a trimestern, sannolikt på grund av en ökning av kropps- och blodvolymen under graviditeten. För PFOS skedde därefter ingen märkbar förändring medan halten av PFOA och PFNA sjönk ytterligare efter förlossningen. Vår studie ger ingen information om orsakerna till skillnaderna i hur halten av PFOS och PFOA/PFNA förändras under amningsperioden. Resultaten antyder dock att PFOS och PFOA/PFNA omsätts på olika sätt i kroppen, men resultaten måste tolkas med viss försiktighet eftersom vår studie var relativt liten. En större studie från USA visade att halten av både PFOS och PFOA i mammans blodserum sjönk något mellan vecka 4-6 och vecka 13-14 efter förlossningen (von Ehrenstein *et al.* 2009).

Tabell 2. Spearman rank korrelationer mellan halter av PFOS och PFOA i prover tagna vid olika tillfällen under graviditet och amningsperioden.

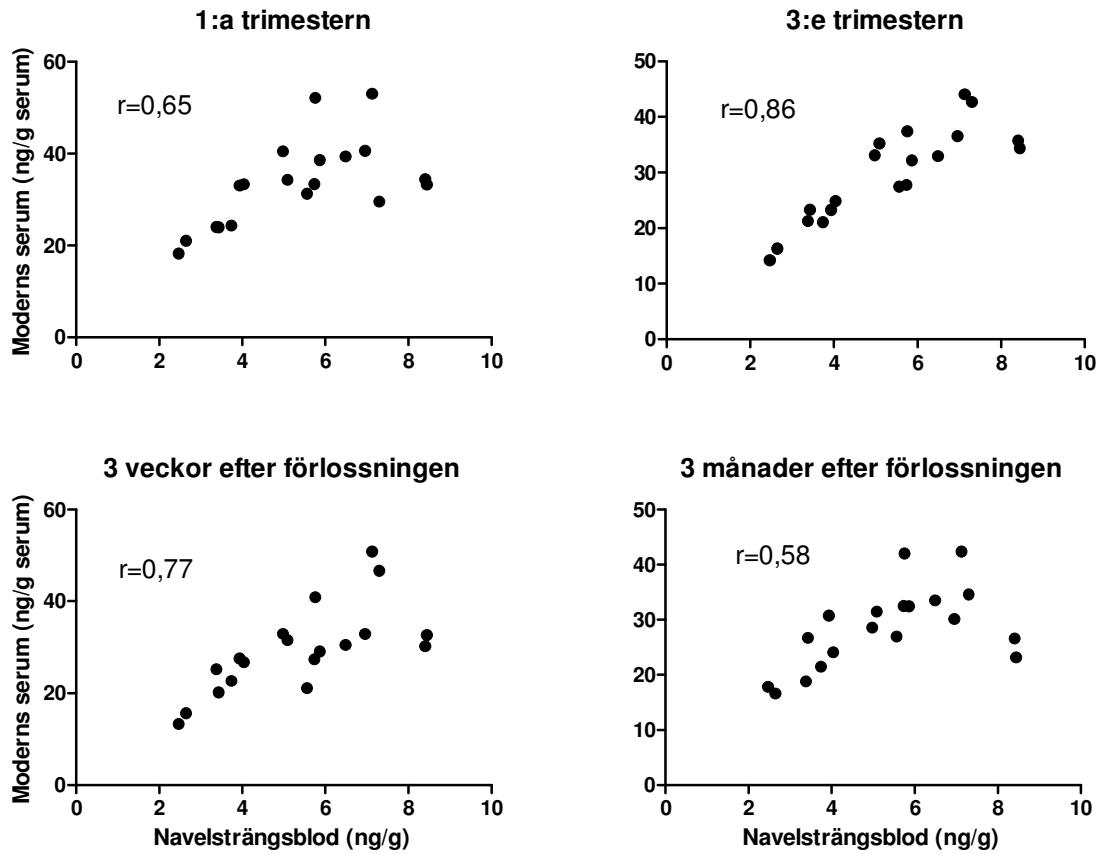
PFOS	1:a trimestern	3:e trimestern	Navelsträngsblod	3 veckor
3:e trimestern	0,78			
Navelsträngsblod	0,65	0,86		
3 veckor	0,79	0,93	0,77	
3 månader	0,71	0,74	0,58	0,73
PFOA				
3:e trimestern	0,88			
Navelsträngsblod	0,84	0,92		
3 veckor	0,75	0,92	0,84	
3 månader	0,82	0,78	0,66	0,77
PFnA				
3:e trimestern	0,59			
Navelsträngsblod				
3 veckor	0,67	0,63		
3 månader	0,53	0,71		0,77

