

RAPPORT TILL NATURVÅRDSVERKET – APRIL 2020

Programområde: Hälsorelaterad miljöövervakning (HÄMI)

Tidstrender av PFAS-nivåer i serum hos gravida kvinnor

Lars Rylander, professor

Christian Lindh, docent

Avdelningen för arbets- och miljömedicin,
Institutionen för laboratoriemedicin, Lunds universitet

E-post:

lars.rylander@med.lu.se

christian.lindh@med.lu.se



LUNDS UNIVERSITET

Tidstrender av PFAS-nivåer i serum hos gravida kvinnor

Rapportförfattare Lars Rylander Christian Lindh Bägge vid Avdelningen för arbets- och miljömedicin, Institutionen för laboratoriemedicin, Lunds Universitet	Utgivare Lunds universitet Postadress Box 177, 221 00 Lund Telefon 046 – 222 00 00
Rapporttitel och undertitel Tidstrender av PFAS-nivåer i serum hos gravida kvinnor	Beställare Naturvårdsverket 106 48 Stockholm Finansiering Nationell miljöövervakning – biologiska mätdata, organiska ämnen
Nyckelord för plats Skåne	
Nyckelord för ämne PFAS, PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS, serum, gravida kvinnor, tidstrender, Skåne	
Tidpunkt för insamling av underlagsdata 1995 – 2014	
Sammanfattning <p>Högfluorerade ämnen, eller per- och polyfluorerade alkylsyror (PFAS) är mycket stabila ämnen som pga av sina vatten- och fettavvisande egenskaper har många användningsområden. Syftet med den aktuella studien var att studera tidstrender av PFAS under perioden 1995-2014 hos gravida kvinnor.</p> <p>Studien inkluderade 1208 kvinnor i södra Sverige från vilka serumprover samlades in i tidig graviditet. I serumproverna analyserades koncentrationen av fyra olika PFAS, nämligen PFOS (perfluoroktansulfonat), PFOA (perfluoroktansyra), PFNA (perfluoronansyra) och PFHxS (perfluorhexasulfonat).</p> <p>De högsta koncentrationerna och den största minskningen (ca 9% per kalenderår) över tid observerades för PFOS där ca 33% av variationen förklarades av kalenderår. Även PFOA och PFHxS minskade (2,3-3,5% per kalenderår) under studieperioden medan PFNA ökade.</p> <p>Sammanfattningsvis visar studien klara minskningar över tiden av vissa PFAS, men ämnena har lång halveringstid i människa vilket innebär att halterna minskar långsamt och kommer att finnas kvar i kroppen under lång tid. Dessutom är ämnena stabila ute i naturen så människorna kommer fortsatt att exponeras för dem. Vidare är det så att vissa PFAS har förbjudits såsom PFOS vilket fått till följd att nya ämnen som PFNA vilka ersatt dessa ökade under studieperioden.</p>	

INNEHÅLL

Sammanfattning	2
Lista över förkortningar	3
Bakgrund	4
Studiens syfte	4
Studiepopulation och metod	4
Serumanalyser	5
Statistiska analyser	5
Resultat	6
Diskussion	11
Referenser	12

LISTA ÖVER FÖRKORTNINGAR

AMM	Avdelningen för arbets- och miljömedicin, Lunds universitet
PFAS	Per- och polyfluorerade alkylsyror
PFOA	Perfluoroktansyra
PFHxS	Perfluorhexasulfonat
PFNA	Perfluornonansyra
PFOS	Perfluoroktansulfonat

BAKGRUND

Högfluorerade ämnen, eller per- och polyfluorerade alkylsyror (PFAS), är en stor grupp av kemikalier med mycket omfattande användningsområden (EPA, 2020; KEMI, 2019, Ritscher et al., 2018). Det har uppskattats att det finns mellan tretusen till femtusen olika PFAS i användning. PFAS, vilka har använts sedan 1940- och 50-talet, är mycket stabila ämnen som pga sina vatten- och fettavvisande egenskaper har använts i stora mängder inom många områden, såsom vid ytbehandling och impregnering. Mer specifika exempel på användningar är i livsmedelsförpackningar där fettavvisande egenskaper är önskade, i skidvalla, i brandskum och som impregneringsmedel i allväderskläder. PFAS återfinns i bland annat mat, dricksvatten, damm och luft och har uppmärksammats mycket på grund av deras persistenta egenskaper och utbredda förekomst i miljön (Gyllenhammar et al., 2018; Olsen et al., 2007; Li et al., 2018). Vidare tillhör PFAS gruppen kemikalier med s.k. hormonstörande egenskaper (WHO, 2012) och exponering för vissa PFAS har bl.a. visat sig ge upphov till ökade kolesterolnivåer, påverkan på leverenzymmer samt minskad födelsevikt hos människa (EFSA, 2018).

Foster är en grupp som generellt anses vara extra känsliga när det gäller exponering för kemikalier och det är känt att PFAS överförs från den gravida kvinnan till fostret under graviditeten (Ode et al., 2013). Det finns dock endast ett fåtal studier gällande vilka nivåer av PFAS som gravida kvinnor från allmänbefolkningen har i sitt blod och vilka tidstrender som råder (Glynn et al., 2020; Shu et al., 2018).

