

**MED – 3950 5.-årsoppgaven –
Profesjonsstudiet i medisin ved Universitetet i Tromsø**



UiT / NOREGS ARKTISKE
UNIVERSITET

**NIVÅER AV PERFLUORERTE STOFFER I BLOD HOS 30 ÅR
GAMLE MENN I 1986, 1994, 2001 OG 2007;
Endring over tid, eksponeringskilder og mulige helseeffekter.**

Av: Karoline L. Solvoll, MK-11

**Veileder: Torkjel M. Sandanger,
førsteamanuensis**

**Biveiledere:
PhD Vivian Berg, PhD Linda Hanssen**

BODØ, 31. mai 2016

Forord

Som tema for den obligatoriske 5.-årsoppgaven ønsket jeg å skrive om miljøgifter og helseeffekter. Jeg visste lite og hadde ikke anelse hvor jeg skulle begynne i et hav av litteratur. Torkjel M. Sandanger har vært min hovedveileder og hjulpet meg mye med oppgaven og styrt meg i riktig retning fra begynnelse til slutt. Tusen takk for all hjelp og tålmodighet.

Takk til biveileder Linda Hanssen for all hjelp og veiledning på laboratoriet, for analyseringen og for å inkludere meg i det gode arbeidsmiljøet ved NILU den uken jeg var der.

Ønsker også takke biveileder Vivian Berg for all hjelp med statistikken, korrekturlesning og flotte kommentarer og råd underveis. Evig takknemlig for all hjelp.

Resymé

Bakgrunn: Poly- og perfluoralkylerte stoffer (PFAS) er menneskeskapt forbindelser som de siste 60 årene har spredt seg til miljø og mennesker. Nivåene som har vært påvist i mennesker og disse stoffenes mulige negative helseeffekter har skapt bekymring. Biomonitorering bidrar i den sammenheng med viktig informasjon om nivåer og tidstrender, samt data for studier på mulige helseeffekter.

Formål: Formålet med oppgaven er å i) sammenligne PFAS nivåer i 30 år gamle menn fra Nord-Norge ved fire tidspunkter og beskrive endringer over tid; ii) sammenligne med andre studier; iii) vurdere om konsentrasjonene kan være helseskadelige for mennesker.

Metoder: Gjennom fire gjentatte tverrsnittstudier ble totalt 120 serumprøver analysert for åtte PFASer i en nordnorsk studiepopulasjon på 30 år gamle menn fra 1986, 1994, 2001 og 2007 (n=30 ved hvert tidspunkt). Publisert litteratur ble brukt til sammenligning.

Resultater: Median serumkonsentrasjon for PFOS og PFOA doblet seg fra 1986 til 2001, og sank deretter med 57% og 30% fra 2001 til 2007 (PFOS 10,82 mg/ml og PFOA 2,36 ng/ml i 2007). Den samme trenden ble også observert for PFHxS og PFHpS i samme tidsperiode, men nedgangen fra 2001 til 2007 for disse stoffene var ikke signifikant. Serumkonsentrasjonene for PFUnDA, PFNA og PFDA viste økning gjennom alle tidspunktene.

Konklusjon: Dette studiet demonstrerer endringer i PFASer i 30 år gamle menn i perioden 1986 -2007. Endringene i konsentrasjoner mellom prøvetidspunktene samsvarer med produksjon og bruk av PFASer for samme periode. Konsentrasjonene i nordnorske menn er relativt lave og kan generaliseres til norske kvinner og menn i fertil alder. Flere effektstudier indikerer at lave PFAS-konsentrasjoner som er sammenlignbare med konsentrasjonene i denne studien kan påvirke menneskers helse. Spesielt hos sårbare grupper som gravide kvinner, foster og barn. Det er derfor viktig å gjennomføre effektstudier som tar høyde for historisk eksponering for å påvise sammenhengen mellom sykdom og PFASer.

Innhold

Resymé.....	s.3
Forkortelser.....	s.5
Introduksjon	
Hva er PFAS?.....	s.6
Historiske utslipp.....	s.7
Humane eksponeringsveier.....	s.8
Bioakkumulering og distribusjon i mennesket.....	s.9
Potensielle helseeffekter.....	s.9
Biomonitorering.....	s.11
Målsetning.....	s.12
Metode	
Arbeidsprosess.....	s.13
Litteratur og søk.....	s.14
Studiepopulasjon.....	s.14
Kjemisk analyse.....	s.14
Statistiske analyser.....	s.15
Resultat	
Resultater.....	s.16
Serumkonsentrasjon for PFAS (tabell 1).....	s.17
Prosent deteksjon (Figur 4)	s.18
Box-plot (Figur 5)	s.19
Diskusjon	
Konsentrasjonsforskjeller mellom 30 åringer over tid.....	s.20
Sammenligning med andre studier.....	s.20
Nivåer i 30 år gamle menn og overførbarheten til den generelle populasjonen.....	s.21
Eksponering for ulike fødselskohorter.....	s.21
Pre- og postnatal eksponering for PFASer.....	s.22
Utfordringer knyttet til tid fra eksponering til målbar effekt.....	s.23
Statistiske utfordringer.....	s.24
Konklusjon.....	s.25
Referanser.....	s.26
Appendiks	
Figur 6 og Tabell 2.....	s.29

Forkortelser

ECF – Elektrokjemisk fluorisering

FT3 – Fritt trijodtyronin

FOSA – Perfluoroktan sulfonat

Gj.st – Gjennomsnitt

LC-MS – Væskekromatografi massespektrometri

LOD – Deteksjonsgrense

n – antall

NILU – Norsk institutt for luftforskning

PPAR – Peroxisom proliferatoraktiverende reseptor

PFAS – poly-/perfluoralkylforbindelser/stoffer

PFDA – Perfluorodekansyre

PFHpS – Perfluorheptansulfonat

PFHxS – Perfluorheksansulfonat

PFNA – Perfluorononansyre

PFOS – Perfluoroktansulfonat

PFUnDA – Perfluoroundekansyre

POFS – Perfluoroksylsulfonylfluorid

POP – Persistente organiske miljøgifter

SD – Standardavvik

T3 – Trijodtyronin

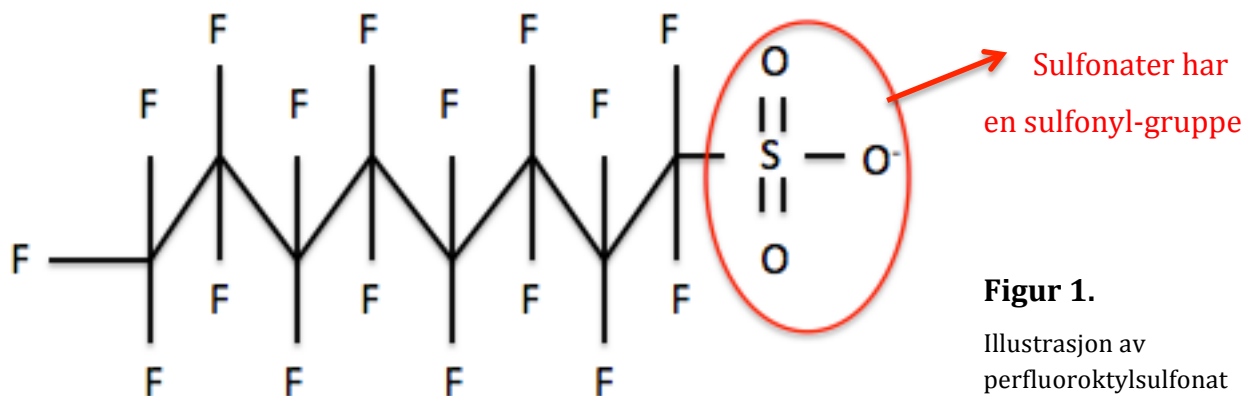
T4 – Tyroksin

TSH – Tyreoideastimulerende hormon

Introduksjon

Hva er PFAS?

Fellesbetegnelsen for en stor gruppe fluorerte forbindelser er per- og polyfluoralkylerte stoffer (PFAS) (1). De fleste PFASene har egenskapene til å klassifiseres som persistente organiske miljøgifter (POP) (2): De har lang nedbrytningstid i miljøet, bioakkumulerende egenskaper, transporteres over lange avstander og kan potensielt være skadelig for miljøet og levende organismer (3). Hittil er kun to PFASer klassifisert som POP i Stockholm Konvensjonen (2). Den kjemiske strukturen til PFASene gir dem deres unike egenskaper. De er bygd opp av hydrofobe og hydrofile grupper (4). Den hydrofobe gruppen består av en karbonkjede som varierer fra fire til fjorten karbonatomer (C₄-C₁₄), hvor hydrogenatomene enten er fullstendig erstattet med fluoratomer (perfluoralkylerte stoffer) eller hvor minst et hydrogenatom er erstattet av et fluoratom (polyfluoralkylerte stoffer) (2). Den hydrofile delen består av en funksjonell gruppe som brukes til å klassifisere PFASene og de mest studerte er karboksylater og sulfonater (4).