3 veckor=3 veckor efter förlossningen, 3 månader=3 månader efter förlossningen. Alla Spearmans korrelationskoefficienter är statistiskt signifikanta ($p \leq 0.05$).

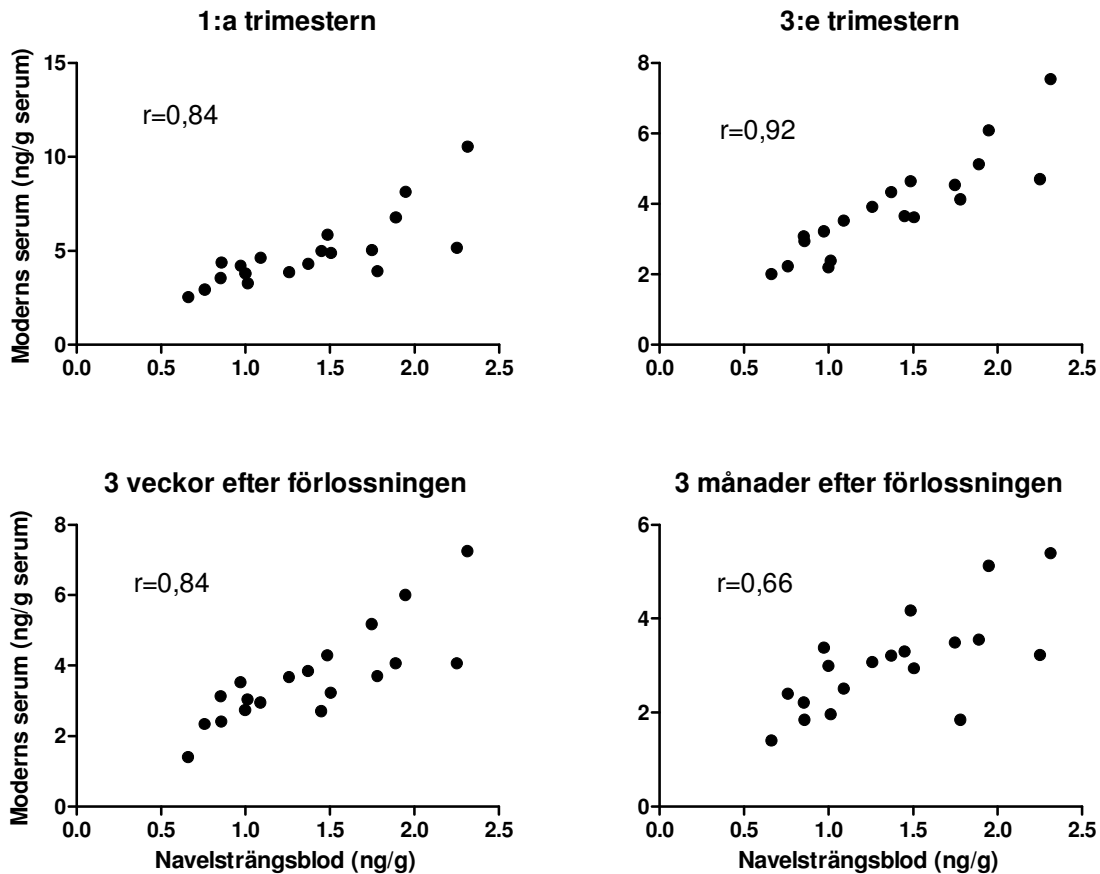
Trots analys av endast 19 prover per provtagningstillfälle, samt liten variation i PFOS- och PFOA-halter vid de olika provtagningstillfällena (max 5-faldig), observerades en stark positiv korrelation mellan halterna (Fig. 1 och 2, Tabell 2 och 3). Resultaten antydde också att relationen mellan halten av PFOS och PFOA i mammans blod och halten i navelsträngsblod blev något starkare ju närmare tiden för förlossning som mamman provtagits (Fig. 1 och 2, Tabell 2 och 3).