STUDIENS SYFTE

Syftet med den aktuella studien inom Naturvårdsverkets Hälsorelaterade miljöövervakningsprogram (HÄMI) är att under perioden 1995-2014 skatta tidstrender av serumnivåer i tidig graviditet hos kvinnor i Skåne av fyra högfluorerade PFAS, nämligen PFOS (perfluoroktansulfonat), PFOA (perfluoroktansyra), PFNA (perfluoronansyra) och PFHxS (perfluorhexasulfonat).

STUDIEPOPULATION OCH METOD

Vid Avdelningen för arbets- och miljömedicin (AMM) pågår två epidemiologiska fall-kontrollstudier. Syftet med den ena studien är att studera sambandet mellan serumnivåer av PFAS i tidig graviditet (vecka 10-12) och risken hos den gravida kvinnan att utveckla preeklampsi (havandeskapsförgiftning) och risken att få ett tillväxthämmat barn. Syftet med den andra studien är att studera sambandet mellan serumnivåer av PFAS i tidig graviditet och cerebral pares (CP). Bägge studierna baseras på registerdata i kombination med kemiska analyser i sparade serumprover. Serumproverna finns i en stor biobank i Skåne vilken inkluderar >250 000 gravida kvinnor i Skåne vars serumprover sparats i samband med att de genomgick screening för röda hund och andra virusjukdomar i tidig graviditet. Kontrollgrupperna i de bägge fall-kontrollstudierna är slumpmässigt valda gravida kvinnor i Skåne. Dessa kvinnor, totalt 1208 stycken (628 i CP-studien och 580 i preeklampsi/tillväxtstudien), utgör studiepopulationen i den aktuella studien. Av de kvinnor som ursprungligen

valdes återfanns >90% i biobanken. Tabell 1 visar deskriptiva data gällande den gravida kvinnans ålder, år för provtagning och andel förstföderskor.

Tabell 1 Deskriptiva data för 1208 gravida kvinnor i Skåne inkluderade i den aktuella studien

	Medelvärde/Median (min - max)
Ålder (år)	30 / 30 (15 - 50)
Body Mass Index (BMI, kg/m ²)*	24,2 / 23,2 (15,2 – 49,6)
	N (%)
År för provtagning	
1995 – 1999	324 (26,8)
2000 – 2004	362 (30,0)
2005 – 2009	425 (35,2)
2010 – 2014	97 (8,0)**
Paritet*	
Förstföderskor	733 (61,1)
Omföderskor	466 (38,9)

* 134 (11,1%) saknade BMI-data och 7 (0,6%) saknade paritetsdata (dvs vilket barn i ordningen)

** Endast kontrollkvinnor från CP-studien

Serumanalyser

Analyser av PFAS (PFOS, PFOA, PFNA och PFHxS) genomfördes vid laboratoriet vid Avdelningen för arbets- och miljömedicin på Lunds universitet, med vätskekromatografi kopplad till tandem-masspektrometri (LC-MS/MS) och bestämdes som de totala, icke-isomerspecifika föreningarna. Laboratoriet har stor erfarenhet av dessa analyser via såväl nationella som internationella projekt (Lindh et al., 2012; Martinsson et al., 2020). I korthet, proteinerna fälls i serumproverna med acetonitril, därefter skakas provet kraftigt under 30 minuter innan centrifugering och analys. Intern standard för alla föreningar användes. I alla provbatcher om 96 prov ingick kalibreringsstandarder, blankar och kvalitetskontrollprover. Proven preparerades i duplikat med en provåtgång på 2x75ul. Laboratoriet deltar i Interlaboratory Comparison Investigations (ICI) / External Quality Assurance Schemes (EQUAS) för analys av PFOS, PFOA, PFNA och PFHxS, och är godkända som laboratorium inom Human Biomonitoring for Europe (HBM4EU). Dessutom är analyserna av PFOS och PFOA med i ett interlaboratorietest-program samordnat av universitetet i Erlangen-Nuremberg, Tyskland.