Figur 1.

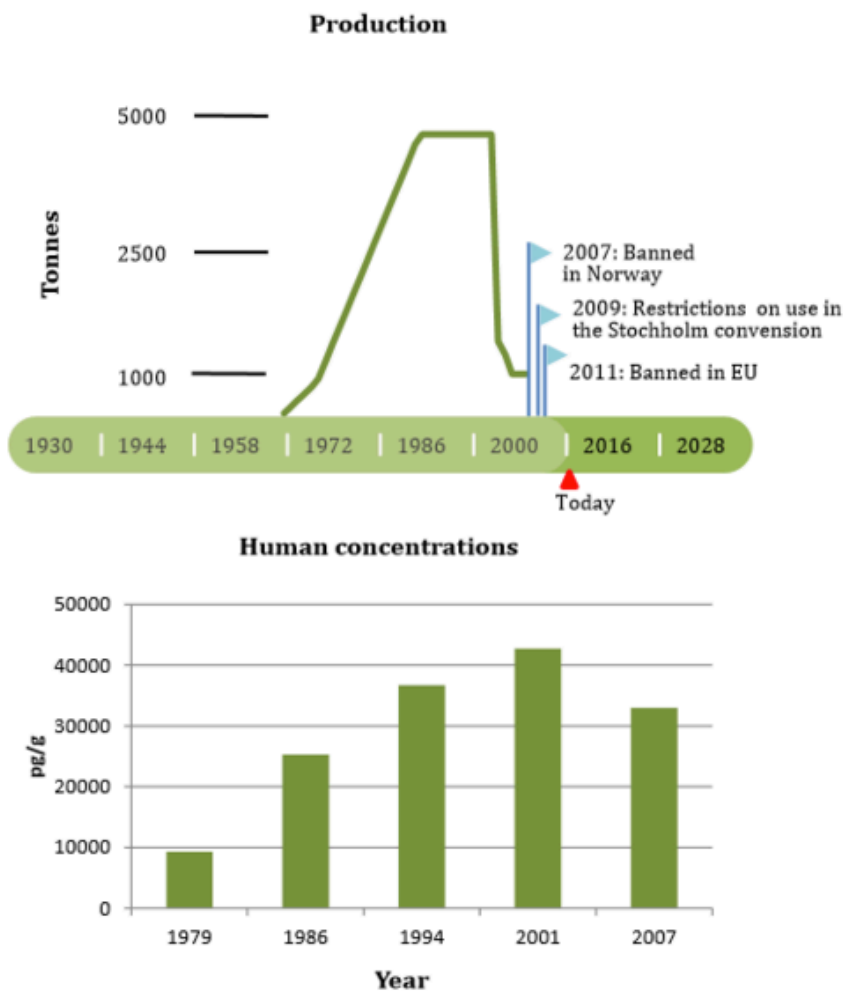
Illustrasjon av perfluoroktylsulfonat (PFOS).

PFAS er menneskeskapt stoffer som kan bli syntetisert på to ulike måter, enten ved elektrokjemisk fluorisering (ECF) eller telomerisering. I ECF-prosessen produseres en base av perfluoroktylsulfonylfluorid (POSF) som brukes videre i produksjon av perfluoroktylsulfonat (PFOS)-forbindelser. Resultatet gir en miks av homologer og isomerer som har ulike strukturer og kjedelengder. Den største produsenten av PFASer, 3M, brukte denne prosessen. Den andre metoden er telomerisering hvor stoffene ikke blir fullt fluoriserte, men får en etylgruppe mellom den funksjonelle gruppen og perfluoralkylkjeden, og kalles gjerne telomerer (5).

PFAS har et bredt bruksområde på grunn av deres fett- og vannavstøtende egenskaper, høy termisk stabilitet og kjemisk inaktivitet. De har hovedsakelig vært brukt som råmateriale i overflateaktive stoffer (som for eksempel surfaktanter), og produkter som virker overflatebeskyttende. De er også brukt som komponent i brannslukningsskum, impregneringsstoffer for tekstiler, papir og lær, insektmiddel, rense- og poleringsmidler, gruve- og oljeboring (4).

Historiske utslipp

I 1949 startet produksjonen og bruken av PFAS, og den økte i løpet av 1970-tallet (6). Mellom 1970 og 2002 ble produksjon av perfluoroktylsulfonylfluorid (POSF), inkludert forgjengere til PFOS, estimert til å være 96 000 tonn (se Figur 2). Før 1970-tallet var produksjon i utviklingsfasen, og produksjonsvolumet er dermed antatt å være lavt (7).



Figur 2.

Estimert global produksjonsvolum for PFOS-relaterte produkter fra 1940 til 2010 (grønn linje i graf, øverst) hentet med tillatelse fra Paul et al. (7). Det nederste diagrammet viser serumkonsentrasjoner av PFOS ved fem ulike tidspunkt i en populasjon fra Tromsøundersøkelsen av Nøst et al. (6).

PFASene ble initialt regnet som ikke-giftige (4), men man har i nyere tid gjort oppdagelser som har endret denne statusen. Det er særlig blitt rettet fokus mot PFOS og PFOA. Som konsekvens ble produksjon av PFOS-forbindelser gradvis utfaset av den største produsenten, 3M, i løpet av 2000-2002. Dette var en selvpålagt restriksjon av 3M. I 2007 ble PFOS videre forbudt i Norge, og i 2011 i EU. I tillegg ble PFOS inkludert i Annex B (restriksjon av produksjon og bruk) under Stockholm Konvensjon i 2009. I 2014 ble det i Norge forbudt å importere og eksportere produkter som inneholdt PFOA. Det har også vært et mål å stoppe produksjon av PFOA og langkjedete perfluoralkyl karboksylsyrer innen 2015 (6). PFOA er også klassifisert som mulig karsinogent for mennesker av WHO's International Agency for Research on Cancer (8).

PFAS produseres fremdeles i dag, der de store primærprodusentene er Europa, USA og Asia (7), og i Asia har produksjonen økt siden 2003 (9). Man regner med at de største utslippene er knyttet til regioner hvor det foregår produksjon og bruk av forbrukerprodukter. Så mye som 85% av de globale utslippene kommer av forbrukerprodukter og avfall, mens de resterende 15% kommer fra fabrikantene (7). I Norge er det imidlertid ingen PFAS-produksjon, men det importeres kjemikalier og ferdige produkter med PFAS som komponenter (5).

Selv om produksjonen av PFASer i dag er mye lavere enn tidligere, har de store produksjonsvolumene fra 1900-tallet medført store miljøutslipp (7). Det er i den nordlige hemisfære de høyeste miljøkonsentrasjonene av PFAS er blitt rapportert, og det er også her hovedproduksjonen av PFAS har forekommet. PFAS detekteres i både luft og vann, og flere av forbindelsene har potensial til å transporteres til fjerntliggende områder via luft- og havstrømmer (4). På denne måten vil PFASer være et globalt miljøproblem uavhengig av produksjonssted og vil eksistere i miljøet i lang tid fremover.

Humane eksponeringsveier

Gjennom produksjon og bruk ender miljøgifter raskt opp i miljøet og biota (2). PFAS akkumulerer i næringskjedene, og da særlig i den marine. Hos den generelle befolkningen er det diett som regnes som den største eksponeringskilden. Eksponering skjer også via luft, drikkevann og andre vannbaserte drikker, samt husstøv og forbrukerprodukter som inneholder PFAS, og disse er det mange av (2, 4). De høyeste konsentrasjoner er detektert hos de som spiser mye sjømat. Blant mennesker har den generelle befolkningen lavere PFAS konsentrasjoner enn yrkeseksponerte og populasjoner som har lokale eksponeringskilder (4).

Eksponering for PFAS skjer så tidlig som i fosterlivet via placentaoverføring. I tillegg vil spedbarn som ammes eksponeres gjennom brystmelken (10). Selv om konsentrasjonene av PFAS gjennom morsmelk er lave vil ammeperioden gi barna nivåer, per kg kroppsvekt, som er sammenlignbare eller høyere enn hos voksne (11).