De starka korrelationerna visar att prover tagna efter förlossningen kan användas för att uppskatta både mammans kroppsbelastning av PFAS under graviditeten, och fostrets exponering. Starka korrelationer mellan PFOS och PFOA i moderns blod under graviditeten och navelsträngsblod har observerats i flera tidigare studier (Inoue *et al.* 2004; Midasch *et al.* 2007; Monroy *et al.* 2008), medan korrelationen för PFOA var något svagare ($R^2=0.42$) i en av studierna (Midasch *et al.* 2007).

En tidigare studie av 12 förstföderskor i Uppsalakohorten visade på starka korrelationer mellan halter av PFOS och PFOA i serum och modersmjölk tagna vid samma tillfälle efter förlossningen (Kärrman *et al.* 2007). Sammantaget så antyder resultaten att moderns kroppsbelastning av PFOS och PFOA under graviditeten och amningsperioden i hög grad bestämmer hur mycket av ämnena som går över i placentan till fostret och över till modersmjölken.



Figur 1. Korrelationer (Spearman rank korrelation) mellan PFOS-halter i navelsträngsblod (helblod) och i blodserum hos mamman vid olika tillfällen under graviditeten och amningsperioden. Alla korrelationskoefficienter (r) är statistiskt signifikanta ($p \leq 0.05$).



Figur 2 Korrelationer (Spearman rank korrelation) mellan PFOA-halter i navelsträngsblod (helblod) och i blodserum hos mamman vid olika tillfällen under graviditeten och amningsperioden. Alla korrelationskoefficienter (r) är statistiskt signifikanta ($p \leq 0.05$).

Referenser

- Apelberg, B. J.; Goldman, L. R.; Calafat, A. M.; Herbstman, J. B.; Kuklenyik, Z.; Heidler, J.; Needham, L. L.; Halden, R. U.; Witter, F. R. Determinants of Fetal Exposure to Polyfluoroalkyl Compounds in Baltimore, Maryland. *Environmental Science & Technology*, **2007**, *41*, 3891-3897.
- Berger, U.; Glynn, A.; Holmstrom, K. E.; Berglund, M.; Ankarberg, E. H.; Tornkvist, A. Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Sweden - analysis of edible fish from Lake Vattern and the Baltic Sea. *Chemosphere*, **2009**, *76*, 799-804.
- Berglund, M.; Holmström, K.; Ask, K.; Petersson-Grawé, K.; Pickova, J.; Järnberg, U. Exponering för perfluorkarboner hos kvinnor med högt fiskintag. Resultatrapport till Miljöövervakningen, **2004**.
- Berthiaume, J.; Wallace, K. B. Perfluorooctanoate, perfluorooctanesulfonate, and N-ethyl perfluorooctanesulfonamido ethanol; peroxisome proliferation and mitochondrial biogenesis. *Toxicology Letters*, **2002**, *129*, 23-32.
- Bossi, R.; Riget, F. F.; Dietz, R.; Sonne, C.; Fauser, P.; Dam, M.; Vorkamp, K. Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands. *Environmental Pollution*, **2005**, *136*, 323-329.
- Fei, C.; McLaughlin, J. K.; Tarone, R. E.; Olsen, J. Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ Health Perspect*, **2007**, *115*, 1677-1682.
- Fei, C.; McLaughlin, J. K.; Tarone, R. E.; Olsen, J. Fetal growth indicators and perfluorinated chemicals: a study in the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol*, **2008**, *168*, 66-72.