Statistiska analyser

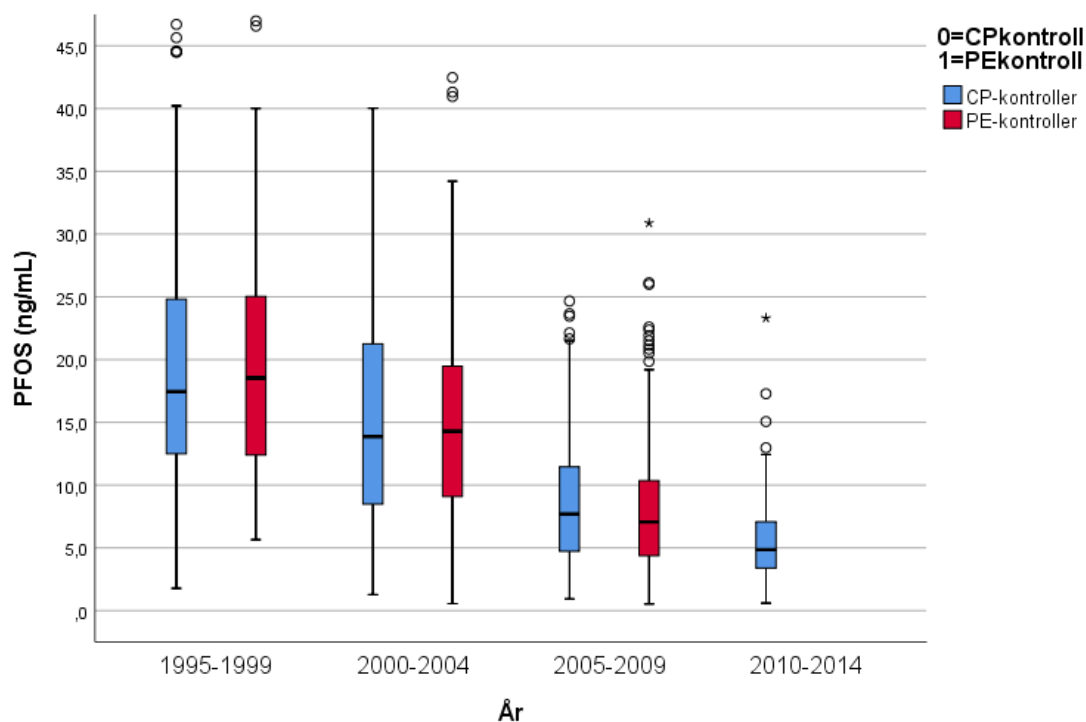
Parvisa korrelationer mellan PFAS beräknades med Spearmans korrelationskoefficienter (r_s). För att visuellt studera mönster av tidstrender av PFAS studerades initialt dels box-plottar där år för provtagning delades in i fyra kategorier (1995-1999, 2000-2004, 2005-2009 och 2010-2014) och dels scatterplottar med år som en kontinuerlig variabel. För att uppnå så god

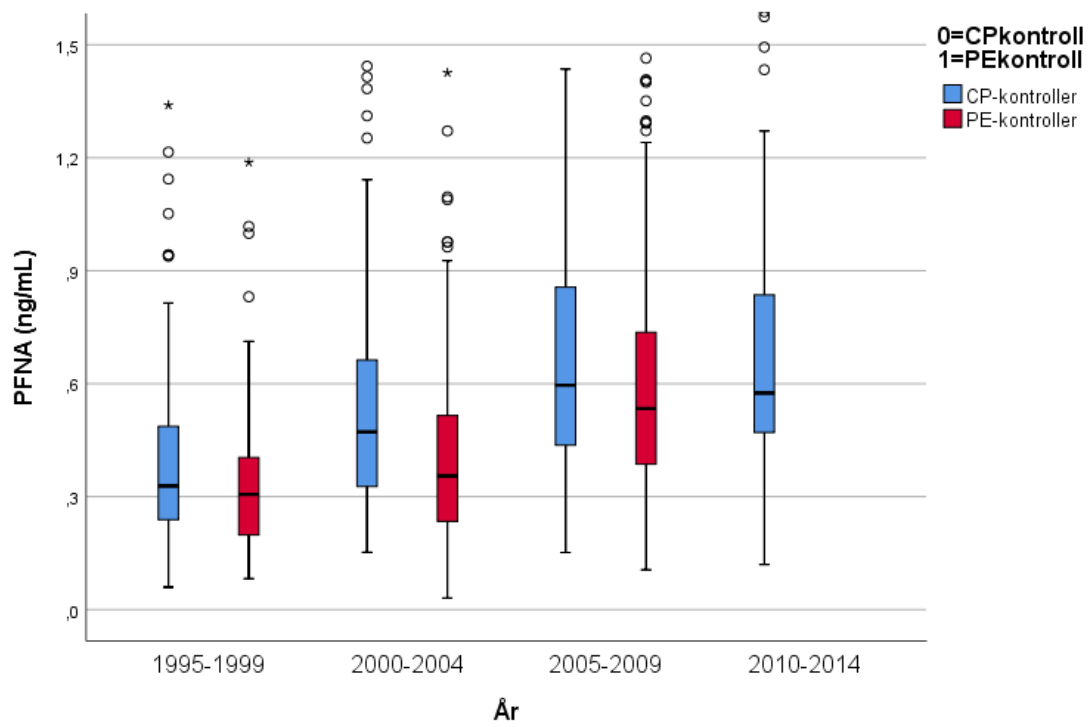
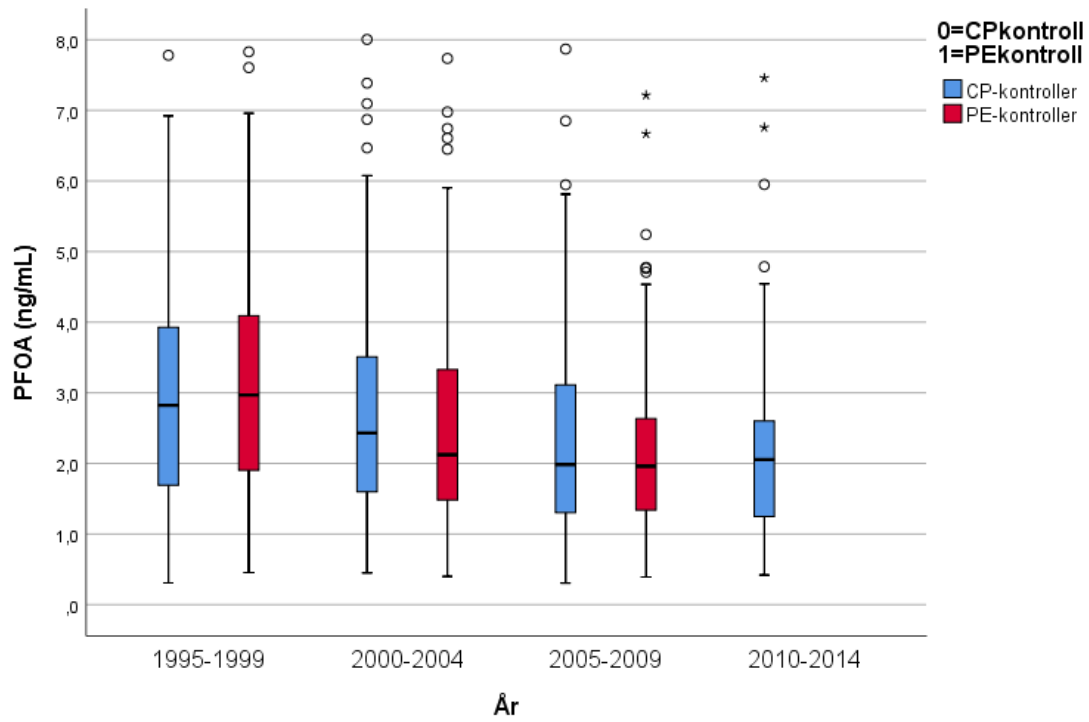
linjäritet som möjligt testades PFAS-variablerna som såväl icke-transformerade som log-transformerade (naturliga logaritmen). Linjära regressionsmodeller användes därefter för att skatta förändring av de olika PFAS per år och för att skatta hur stor andel av variationen som förklarades av år för provtagning. Vi genomförde såväl ojusterade (dvs endast år för provtagning som förklarande variabel) som justerade (där även ålder, BMI, studie och paritet inkluderades). Eftersom paritet (dvs vilket barn i ordningen som kvinnan födde) är av stor betydelse genomfördes även analyserna ovan med endast förstföderskor.