Bioakkumulering og distribusjon i mennesket

I utgangspunktet trodde man som nevnt at PFASene ikke var giftige (4), men etter hvert fant man at de hadde både bioakkumulerende og mulig toksiske egenskaper. Noe som er av bekymring når mennesker er i toppen av sin næringskjede (6). PFAS er ulik andre POPer, som for eksempel PCBer og pesticider som er fettløselige og akkumulerer i fettvev, fordi PFAS er å finne bundet til proteiner i sirkulasjonen eller i proteinrike organer som lever og nyrer (12, 13). Sammenlignet med andre vev er det funnet høye konsentrasjoner av PFOS og PFOA i lever hos mennesker. Dette kan tyde på at leveren kan være et foretrukket mål for PFAS (4, 12).

Halveringstiden i mennesker er i grove trekk tiden det tar før halvparten av PFAS-konsentrasjonene er eliminert fra kroppen, og denne varierer med kjedelengden for de ulike PFASene hvor de kortkjedete har kortere halveringstid. For perfluoroktylsulfonat (PFOS) og perfluoroktylsyre (PFOA), som begge har åtte karbonatomer (C_8) i kjeden, er halveringstiden henholdsvis rundt 4,6 og 3,4 år (2). PFASene er veldig stabile molekyler som ikke metaboliseres, men elimineres sakte via urin og galle. Eliminasjonshastigheten varierer fra art og kjønn, der menneskers eliminasjonshastighet er mye tregere enn hos andre dyr. En trolig årsaker til dette kan være enterohepatisk sirkulasjon og reabsorpsjon i nyrene (4).

Potensielle helseeffekter

Mange assosiasjonsstudier knytter PFASer til helseeffekter som hormonforstyrrelser, levertoksisitet, immunotoksisitet, og ulike former for kreft (14).

Flere PFASer er potensielle hormonforstyrrende kjemikalier, og kan påvirke funksjonen til steroid- og thyreoideahormoner (15). Dette fordi de ligner kroppens egne hormoner og kan imitere, forstyrre eller blokkere funksjonen til endogene hormoner i mennesket (16). I en norsk studie av Berg et al. fant man høyere TSH verdier hos kvinner med høyere PFOS konsentrasjoner sammenlignet med kvinner med lave konsentrasjoner. Samt at kvinner som hadde høy PFUnDA konsentrasjon hadde lavere konsentrasjoner av T3, og de med høy PFDA

konsentrasjon hadde lavere FT3 (2). Høye nivåer av TSH og lave T3 og T4 hos mor, er igjen assosiert med økt risiko for spontanabort og prematur fødsel (17).

Det er vist at PFAS kan binde og aktivere Peroxisom proliferatoraktiverende reseptorer (PPAR) (18). PPAR har en viktig rolle i lipidmetabolismen og regulering av energi homeostasen i kroppen (19). PPAR α er uttrykt blant annet i hepatocytter i leveren, og aktivering av reseptoren vil redusere plasma triglyserider og low-density lipoproteiner (LDL) og øke high-density lipoproteiner (HDL) produksjon. PPAR γ aktivering øker blant annet glukosemetabolismen og insulin sensitiviteten (19). Disse reseptorene har vært mål for mange medikamenter som forsøker å behandle dyslipidemi og diabetes (13). Noen hypoteser blant forskere har vært at eksponering for PFAS kan bedre lipidprofilen hos mennesker og dermed redusere risikoen for metabolsk syndrom (19). I studier med gnagere har PFOA vist å inducere hypolipidemi, men epidemiologiske studier på mennesker har ikke rapportert lignende resultater (8). Noen studier har rapportert at PFASer har redusert lipider i serum og økt triglyserider, og dette da trolig gjennom aktivering av PPAR (19).

PFAS har også vært koblet til immunotoksisitet (4). I en norsk studie av Granum et al. foreslås det at prenatal eksponering for de ulike PFASene kan føre til redusert immunitet i tidlig barndom. I studien fant de at høye konsentrasjoner av PFOA, PFNA, PFHxS og PFOS i mors blod under svangerskapet var assosiert med lavere antistoff nivåer fra rubellavaksinen hos barn i 3-års alderen. Barna hadde også flere episoder med forkjølelse og gastroenteritt sammenlignet med barn av mødre med lavere PFAS konsentrasjoner (10). I en prospektiv studie fra Færøyene fant man sammenheng mellom høy eksponering for PFAS og reduksjon i humoral immunitet respons hos barn i 5 og 7- års alderen for barnevaksiner (20). PFOS og PFOA har også blitt rapportert å være assosiert med redusert natural killer (NK-) celle aktivitet (10).

I en liten kasus-kontroll studie med grønlandske brystkreftpasienter ble det funnet signifikant høyere serumnivåer av PFOS, PFOA, PFHxS og FOSA enn like kontroller, og PFOS og FOSA ble funnet å være risikofaktorer (21). I en dansk studie av Wielsøe et al fant én at PFAS hadde mulig cytotoxisk og genotoksisk potensial på humane leverceller. Den karsinogene mekanismen for PFAS er ikke klarlagt, men en mulig mekanisme er PFAS evne til å inducere oksidativt stress (15).

Til tross for at det gjennom alle disse studiene har vært koblinger mellom PFAS og potensielle helseeffekter er det verdt å nevne at disse humane studiene viser assosiasjoner og forteller ikke noe om årsakssammenhengen.

Biomonitorering

Human biomonitorering brukes som et kvantitativt mål på miljøgifter og andre stoffer mennesker eksponeres for. Denne typen overvåkning gir viktig informasjon om fortidens og nåtidens humane eksponering av forurensende stoffer som kan brukes videre av reguleringsmyndigheter og organer, som Stockholm Konvensjonen, til for eksempel begrensning av ytterligere eksponering. Men er også essensielt i epidemiologiske studier for å undersøke potensielle helseeffekter (22). Det er lave konsentrasjoner hos den generelle befolkningen av både PFAS og andre miljøgifter (4). Til tross for lave doser av miljøgifter er mennesket i dag eksponert for flere stoffer samtidig og det er uvisst hva en slik cocktail av miljøgifter kan ha av effekter over tid, og om de utgjør en form for synergisme, som vil si at de sammen kan ha en forsterket effekt enn stoffene alene (23).

Noen studier har vist at det ikke er signifikante forskjeller mellom PFAS nivåer hos kvinner og menn i voksen alder (24, 25). Mens andre studier har vist at det ikke er kjønnsforskjeller frem til 12 års alder (26, 27). Men at etter puberteten oppstår kjønnsforskjeller som følge av at kvinner menstruerer, føder barn og ammer (2, 28). Monitorering av PFASer i 30 år gamle menn i ulike tidsperioder viser eksponering over tid, og vil kunne være et estimat på nivåer hos førstegangsfødende kvinner i samme periode, og vil derfor kunne si noe om eksponering til foster og barn. Med utgangspunkt i de helseeffektene som er belyst er det nærliggende å tro at eksponering for PFASer i fosterlivet, barndommen og ved pubertet vil kunne bidra til helsepåvirkninger hos mennesker. Slike kausale effekter er ikke lett å identifisere, ikke minst på grunn av varierende eksponering og at potensielle effekter kan utvikles over tid. Det er derfor viktig å monitorere konsentrasjonene av ulike miljøgifter i mennesker for å skape grunnlag for videre forskning.

Målsetning

Målet med oppgaven er å sammenligne nivåer av perfluorerte stoffer i 30 år gamle menn fra 1986, 1994, 2001 og 2007 for å kunne si noe om eksponering av menn i fertil alder ved de ulike tidspunktene. Nivåene vil sammenlignes med hva som er funnet i andre sentrale studier med tanke på endringer over tid og for å vurdere om det er sannsynlig at nivåene vi finner i nordnorske menn kan gi mulige helseeffekter på mennesker med utgangspunkt i effektstudier.

Metoder

Arbeidsprosess

I desember 2014 bestemte jeg meg for at jeg ville skrive om miljøgifter knyttet opp mot helseeffekter. Følgende måned kontaktet jeg Torkjel Sandanger som er utnevnt miljøgift ekspert ved UiT. I samråd med ham ble de neste ukene brukt til å bestemme problemstilling og utforme en prosjektbeskrivelse. Veileder har stått for REK- godkjenning.

Siden veilederen og jeg ville befinne oss i to ulike land under skriveperioden ble det planlagt veiledning via mail og Skype.