- Fluoros Report. 2nd Worldwide Interlaboratory Study on PFCs — Human Serum, Coordinators G. Lindström, S. van Leeuwen, Report December **2006**.
- Giesy, J. P.; Kannan, K. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, *35*, 1339-1342.
- Han, X.; Snow, T. A.; Kemper, R. A.; Jepson, G. W. Binding of Perfluorooctanoic Acid to Rat and Human Plasma Proteins. *Chemical Research in Toxicology*, **2003**, *16*, 775-781.
- Haughom, B.; Spydevold, O. The mechanism underlying the hypolipemic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulfonic acid (PFOSA) and clofibrilic acid. *Biochimica et Biophysica Acta, Lipids and Lipid Metabolism*, **1992**, *1128*, 65-72.
- Harada, K.; Saito, N.; Inoue, K.; Yoshinaga, T.; Watanabe, T.; Sasaki, S.; Kamiyama, S.; Koizumi, A. The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years. *J Occup Health*, **2004**, *46*, 141-7.
- Holmstrom, K. E.; Jarnberg, U.; Bignert, A. Temporal trends of PFOS and PFOA in guillemot eggs from the Baltic Sea, 1968-2003. *Environmental Science & Technology*, **2005**, *39*, 80-84.
- Hu, W.; Jones, P. D.; Upham, B. L.; Trosko, J. E.; Lau, C.; Giesy, J. P. Inhibition of Gap Junctional Intercellular Communication by Perfluorinated Compounds in Rat Liver and Dolphin Kidney Epithelial Cell Lines *in Vitro* and Sprague-Dawley Rats *in Vivo*. *Toxicol. Sci.*, **2002**, *68*, 429-436.
- Inoue, K.; Okada, F.; Ito, R.; Kato, S.; Sasaki, S.; Nakajima, S.; Uno, A.; Saijo, Y.; Sata, F.; Yoshimura, Y.; Kishi, R.; Nakazawa, H. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environ Health Perspect*, **2004**, *112*, 1204-1207.
- Jones, P. D.; Hu, W.; De Coen, W.; Newsted, J. L.; Giesy, J. P. Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2003**, *22*, 2639-2649.
- Karrman, A.; Mueller, J. F.; van Bavel, B.; Harden, F.; Toms Leisa-Maree, L.; Lindstrom, G. Levels of 12 perfluorinated chemicals in pooled Australian serum, collected 2002-2003, in relation to age, gender, and region. *Environ Sci Technol*, **2006**, *40*, 3742-3748.
- Karrman, A.; van Bavel, B.; Jarnberg, U.; Hardell, L.; Lindstrom, G. Perfluorinated chemicals in relation to other persistent organic pollutants in human blood. *Chemosphere*, **2006**, *64*, 1582-1591.
- Karrman, A.; Ericson, I.; van Bavel, B.; Darnerud, P. O.; Aune, M.; Glynn, A.; Lignell, S.; Lindstrom, G. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environ Health Perspect*, **2007**, *115*, 226-230.
- Kubwabo, C.; Vais, N.; Benoit, F. M. A pilot study on the determination of perfluorooctanesulfonate and other perfluorinated compounds in blood of Canadians. *Journal of Environmental Monitoring*, **2004**, *6*, 540-545.
- Lau, C.; Thibodeaux, J. R.; Hanson, R. G.; Rogers, J. M.; Grey, B. E.; Stanton, M. E.; Butenhoff, J. L.; Stevenson, L. A. Exposure to Perfluorooctane Sulfonate during Pregnancy in Rat and Mouse. II: Postnatal Evaluation. *Toxicol. Sci.*, **2003**, *74*, 382-392.
- Luebker, D. J.; Hansen, K. J.; Bass, N. M.; Butenhoff, J. L.; Seacat, A. M. Interactions of fluorochemicals with rat liver fatty acid-binding protein. *Toxicology*, **2002**, *176*, 175-185.
- Midasch, O.; Drexler, H.; Hart, N.; Beckmann, M. W.; Angerer, J. Transplacental exposure of neonates to perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate: a pilot study. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **2007**, *80*, 643-648.
- Monroy, R.; Morrison, K.; Teo, K.; Atkinson, S.; Kubwabo, C.; Stewart, B.; Foster, W. G. Serum levels of perfluoroalkyl compounds in human maternal and umbilical cord blood samples. *Environ Res*, **2008**, *108*, 56-62.
- Olsen, G. W.; Hansen, K. J.; Stevenson, L. A.; Burris, J. M.; Mandel, J. H. Human Donor Liver and Serum Concentrations of Perfluorooctanesulfonate and Other Perfluorochemicals. *Environ. Sci. Technol.*, **2003**, *37*, 888-891.
- PERFORCE. *Perfluorinated Organic Compounds in the European Environment*, scientific report of the EU project PERFORCE (FP6-NEST-508967) prepared by de Voogt P., Berger U., de Coen W., de Wolf W., Heimstad E., McLachlan M., van Leeuwen S., van Roon A. **2006**.