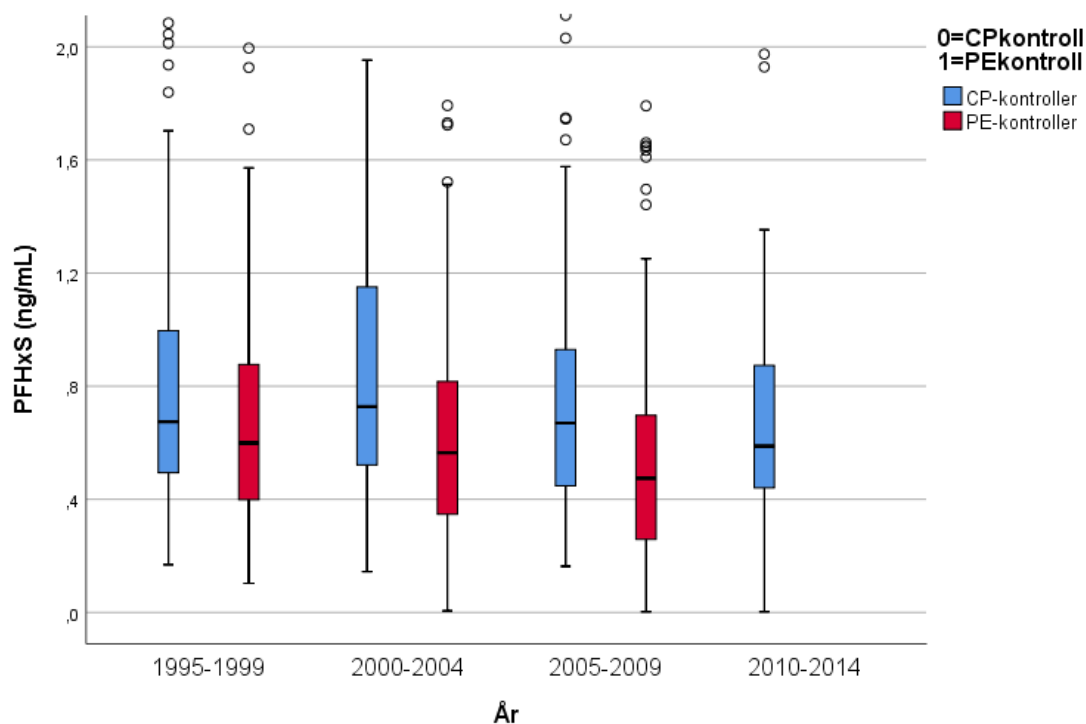
RESULTAT

Nivåerna av de fyra PFAS indelat i fyra tidsperioder kan ses i Figur 1. Det är dock viktigt att poängtera att det finns ett fåtal extremvärden som inte syns i figurerna då y-axlarna är trunckerade för att på ett tydligare sätt illustrera data. Högsta koncentrationerna för de olika PFAS är: PFOS: 111 ng/mL; PFOA: 11,9 ng/mL; PFNA: 3,57 ng/mL; PFHxS: 16,4 ng/mL. Det är dessutom viktigt att poängtera att för PFOS, PFOA och PFNA hade samtliga individer koncentrationer över detektionsgränsen medan för PFHxS var 7 stycken (dvs 0,6% av individerna) som hade värden under detektionsgränsen. Det fanns dock uppmätta värden vilka vi valde att använda alternativt lägsta uppmätta värdet.