Tidsplan bestemt i prosjektbeskrivelsen ble forskyvet veldig, dels grunnet at laboratoriet ikke var ledig i planlagt tidsrom, data ble forsinket kvantifisert og jeg hadde mye å gjøre i løpet av praksisperioden. I august 2015 ble seks dager brukt på laboratoriet ved NILU, Framsenteret i Tromsø. Hvor jeg fikk opplæring og veiledning på laboratoriet av Linda Hanssen. Tiden på laboratoriet brukte jeg til å ekstrahere og rense serumprøver slik at de var klar for analysering på LC-MS instrument. Hanssen foretok senere kvantifisering og analysering av prøvene.

Etter at praksisperioden var ferdig, i slutten av februar, brukte jeg to uker på litteratursøk og selektering av artikler. Deretter startet det tidskrevende arbeidet med å lære meg hvordan oppgaven skulle skrives, utforming av disposisjon og ekstrahere relevant informasjon fra artiklene som kunne knyttes opp mot min problemstilling. Samt å sette meg inn i stoffet om miljøgiften. Dette tok i overkant tre uker.

I uke 14 var miljøgiftdataene klare, og arbeidet med å tolke resultatene startet. I uke 15 reiste jeg til Tromsø hvor jeg fikk mye hjelp og veiledning til resultat- og statistikkdelen av Vivian Berg. Samtidig startet selve skriveprosessen. Første utkast ble levert i uke 17, og de neste to ukene ble brukt til å justere oppgaven etter råd og kommentarer fra veileder og biveileder. Andre utkast ble levert i uke 19 og tredje i uke 21 hvorpå følgende uke frem til innleveringsfrist ble brukt til å finpusse oppgaven.

Litteratur og søk

Deler av litteraturen som er brukt i oppgaven har jeg fått sendt fra veileder og biveiledere, andre ble hentet fra databasen Pub.Med. For å få oversikt over hvilke artikler som var tilgjengelig og relatert til mennesker søkte jeg etter "perfluoroalkyl substances AND humans", som hadde 123 treff og "perfluorinated compounds AND humans", som hadde 302 treff. Videre selekterte jeg artikler etter å ha lest tittel og sammendrag og knyttet dette til relevans for min oppgave.

Studiepopulasjon

Tromsøundersøkelsen er en populasjonsbasert studie som inkluderer deltakere fra Tromsø. Studien startet i 1974 og hadde da som formål å undersøke årsaken til de høye insidensene av kardiovaskulær sykdom i Nord- Norge. I denne første undersøkelsen var kvinner ekskludert. Siden da har det vært seks undersøkelser til, hvor begge kjønn har vært inkludert. Den siste, Tromsø 7, pågår nå i 2016/17 (29).

I denne oppgaven har vi brukt serumprøver fra 30 år gamle menn fra Tromsø 3, 4, 5 og 6, som svarer til 1986-87 (herfra referert til som 1986), 1994-95 (1994), 2001-2002 (2001) og 2007-2008 (2007) . Blant 30 år gamle menn ble 30 menn fra hver av disse Tromsøundersøkelsene tilfeldig plukket ut (29). Tromsø 2 (1979) ble ekskludert hovedsakelig av økonomiske årsaker, men også på grunn av prøvematerialets integritet og lite volum tilgjengelig.

Kjemisk analyse

Ved laboratoriet til NILU – Norsk institutt for luftforskning, Framsenteret i Tromsø, ble serumprøvene analysert for perfluoroalkylerte stoffer.

PFASer ble ekstrahert fra serum med en modifisert metode fra Powley et al. som er beskrevet av Hanssen et al. (4), med unntak for volumene brukt; 20 µl av 0,1 ng/ µl internal standard var tilsatt i 0,20 mL serum før man tilsatte 1 mL metanol. 20 µl av 0,1 ng/ µl recovery standard var tilsatt. Til slutt, ble 50 µl tatt ut av ekstraktet og overført til en autosamplervial og blandet med lik mengde av 2 mM NH₄OAc, og analysert ved hjelp av Ultrahigh pressure liquid chromatography triple-quadrupole mass- spectrometry (UHPLC- MS/MS). Totalt 17 PFASs, 9 karboksylater (C₄₋₁₂), 6 sulfonater (C₄, C₆₋₁₀), en fluortelomer sulfonat (6:2) og en sulfonamid ble screenet for i en sub-gruppe på 50 serumprøver. PFASer detektert (>LOD) i mer enn 20% av prøvene ble videre kvantifisert i de resterende serumprøvene (n=120).

Statistiske analyser

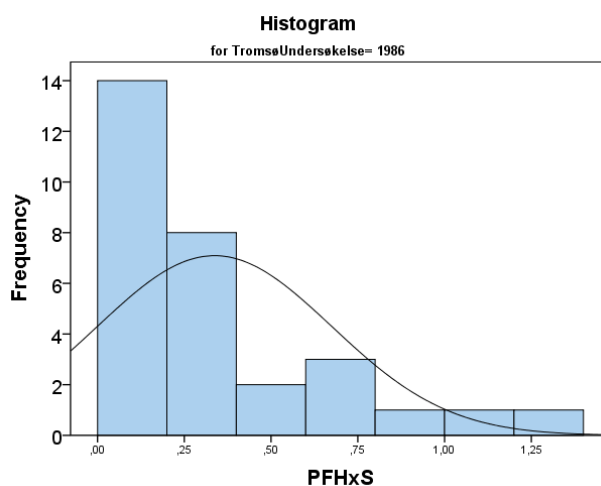
Dataanalyser ble utført med programvarene SPSS versjon 23.0 og Excel versjon 14.5.0. Vi inkluderte kun konsentrasjoner over deteksjonsgrensen (LOD) i de statistiske analysene og N varierer derfor i de analysene. For å undersøke miljøgiftenes distribusjon ble Shapiro Wilks test brukt. For ikke-normalfordelte data ble Kruskal-Willis test med Dunns test for parvise sammenligninger brukt for å vurdere forskjell i PFAS-konsentrasjoner mellom Tromsøundersøkelser. P-verdier $\leq 0,05$ ble ansett som signifikante.

Resultater

Totalt 120 serumprøver fra 30 år gamle menn ved fire ulike tidspunkt ble analysert for 17 PFASer. Av disse ble kun åtte PFASer detektert, disse med ulik deteksjonsgrad (Tabell 1). En visuell framstilling av prosentdeteksjon for de ulike PFASene som ikke er 100% detektert er presentert i figur 4. For PFOS, PFOA og PFHxS er deteksjonsprosenten 100 for alle fire år, med unntak av året 2007 for PFHxS som er 97%. Prosentandel over deteksjonsgrensen synker for FOSA og PFUnDA gjennom hele perioden, mens andelen detektert øker for PFHpS og PFDA frem til 2001, og er synkende fra 2001 til 2007. PFNA viser en økning i deteksjon gjennom hele perioden. Alle PFAS konsentrasjonene hadde en høyreforskjøvet fordeling og var ikke normalfordelt (se Figur 3).

Figur 3.

Eksempel på høyreforskjøvet distribusjon av data. Figuren viser distribusjonen av PFHxS-konsentrasjoner i 30-åringene fra Tromsø 3.