- Stein, C. R.; Savitz, D. A.; Dougan, M. Serum Levels of Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctane Sulfonate and Pregnancy Outcome. *Am J Epidemiol*, **2009**, *in press*.
- Thibodeaux, J. R.; Hanson, R. G.; Rogers, J. M.; Grey, B. E.; Barbee, B. D.; Richards, J. H.; Butenhoff, J. L.; Stevenson, L. A.; Lau, C. Exposure to Perfluorooctane Sulfonate during Pregnancy in Rat and Mouse. I: Maternal and Prenatal Evaluations. *Toxicological Sciences*, **2003**, *74*, 369-381.
- Upham, B. L.; Deocampo, N. D.; Wurl, B.; Trosko, J. E. Inhibition of gap junctional intercellular communication by perfluorinated fatty acids is dependent on the chain length of the fluorinated tail. *International Journal of Cancer*, **1998**, *78*, 491-495.
- van Leeuwen, S. P. J.; Kaeraman, A.; van Bavel, B.; de Boer, J.; Lindstroem, G. Struggle for Quality in Determination of Perfluorinated Contaminants in Environmental and Human Samples. *Environmental Science & Technology*, **2006**, *40*, 7854-7860.
- Verreault, J.; Houde, M.; Gabrielsen, G. W.; Berger, U.; Hauks, M.; Letcher, R. J.; Muir, D. C. G. Perfluorinated Alkyl Substances in Plasma, Liver, Brain, and Eggs of Glaucous Gulls (*Larus hyperboreus*) from the Norwegian Arctic. *Environmental Science and Technology*, **2005**, *39*, 7439-7445.
- Verreault, J.; Berger, U.; Gabrielsen, G. W. Trends of Perfluorinated Alkyl Substances in Herring Gull Eggs from Two Coastal Colonies in Northern Norway: 1983-2003. *Environmental Science & Technology*, **2007**, *41*, 6671-6677.
- von Ehrenstein, O. S.; Fenton, S. E.; Kato, K.; Kuklennyik, Z.; Calafat, A. M.; Hines, E. P. Polyfluoroalkyl chemicals in the serum and milk of breastfeeding women. *Reprod Toxicol*, **2009**, *27*, 239-245.
- Washino, N.; Saijo, Y.; Sasaki, S.; Kato, S.; Ban, S.; Konishi, K.; Ito, R.; Nakata, A.; Iwasaki, Y.; Saito, K.; Nakazawa, H.; Kishi, R. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect*, **2009**, *117*, 660-667.