Figur 1 Nivåerna av PFAS indelat efter fyra tidsperioder. Boxarna visar median och över och undre kvartilerna. Observera att PFAS-axlarna är trunckerade och att det finns ytterligare några extremvärden men att högsta värdena för respektive PFAS finns i texten ovan.



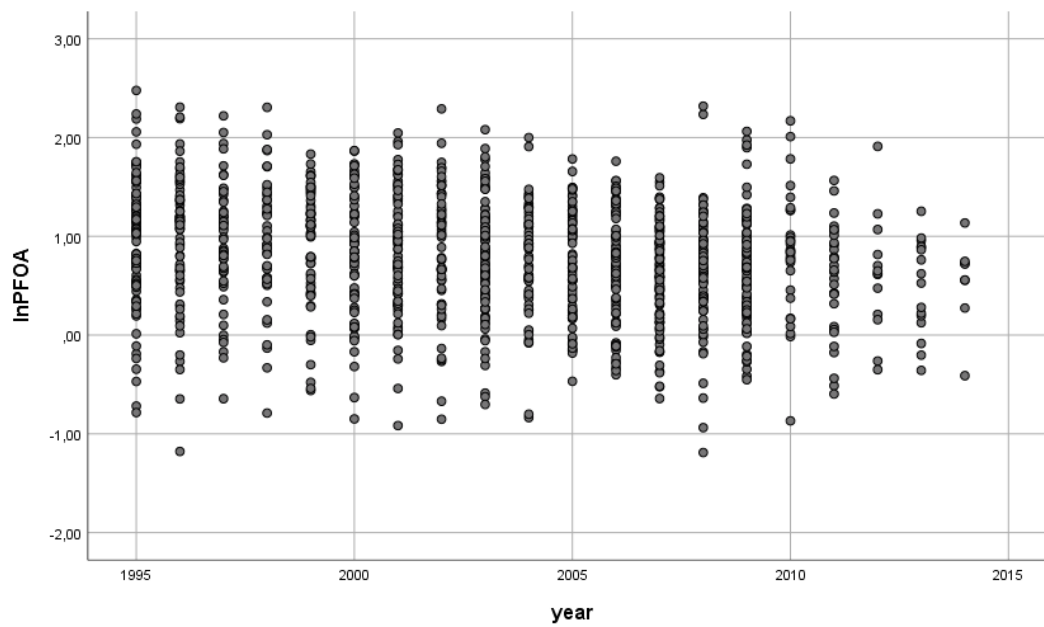
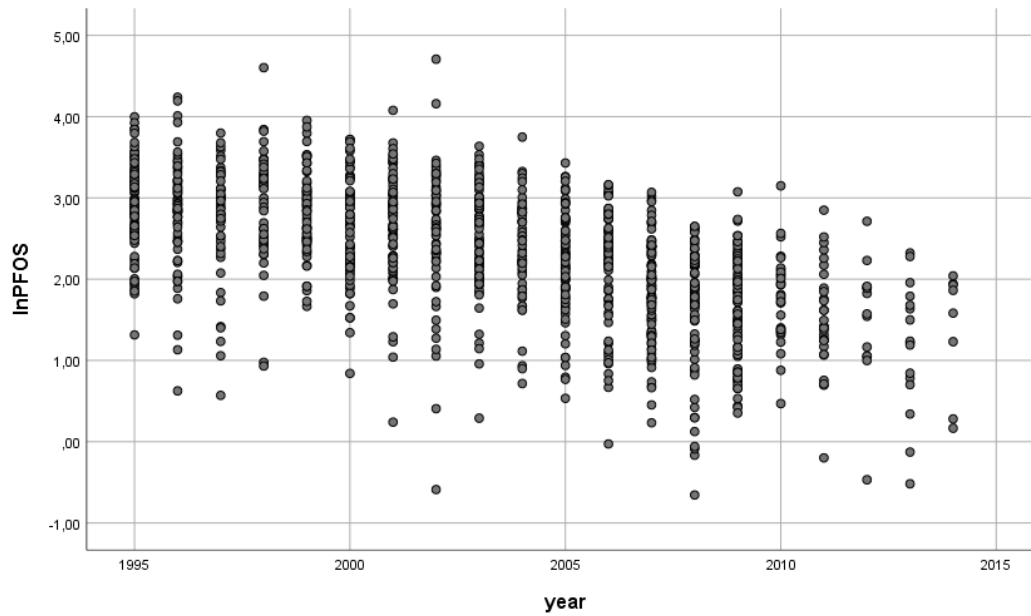