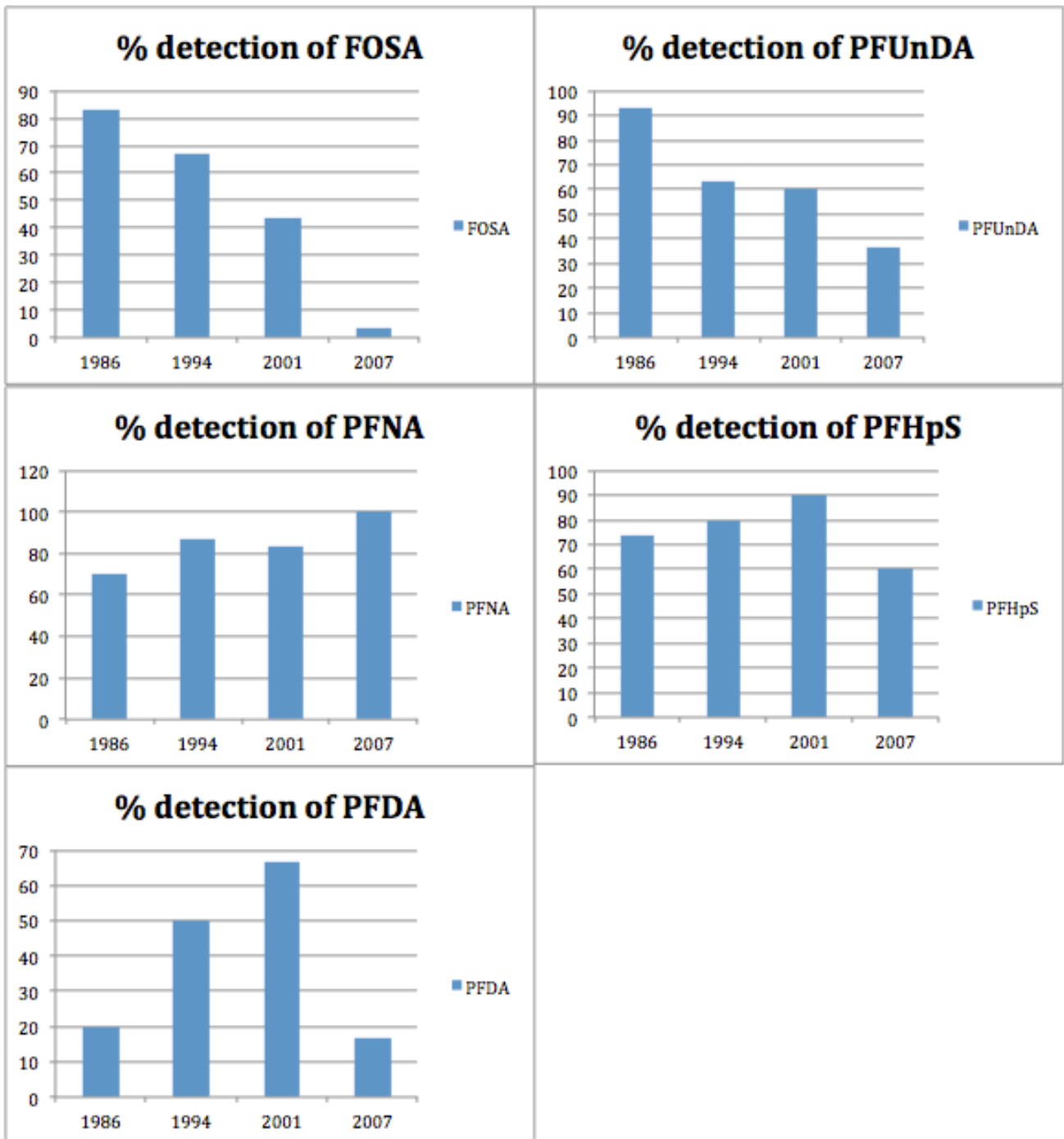
For PFOS og PFOA er det en signifikant økning i serumkonsentrasjon fra 1986 til 2001 (fra 10,08 ng/ml til 25,21 ng/ml for PFOS og fra 1,70 ng/ml til 3,35 ng/ml for PFOA), mens fra 2001 til 2007 observeres en signifikant reduksjon (Figur 5). Median serumkonsentrasjonen for PFOS og PFOA doblet seg fra 1986 til 2001, og reduserte med henholdsvis 57% og 30% fra 2001 til 2007. Den samme signifikante økningen fra 1986 til 2001 ses for øvrig også for PFHxS og PFHpS. Disse stoffene har også en reduksjon fra 2001 til 2007 på henholdsvis 19% og 17%, men ikke signifikante. Det ser ut til at konsentrasjonene for PFOS, PFOA, PFHxS og PFHpS nådde sin topp i 2001. FOSA viser en signifikant reduksjon fra 1986 til 2001, men har ingen tilgjengelig målinger over LOD for 2007. Motsatt, PFUnDA, PFNA og PFDA serumkonsentrasjonene øker fra 1986 til 2007 der kun PFNA viser signifikant økning.

Endringene i konsentrasjoner mellom tidspunktene er i samsvar med endring i deteksjonen gjennom perioden, der tidspunkt med lavest konsentrasjoner også har de laveste deteksjonsgrensene. Den av PFASene som er mest prominent ved alle tidspunktene er PFOS (74-83% av summert median PFAS-konsentrasjoner) > PFOA (11-16%) > FOSA (1-6%) > PFHxS (1-4%) > PFUnDA (0,5-1%).

Tabell 1. Serum konsentrasjon for PFAS (ng/mL) i studiepopulasjonen (n=120), n=30 for hvert tidspunkt.					
		Median*	SD	Gj.st	n > LOD (%)
PFOS	1986	10,08	6,68	14,61	30 (100)
	1994	19,96	12,01	23,00	30 (100)
	2001	25,21	12,26	25,89	30 (100)
	2007	10,82	5,70	10,93	30 (100)
PFOA	1986	1,70	1,41	2,06	30 (100)
	1994	3,14	1,20	3,25	30 (100)
	2001	3,35	1,75	3,49	30 (100)
	2007	2,36	1,18	2,30	30 (100)
FOSA	1986	0,85	0,55	1,02	25 (83)
	1994	0,32	0,34	0,46	20 (67)
	2001	0,28	0,24	0,34	13 (43)
	2007	N/A	N/A	N/A	1 (3)
PFHxS	1986	0,20	0,34	0,34	30 (100)
	1994	0,34	0,43	0,51	30 (100)
	2001	0,80	1,11	1,11	30 (100)
	2007	0,65	0,82	0,81	29 (97)
PFUnDA	1986	0,14	0,18	0,21	28 (93)
	1994	0,16	0,21	0,22	19 (63)
	2001	0,16	0,19	0,19	18 (60)
	2007	0,18	0,29	0,28	11 (37)
PFNA	1986	0,12	0,52	0,28	21 (70)
	1994	0,10	0,20	0,16	26 (87)
	2001	0,19	0,22	0,24	25 (83)
	2007	0,45	0,28	0,46	30 (100)
PFHpS	1986	0,07	0,06	0,09	22 (73)
	1994	0,11	0,14	0,15	24 (80)
	2001	0,12	0,15	0,15	27 (90)
	2007	0,10	0,05	0,11	18 (60)
PFDA	1986	0,09	0,34	0,25	6 (20)
	1994	0,08	0,14	0,14	15 (50)
	2001	0,09	0,08	0,11	20 (67)
	2007	0,11	0,22	0,21	5 (17)

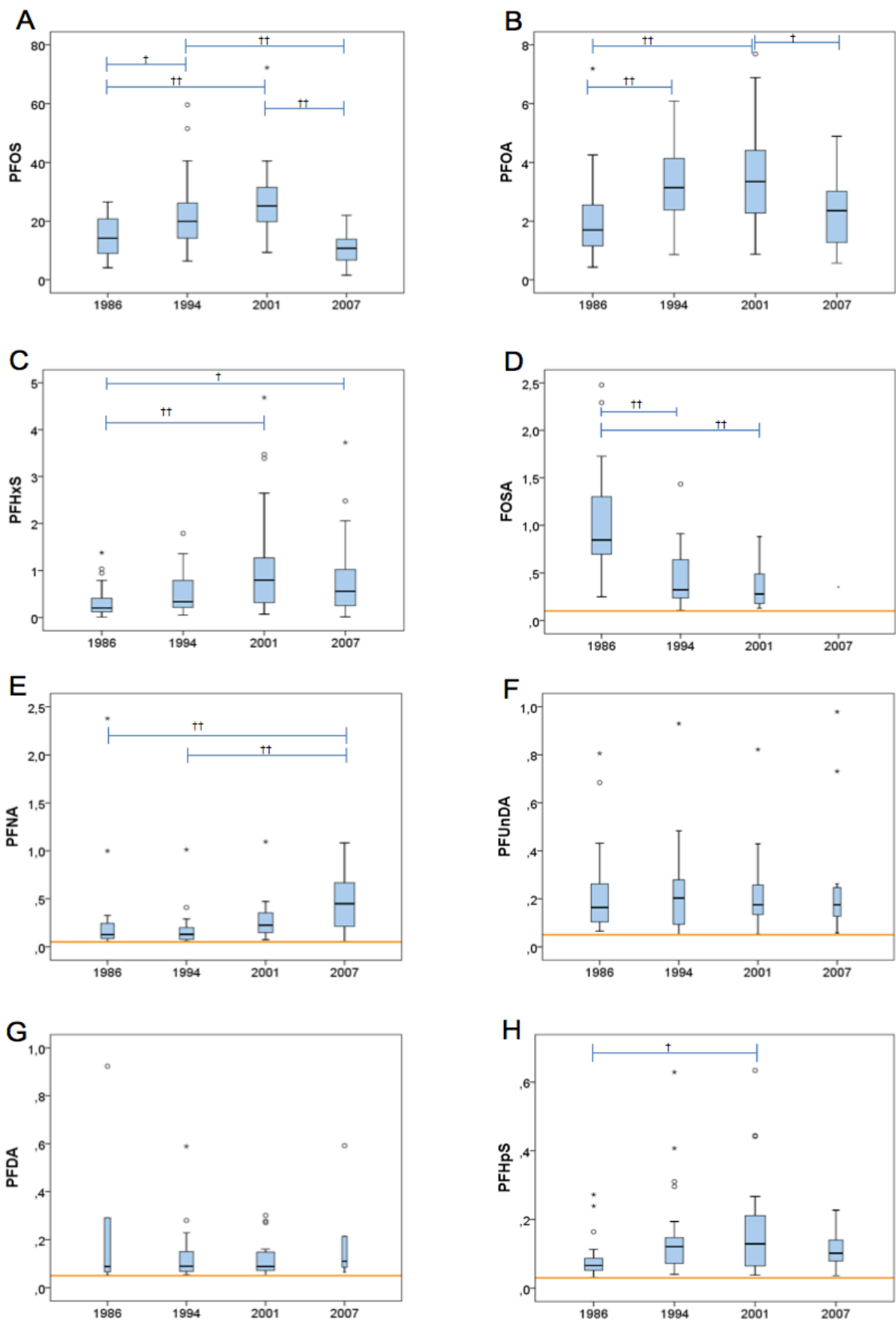
* Median er beregnet på antall n>LOD.