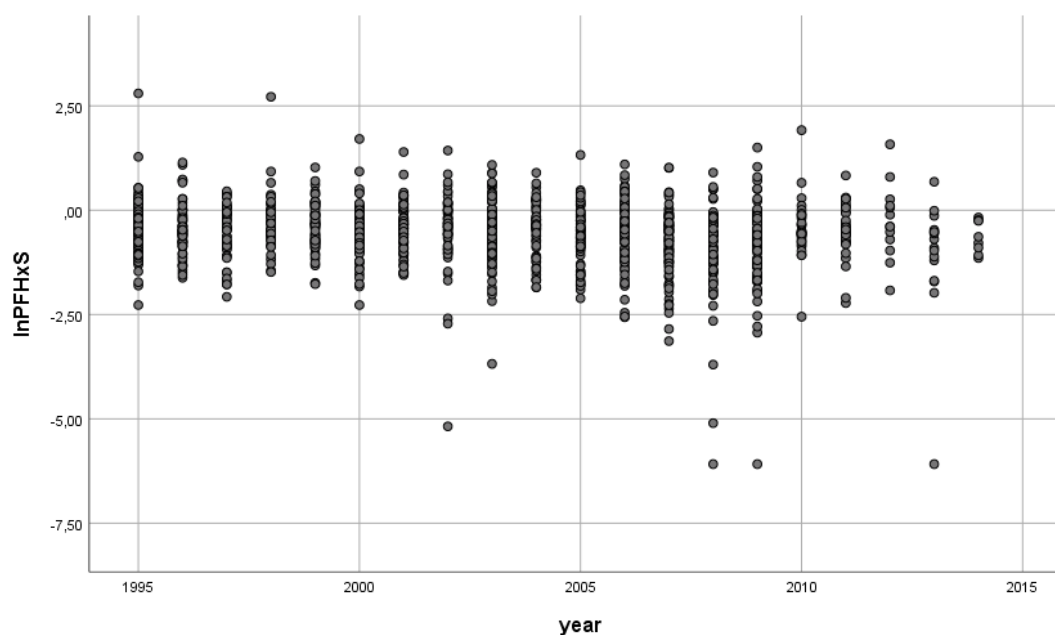
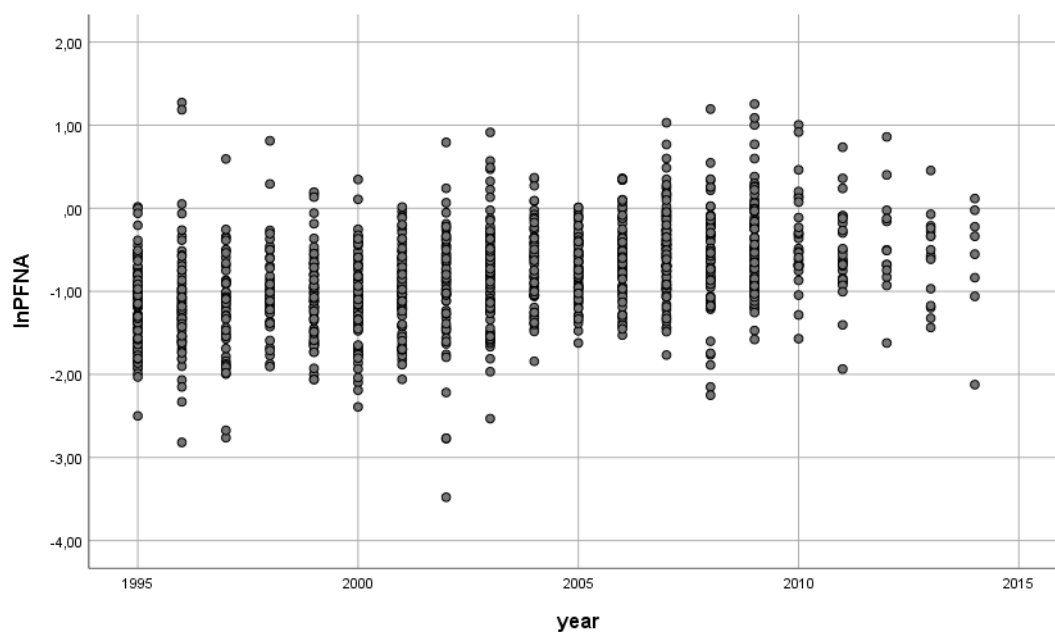


Den högsta parvisa korrelationen observerades mellan PFOS och PFOA ($r_s=0.68$) medan den lägsta korrelationen observerades mellan PFOS och PFNA ($r_s=0.06$) (Tabell 2). Samtliga korrelationer, även den lägsta, var statistiskt signifikanta (dvs $p<0.05$).

Tabell 2 Spearmans korrelationskoefficienter (r_s) vid parvisa jämförelse mellan PFAS.

	PFOS	PFOA	PFNA
PFOA	0,68		
PFNA	0,06	0,36	
PFHxS	0,60	0,60	0,38

Figur 2 Plottar som visar logaritmerade (naturliga logaritmen) PFAS och kalenderår.