Gj.st , gjennomsnitt; LOD, deteksjonsgrense; n > LOD (%), antall plasmaprøver hvor stoffet var over deteksjonsgrensen (prosentandel); N/A, ikke tilgjengelig; PFOS, perfluoroktan sulfonat ;PFOA, perfluoroktansyre; FOSA, perfluoroktan sulfonat; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFUnDA, perfluoroundekansyre; PFNA, perfluorononansyre; PFHpS, perfluorheptansulfonat; PFDA, perfluorodekansyre.



Figur 4.

Viser deteksjon i prosent for de ulike PFASene. PFOS, PFOA og PFHxS er ikke inkludert da de hadde 100% deteksjon.



Figur 5.

Konsentrasjon av PFASer (ng/mL) i 30 år gamle menn ved 4 ulike tidspunkter av Tromsøundersøkelsen (1986, 1994, 2001 og 2007) presentert med box-plot. PFOS (A), PFOA (B) og PFHxS (C) er presentert med N=30 for hver undersøkelse. For de øvrige PFASer er konsentrasjoner ved hver undersøkelse basert på antall N detektert for de aktuelle stoffer (se Tabell 1), illustrert med ulik bredde på box-plot. Signifikante forskjeller i konsentrasjoner mellom de ulike tidspunktene (Kruskal-Wallis med Dunns test) er presentert over box-plotene med blå linjer, og †; $p < 0.05$ ††; $p < 0.01$. Orange linje presenterer LOD-verdi for de ulike PFASene, verdier under LOD er ikke inkludert.

Diskusjon

Konsentrasjonsforskjeller mellom 30 åringer over tid

De observerte endringene i konsentrasjonene for PFOS og PFOA i studieperioden er i tråd med den historiske produksjon for disse PFASene (se Figur 6, i appendiks). Dette samsvarer med resultatene til Nøst et al. som også viste at PFOS- og PFOA- konsentrasjonene økte frem til 2001, og sank fra 2001 til 2007 i repeterte målinger i nordnorsk menn fra Tromsøundersøkelsen (6). Det er dog merkelig at serumkonsentrasjonene for PFOS og PFOA responderte så raskt på produksjonsreduksjonen i 2000, med tanke på deres lange halveringstid. Man ville her forvente at serumkonsentrasjonene viste en langsommere reduksjon enn det har gjort, nettopp på grunn av halveringstiden, akkumuleringsevnene og den trege elimineringshastigheten hos mennesker. I årene etter utfasingen av PFOS-forbindelser vil det fremdeles være tilgjengelige eksponeringskilder via allerede produserte forbrukerprodukter, forurensset miljø og i næringskjeder. Men etter hvert i mye mindre grad enn tidligere. I motsetning til PFOS og PFOA observerte vi i dette studiet en økning i PFUnDA, PFNA og PFDA konsentrasjonene i hele studieperioden som også Nøst et al. rapporterte. Nøst forklarer observasjonene med at det har foregått produksjon av disse forbindelsene etter 2001, i tillegg til at disse stoffene har lenger elimineringsstid og er mer bioakkumulerende (6).

I mange tverrsnittstudier er det rapportert at miljøgiftkonsentrasjoner i mennesker er positivt assosiert med økende alder. Nøst et al. har i sin studie vist hvor viktig det er å skille mellom longitudinelle og tverrsnittstudier i og med at hun fant at disse konsentrasjonene hos nordnorske menn økte med alder når bruken og utslippet av miljøgiftene var økende. Fødselsår har dermed betydning i forhold til miljøgiftenes produksjon og bruk (6).

Vår studiepopulasjon består av 30 år gamle menn, og støtter Nøst et al. sine funn. Resultatene våre viser at menn født tidlig i 1970, altså de menn som var 30 år i 2001, hadde høyere serumkonsentrasjoner av PFOS, PFOA og PFHxS sammenlignet med menn som var født i 1955, de som var 30 år i 1986, da produksjonen enda var lav. Dette kan ses i sammenheng med at det som nevnt var størst produksjon av PFASer på 70-tallet.

Sammenligning med andre studier

Lignende reduksjon i PFOS- og PFOA-konsentrasjon som ble sett i våre nordnorske menn etter utfasningsårene ble også observert i studier fra Tyskland, USA og Australia (Tabell 2 i

Appendiks). Våre PFAS-konsentrasjoner før utfasningsårene (1986 og 1994) var lavere enn de rapporterte fra USA og Tyskland. Men PFOS-konsentrasjonene våre sammenlignet med Tyskland i 2001 og 2007 var høyere (30-32). En forklaring på dette er at miljøgiftkonsentrasjonene på den nordlige breddegrad forventes å respondere saktere på forandringene etter produksjon på grunn av treg transport av PFOS med havstrømmene. En annen forklaring kan trolig være relatert til nordmenns høye fiskeinntak (6).

I en australsk yrkeseksponert populasjon, ble det i 2013 funnet konsentrasjoner av PFOS og PFHxS i brannmenn som var seks og 38 ganger høyere enn vår populasjon i 2007. Da det var 10 år siden forbudet mot bruk av stoffene i brannslukningsskum inntrådte, reflekterer serumnivåene tidlig eksponering (33).

Nivåer i 30 år gamle menn og overførbarheten til den generelle populasjonen

Miljøgiftkonsentrasjonene i denne oppgaven er målt kun i menn, og er nok et sikrere populasjonsestimat enn konsentrasjoner målt i kvinner der konsentrasjonene er påvirket av menstruasjon, graviditet og amming. Disse faktorene har i flere studier vist å gi store forskjeller i PFAS-konsentrasjoner innad i populasjoner (2, 28). Dette ble understreket i et studie med nordnorske kvinner, av Berg et al. De observerte at kvinner som hadde født barn hadde lavere PFAS-konsentrasjoner enn kvinner som ikke hadde født barn, såkalte nullipara kvinner. Median serum-konsentrasjonene for PFOS, PFOA og PFHxS for disse nullipara kvinnene i 2007-2009 ble rapportert å være henholdsvis 9,97 ng/ml, 2,2 ng/ml og 0,56 ng/ml (2), som er veldig like våre menns konsentrasjoner for tilsvarende PFASer i 2007 (10,82 ng/ml, 2,36 ng/ml og 0,65 ng/ml). Våre menns konsentrasjoner i fertil alder kan således være et estimat på eksponering av PFASer til foster og spedbarn i Norge ved de aktuelle tidspunktene, spesielt med tanke på at gjennomsnittsalderen for førstegangsfødende som er høyt i Norge, 28,9 år i 2015 (34). Selv om alderen for førstegangsfødende kvinner har endret seg i løpet av de siste 30 årene (25,1 år i 1986), antar vi at det vil gjøre en liten forskjell i forhold til våre estimater (35).

Eksponering for ulike fødselskohorter

Våre resultater viser store endringer i PFOS-nivåer hos 30-åringene fra 1986 til 2007. Vi antar at nivåene vi fant i menn er relativt lik nivåene i førstegangsfødende kvinner for samme tidspunkt. På grunn av prenatal eksponering er det sannsynlig at fostereksponeeringen for denne perioden har vist like store endringer. I en studie av Quinn et al. ble det foretatt

estimering ved prenatal, postnatal og livstids eksponering for PCB hos kvinner ved ulik alder og etter fødselsår. Modellen de brukte tok utgangspunkt i blant annet at alle fikk overført miljøgifter via placenta og at alle ble ammet i spedbarnsalder. De estimerte at kvinner som ble født i 1980 ville ha de høyeste PCB-konsentrasjonene. Dette fordi deres mødre hadde de høyeste PCB-konsentrasjonene beregnet for kvinner ved dette tidspunktet (36). Selv om dette er en hypotetisk modell og at det gjaldt en annen POP med andre akkumulerende egenskaper enn PFAS, vil man kunne anta at lignende modell kan være aktuell for PFAS på grunn av deres persistente egenskaper og transplacentale og laktasjons overførsel. De humane konsentrasjonstoppene for samtlige PFASer ble nådd i årene etter 2000. Barn født i denne tidsperioden ville trolig ha de høyeste pre- og postnatale PFAS-konsentrasjonene, fordi deres mødre ville ha de høyeste konsentrasjonene på dette tidspunktet. Miljøgifter kan potensielt gjøre mye skade i de sårbare utviklingsfasene som fosterstadiet og i tidlig barndom. Man har enda ikke undersøkt den generasjonspopulasjonen som trolig hadde de høyeste konsentrasjonene ved fødsel. Vi har derfor trolig kun sett toppen av isfjellet når det kommer til potensielle helseeffekter.

Pre- og postnatal eksponering for PFASer

Som nevnt eksponeres barn for PFAS gjennom placenta (prenatalt) og i spedbarnsalder (postnatalt) via morsmelken. Ofte vil fosteret og barnets kroppsbyrde av PFAS være høyere enn mors på grunn av deres lave blodvolum og mindre kroppsstørrelse, og dette ble demonstrert av Mørck et al. i en dansk studie der PFAS-konsentrasjonene i barna etter fødsel og ammeperioden var høyere enn hos deres mødre (37). Det uttrykkes derfor bekymring for pre- og postnatal PFAS eksponering, da fosteret og barnet er i en sårbar utviklingsfase, og PFAS potensielt kan påvirke metabolske prosesser. Flere studier demonstrerer assosiasjoner mellom PFAS konsentrasjoner i gravide kvinner og helseeffekter hos barn.

I en dansk studie av Vested et al. observerte de at høye konsentrasjoner av PFOA i mødre i svangerskapet var assosiert med lavt antall sædceller i deres sønners sædprøver ved 20 års alderen. Blodprøvene fra disse mødre var samlet inn i 1988-1989, og mediane plasmakonsentrasjon for PFOA var 3,8 ng/ml (38). Til sammenligning var PFOA-konsentrasjonen i våre nordnorske menn 1,70 ng/ml i 1986 og 3,14 i 1994. Selv om konsentrasjonen hos de danske mødre var høyere enn i vår populasjon kan vi anta at reproduksjonsevnen hos menn født i denne tiden og i ettertid, før PFOA-konsentrasjons toppen var nådd, vil kunne være påvirket. Videre rapporterte en studie fra Færøyene om

reduisert humoral immunitetsrespons for barnevaksiner, der pre- og postnatal eksponering for PFOS og PFOA hadde sammenheng med økte odds ratio for at nivåene av vaksinasjonsantistoffene var under beskyttende nivåer barn ved 5 og 7-års alder. Mødrenes konsentrasjoner, målt i 1997-2000, var for PFOS 27,3 ng/ml og for PFOA 3,20 (20), og således lavere enn hva vi fant i våre nordnorske menn for tilsvarende år. Av den grunn vil det være sannsynlig å anta at samme type effekt også vil kunne observeres i den nordnorske populasjonen.

I en studie fra Japan fant man at in utero eksponering til forholdsvis lave PFOS nivåer (median PFOS-konsentrasjon 5,4 ng/ml hos mor under svangerskapet fra 2002-2005) var negativt assosiert med fødselsvekt hos barnet (39). I en annen studie av Høyer et al. fant man at prenatal eksponering for PFOA og PFOS kan ha påvirkning på barns atferdsutvikling ved 5-9 års alderen. De fant i en høyekspontert populasjon på Grønmland at PFOA hadde sammenheng med hyperaktivitet og PFOS med atferdsproblemer hos barn. Mødrene hadde under svangerskapet i 2002-2004 median PFOS- og PFOA-konsentrasjoner på henholdsvis 20,3 ng/ml og 1,8 ng/ml (40). PFAS nivåene målt i disse studiene var lavere enn konsentrasjonene i våre nordnorske menn ved tilsvarende tidspunkt.

Utfordringer knyttet til tid fra eksponering til målbar effekt

Konsekvensene av miljøgifteksponering er ofte ikke noe som kan ses med en gang. Det kan gå flere år eller generasjoner før eksponeringen er påvisbare i form av sykdom. Et eksempel er røyking som har vist å ha en latensperiode på flere tiår før utvikling av kreft (41). Et annet eksempel er diabetes mellitus type 2 som ofte rammer voksne og eldre, og er knyttet til livsstil og arv. Man mistenker at perfluorerte stoffer kan forårsake diabetes mellitus type 2. Og det har vært antatt at POP kan gi epigenetiske forandringer som påvirker insulin resistens. Det har vært foretatt forskning som viser at enkelte POPer kan øke kroppens etterspørsel etter insulin ved å senke målorganenes insulin sensitivitet (16). Andre studier som tidligere nevnt har vist at PFAS virker som PPAR ligand, og via PPAR aktivering påvirker insulin resistens og sekresjon, samt nivåer av sirkulerende lipider og fettlagring i kroppen (13). Eksponeringen av det ufødte barnet forandrer seg i takt med morens konsentrasjoner, som påvirkes av faktorer som livsstil, geografi, diett og yrke, samt produksjon og bruk av PFASer. Tidlig eksponering kan gi økt risiko for sykdommer senere i livet. Populasjonsindividene i forskningen over har vært voksne mennesker som ble født på et tidspunkt hvor de fleste PFAS konsentrasjonene enda var lave,

men i økning. Det vil være rimelig å anta at barn som ble eksponert in utero i årene rett før utfasningsårene vil ha høyere PFAS konsentrasjoner, og at man dermed sannsynligvis vil kunne se økt sammenheng mellom eksponering og sykdom i fremtiden.

Nå er det ikke slik av vi mennesker blir eksponert for én og én miljøgift av gangen, men flere samtidig gjennom hele livet. Faktorer som livsstil, geografi, diett og yrke er med på å påvirke hvilke stoffer og mengder man eksponeres for. Den generelle befolkningen eksponeres for flere miljøgifter i lave konsentrasjoner samtidig, en såkalt "cocktail". De ulike miljøgifter har forskjellig kinetikk i menneskekroppen. Og stoffer med både lang- og kort nedbrytningstid registreres i målbare mengder i blodet. Forsøk på studier av en slik kompleks blanding vil være meget utfordrende, og er nok årsaken til at det er svært begrenset kunnskap om effektene og konsekvensene av denne "cocktailen" (42).

For helseeffektene knyttet til PFAS er det i dag mange sannsynligheter og antagelser, og mange studier konkluderer ofte med at mer forskning burde foretas for å gjøre endelige konklusjoner. Mye av dette skyldes nok at det er høyst uetisk å forske på mennesker på samme måte som man gjør på for eksempel mus og rotter. Uansett, med tanke på mange mulige helseeffekter er det smart av mennesker å følge føre var-prinsippet, ikke bare for seg selv, men også for sine fremtidige generasjoner.

Statistiske utfordringer

Det er knyttet utfordringer til bruk av miljøgiftkonsentrasjoner som er under deteksjonsgrensen (LOD), da man ikke vet hvor mellom LOD og 0 verdier ligger. I flere studier erstattes ofte LOD-verdier med LOD/2 for å få inkludere likt antall for alle stoffene, noe som kan være viktig avhengig av statistiske metoder. Inkludering av verdiene kan gi en skjev framstilling av populasjonsestimater, og hvordan dette skal gjøres er fremdeles under diskusjon innen forskningsmiljøet. I denne oppgaven er kun miljøgiftdata over LOD-verdier inkludert i de statistiske analysene. Grunnen til dette er at noen av PFASene hadde så lave deteksjonsprosent at det å erstatte dem med LOD/2 ikke ville gi noe ytterligere informasjon, annet en mulig sterkere signifikans på tester mellom tidspunktene.