När de olika PFAS plottades mot kalenderår visade det sig att en bättre linjäritet uppnåddes då PFAS-variablerna logaritmerades, speciellt gällde detta PFOS. Som kan ses i Figur 2 observeras den tydligaste tidstrenden för PFOS, där varje kalenderår i den ojusterade regressionsmodellen i genomsnitt medförde 8,9% minskning av PFOS och där variabeln kalenderår förklarade 32,7% av variationen av PFOS (Tabell 3). Även för PFOA och PFHxS sågs en minskning över tiden men kalenderår förklarade endast några fåtal procent av variationen. För PFNA observerades dock en ökning över tiden (5,2% per kalenderår) och 17,0% av variationen förklarades av kalenderår. I Tabell 3 går det att se att i de justerade

regressionsmodellerna ändrades estimaten, dvs procentuell förändring per kalenderår, endast marginellt även om de multivariata modellerna totalt sett förklarade en större andel av variationen av de olika PFAS. Då endast förstföderskor inkluderades i regressionsmodellerna var mönstret väldigt likt (ej i tabell).

Tabell 3 Procentuell förändring med 95 % konfidensintervall (KI) per kalenderår av de olika PFAS erhållna från linjära regressionsmodeller. Såväl ojusterade som justerade skattningar visas. Dessutom visas förklarad andel av variationen för modellerna (R^2), dvs i de ojusterade modellerna endast för kalenderår medan i de justerade modellerna för samtliga inkluderade variabler.

	Ojusterade skattningar		Justerade skattningar *	
	Procentuell förändring per år (95% KI)	R^2	Procentuell förändring per år (95% KI)	R^2
PFOS	-8.9 (-9,5 – -8.1)	32,7	-9.9 (-10,6 – -9,2)	41,1
PFOA	-2,5 (-3,1 – -1,9)	4,2	-3,5 (-4,1 – -2,9)	14,9
PFNA	5,2 (4,5 – 5,9)	17,0	4,5 (3,8 – 5,1)	21,7
PFHxS	-2,3 (-3,1 – -1,4)	2,0	-3,4 (-4,3 – -2,7)	20,6

* Förutom PFAS-variabeln inkluderades även ålder (år), BMI (kg/m²), paritet (förstföderskor och omföderskor) och delstudie (CP och preeklampsi/tillväxt).

DISKUSSION

Den största minskningen över tid som observerades i den aktuella studien var för PFOS vars serumnivåer hos gravida kvinnor i tidig graviditet minskade med ca 9-10% per kalenderår under perioden 1995-2014. Dessutom förklarade kalenderår en relativt stor andel av variationen av PFOS, ca 33%. Trots att PFOS uppvisade den största minskningen så uppmättes högst nivåer av PFOS under hela tidsperioden. Även serumnivåerna av PFOA och PFHxS minskade under tidsperioden men betydligt mindre än PFOS och kalenderår förklarade en avsevärt mindre andel av variationen i dessa ämnen. För PFNA gällde dock motsatt tidstrend, dvs serumnivåerna ökade över tidsperioden med ca 5% per kalenderår och ca 17% av variationen av PFNA förklarades av kalenderår. Det är rimligt att tänka sig att PFNA som introducerades betydligt senare än PFOS och PFOA går i motsatt riktning, speciellt som användning av PFOS sedan en längre tid tillbaka har förbjudits.

I en studie inom SELMA-kohorten (inkluderande gravida kvinnor i Värmland) observerades liksom i den aktuella studien en signifikant minskning över tiden för PFOS, PFOA och PFHxS med den största minskningen för PFOS (Shu et al., 2018). Men till skillnad från den aktuella studien observerades det dock en icke-signifikant ökning av PFNA över tiden. SELMA-kohorten inkluderade dock endast en tidsperiod om fyra år, 2007-2010, medan den aktuella studien inkluderar en tidsperiod om tjugo år (1995-2014). Dessutom var det ett

relativt stort bortfall i SELMA-studien (Bornehag et al., 2012). En studie inkluderande förstföderskor i Uppsala baserad på poolade analyser visade även den på tydliga minskningar för såväl PFOS som PFOA under perioden 1996-2017 medan mönstret för såväl PFNA som PFHxS inte var lika uppenbart (Miaz et al., 2020). Preliminära data i en HÄMI-finansierad studie inkluderande huvudsakligen yngre män under perioden 2000-2017 visar även den på minskade nivåer av PFOS, PFOA och PFHxS medan PFNA ökar fram till ca 2010 för att sedan minska något (Norén et al., manuskript).

Den högsta parvisa korrelationen observerades mellan PFOS och PFOA vilket stämmer väl överens med bl a en studie inkluderande mor och barn i en från södra Sverige (Ode et al., 2013).

Den aktuella studien har ett antal styrkor. Över 90% av de gravida kvinnorna i Skåne som ursprungligen valdes som kontrollkvinnor i de två epidemiologiska studierna återfanns i biobanken. Detta innebär att selektionsbias i den aktuella studien är att betrakta som ett mindre problem och att studien därför kan ses som populationsbaserad inom gruppen gravida kvinnor. Dessutom samlades samtliga serumproverna in i ett relativt kort tidsintervall i tidig graviditet vilket innebär att vi inte har behövt ta höjd för att nivåerna av PFAS eventuellt skulle ändras något under en graviditet. Däremot är proverna sannolikt inte nedfrysta på ett standardiserat sätt vilket hade varit optimalt men ämnens stabilitet gör det osannolikt att det skulle påverkat resultaten mer än marginellt. En stor fördel med studien är även att laboratoriet där analyserna genomförde (dvs Arbets- och miljömedicin i Lund) har stor erfarenhet i såväl stora nationella som internationella studier av att analysera denna typ av serumprover med små volymer. Laboratoriet deltar dessutom i flera interlaboratorietest-program (HBM4EU, Erlangen).

Sammanfattningsvis visade PFOS såväl de högsta koncentrationerna liksom den största minskningen över tiden. Även om användning av PFOS har förbjudits och en tydlig minskning syns så gör dess persistens att de fortsatt kommer att kunna detekteras om än i lägre nivåer.

REFERENSER

Bornehag CG, Moniruzzaman S, Larsson M, Lindström CB, Hasselgren M, Bodin A, von Kobyletzki LB, Carlstedt F, Lundin F, Nånberg E, Jönsson BA, Sigsgaard T, Janson S. The SELMA study: a birth cohort study in Sweden following more than 2000 mother-child pairs. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2012 Sep;26(5):456-67.

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), Knutsen HK, Alexander J, Barregård L, Bignami M, Bräuschweiler B, Ceccatelli S, Cottrill B, Dinovi M, Edler L, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom LR, Nebbia CS, Oswald IP, Petersen A, et al., 2018. Scientific Opinion on the risk to human health related to the presence of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid in food. *EFSA Journal* 2018;16(12):5194, 284 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5194>.

Environmental Protection Agency (EPA), US. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). 2020. <https://www.epa.gov/pfas>

Gyllenhammar I, Benskin JP, Sandblom O, Berger U, Ahrens L, Lignell S, Wiberg K, Glynn A. Perfluoroalkyl Acids (PFAAs) in serum from 2-4-month-old infants: Influence of maternal serum concentration, gestational age, breast-feeding, and contaminated drinking water. *Environ Sci Technol*. 2018 Jun 19;52(12):7101-7110.

Kemikalieinspektionen (KEMI), Sverige. Högfluorerade ämnen – PFAS. 2019. <https://www.kemi.se/kemiska-amnen-och-material/hogfluorerade-amnen-pfas>

Li Y, Fetcher T, Mucs D, Scott K, Lindh CH, Tallving P, Jakobsson K. Half-lives of PFOS, PFHxS and PFoA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occup Environ Med* 2018;75:46-51.

Lindh CH, Rylander L, Toft G, Axmon A, Rignell-Hydbom A, Giwercman A, Pedersen HS, Góalczyk K, Ludwicki JK, Zvyezday V, Vermeulen R, Lenters V, Heederik D, Bonde JP, Jönsson BA. Blood serum concentrations of perfluorinated compounds in men from Greenlandic Inuit and European populations. *Chemosphere*. 2012 Sep;88(11):1269-75. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.03.049. Epub 2012 Apr 10.

Martinsson M, Nielsen C, Björk J, Rylander L, Malmqvist E, **Lindh C**, Rignell-Hydbom A. Intrauterine exposure to perfluorinated compounds and overweight at age 4: A case-control study. *PLoS One*. 2020 Mar 16;15(3):e0230137. doi: 10.1371/journal.pone.0230137. eCollection 2020.

Miaz LT, Plassmann MM, Gyllenhammar I, Bignert A, Sandblom O, Lignell S, Glynn A, Benskin JP. Temporal trends of suspect- and target-per/polyfluoroalkyl substances (PFAS), extractable organic fluorine (EOF) and total fluorine (TF) in pooled serum from first-time mothers in Uppsala, Sweden, 1996-2017. *Environ Sci Process Impacts* 2020 doi: 10.1039/c9em00502a [Epub ahead of print].

Norén E, Lindh C, Glynn A, Rylander L, Nielsen C. Concentrations and temporal trends 2000-2017 of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in serum of Swedish adolescents. (Manuscript in preparation).

Ode A, Rylander L, Lindh CH, Källén K, Jönsson BA, Gustafsson P, Olofsson P, Ivarsson SA, Rignell-Hydbom A. Determinants of maternal and fetal exposure and temporal trends of perfluorinated compounds. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2013 Nov;20(11):7970-8.

Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, Zobel LR. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 2007;115:1298-1305.

Ritscher A, Wang Z, Scheringer M, Boucher JM, Ahrens L, Berger U, Bintein S, Bopp SK, Borg D, Buser AM, Cousins I, DeWitt J, Fletcher T, Green C, Herzke D, Higgins C, Huang J, Hung H, Knepper T, Lau CS, Leinala E, Lindstrom AB, Liu J, Miller M, Ohno K, Perkola N, Shi Y, Småstuen Haug L, Trier X, Valsecchi S, van der Jagt K, Vierke L. Zürich statement on

future actions on per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs). *Environ Health Perspect.* 2018 Aug;126(8):84502. doi: 10.1289/EHP4158.

Shu H, Lindh CH, Wikström S, Bornehag CG. Temporal trends and predictors of perfluoroalkyl substances serum levels in Swedish pregnant women. *PLoS One.* 2018 Dec 31;13(12):e0209255. doi: 10.1371/journal.pone.0209255. eCollection 2018.

WHO 2012. *State of the Science of endocrine Disrupting Chemicals 2012.* Edited by Åke Bergman et al.