Konklusjon

Dette studiet demonstrerer endringer i PFASer i 30 år gamle menn i perioden 1986 -2007. Endringene i konsentrasjoner mellom prøvetidspunktene samsvarer med produksjon og bruk av PFASer for samme periode. Konsentrasjonene i nordnorske menn er relativt lave og kan generaliseres til norske kvinner og menn i fertil alder. Flere effektstudier indikerer at lave PFAS-konsentrasjoner som er sammenlignbare med konsentrasjonene i denne studien kan påvirke menneskers helse. Spesielt hos sårbare grupper som gravide kvinner, foster og barn. Det er derfor viktig å gjennomføre effektstudier som tar høyde for historisk eksponering for å påvise sammenhengen mellom sykdom og PFASer.

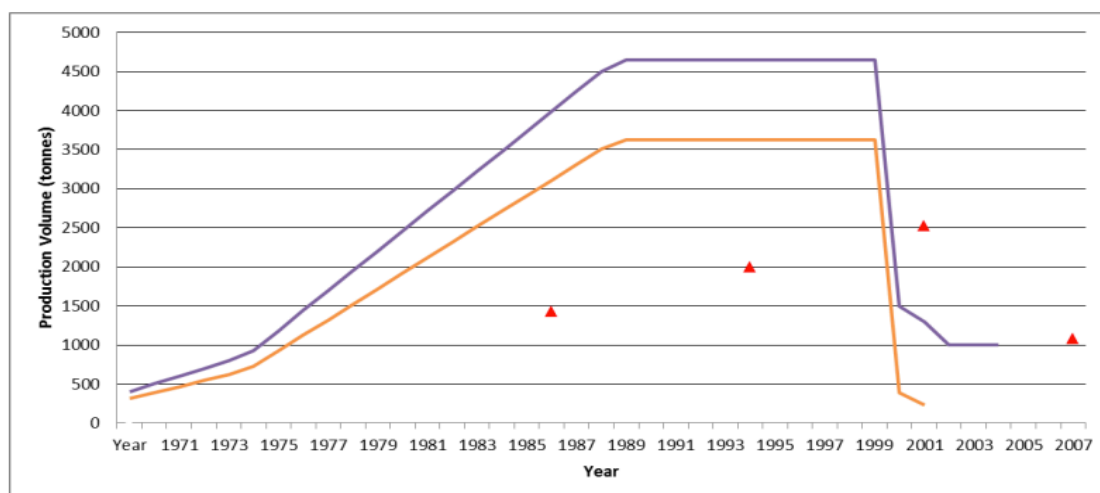
Referanser

1. Knutsen H. 07. Helsekadelige organiske miljøforurensninger i mat (dioksiner, PCB, bromerte og fluorerte forbindelser): Folkehelseinstituttet; 2015 [13.04.16]. Available from: http://www.fhi.no/eway/default.aspx?pid=239&trg=Content_6493&Main_6157=6287:0:25,5497&MainContent_6287=6493:0:25,8947&Content_6493=6441:112531::0:6661:6::0:0.
2. Berg V. Concentrations and predictors of persistent organic pollutants in pregnant women and associations with maternal and thyroid homeostasis [avhandling]. Tromsø: UiT The Arctic University of Norway; 2015.
3. Xu W, Wang X, Cai Z. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. *Analytica chimica acta*. 2013;790:1-13.
4. Hanssen L. Human biomonitoring of perfluoroalkyl substances and cyclic volatile methylsiloxanes : concentrations in plasma, serum and whole blood from pregnant, delivering or postmenopausal women, and cord blood [avhandling]. Tromsø: UiT The Arctic University of Norway; 2013.
5. Huse A. Bruken av PerFluorAlkylStoffer (PFAS) i produkter i Norge. Materialstrømsanalyse: Miljødirektoratet; 2004 [14.03.16]. Available from: <http://www.miljodirektoratet.no/old/klif/publikasjoner/kjemikalier/2031/ta2031.pdf>.
6. Nøst TH. Understanding temporality in human concentrations of organic contaminants : considering human concentrations over time and through life in perspective of historic production and use [avhandling]. Tromsø: UiT The Arctic University of Norway, Faculty of Health Sciences, Department of Community Medicine; 2014.
7. Paul AG, Jones KC, Sweetman AJ. A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate. *Environmental science & technology*. 2009;43(2):386-92.
8. Zeng XW, Qian Z, Emo B, Vaughn M, Bao J, Qin XD, et al. Association of polyfluoroalkyl chemical exposure with serum lipids in children. *The Science of the total environment*. 2015;512-513:364-70.
9. Xie S, Wang T, Liu S, Jones KC, Sweetman AJ, Lu Y. Industrial source identification and emission estimation of perfluorooctane sulfonate in China. *Environment international*. 2013;52:1-8.
10. Granum B, Haug LS, Namork E, Stolevik SB, Thomsen C, Aaberge IS, et al. Pre-natal exposure to perfluoroalkyl substances may be associated with altered vaccine antibody levels and immune-related health outcomes in early childhood. *Journal of immunotoxicology*. 2013;10(4):373-9.
11. Fromme H, Mosch C, Morovitz M, Alba-Alejandre I, Boehmer S, Kiranoglu M, et al. Pre- and postnatal exposure to perfluorinated compounds (PFCs). *Environmental science & technology*. 2010;44(18):7123-9.
12. Yeung LW, Guruge KS, Taniyasu S, Yamashita N, Angus PW, Herath CB. Profiles of perfluoroalkyl substances in the liver and serum of patients with liver cancer and cirrhosis in Australia. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2013;96:139-46.
13. Lind L, Zethelius B, Salihovic S, van Bavel B, Lind PM. Circulating levels of perfluoroalkyl substances and prevalent diabetes in the elderly. *Diabetologia*. 2014;57(3):473-9.
14. Grandjean P, Budtz-Jorgensen E. Immunotoxicity of perfluorinated alkylates: calculation of benchmark doses based on serum concentrations in children. *Environmental health : a global access science source*. 2013;12(1):35.
15. Wielsoe M, Long M, Ghisari M, Bonefeld-Jorgensen EC. Perfluoroalkylated substances (PFAS) affect oxidative stress biomarkers in vitro. *Chemosphere*. 2015;129:239-45.

16. AMAP. AMAP Assessment 2015: Human Health in the Arctic. Oslo, Norway: Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP); 2015.
17. Burman KD. Controversies surrounding pregnancy, maternal thyroid status, and fetal outcome. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2009;19(4):323-6.
18. Pennings JL, Jennen DG, Nygaard UC, Namork E, Haug LS, van Loveren H, et al. Cord blood gene expression supports that prenatal exposure to perfluoroalkyl substances causes depressed immune functionality in early childhood. *Journal of immunotoxicology*. 2016;13(2):173-80.
19. Fisher M, Arbuckle TE, Wade M, Haines DA. Do perfluoroalkyl substances affect metabolic function and plasma lipids?--Analysis of the 2007-2009, Canadian Health Measures Survey (CHMS) Cycle 1. *Environmental research*. 2013;121:95-103.
20. Grandjean P, Andersen EW, Budtz-Jorgensen E, Nielsen F, Molbak K, Weihe P, et al. Serum vaccine antibody concentrations in children exposed to perfluorinated compounds. *Jama*. 2012;307(4):391-7.
21. Bonefeld-Jorgensen EC, Long M, Bossi R, Ayotte P, Asmund G, Kruger T, et al. Perfluorinated compounds are related to breast cancer risk in Greenlandic Inuit: a case control study. *Environmental health : a global access science source*. 2011;10:88.
22. Haines DA, Murray J. Human biomonitoring of environmental chemicals--early results of the 2007-2009 Canadian Health Measures Survey for males and females. *International journal of hygiene and environmental health*. 2012;215(2):133-7.
23. Cedergreen N. Quantifying synergy: a systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PLoS one*. 2014;9(5):e96580.
24. Haug LS, Thomsen C, Becher G. Time trends and the influence of age and gender on serum concentrations of perfluorinated compounds in archived human samples. *Environmental science & technology*. 2009;43(6):2131-6.
25. Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Fillmann G, Kumar KS, Loganathan BG, et al. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environmental science & technology*. 2004;38(17):4489-95.
26. Schechter A, Malik-Bass N, Calafat AM, Kato K, Colacino JA, Gent TL, et al. Polyfluoroalkyl compounds in Texas children from birth through 12 years of age. *Environmental health perspectives*. 2012;120(4):590-4.
27. Toms LM, Calafat AM, Kato K, Thompson J, Harden F, Hobson P, et al. Polyfluoroalkyl chemicals in pooled blood serum from infants, children, and adults in Australia. *Environmental science & technology*. 2009;43(11):4194-9.
28. Zhang T, Sun H, Qin X, Gan Z, Kannan K. PFOS and PFOA in paired urine and blood from general adults and pregnant women: assessment of urinary elimination. *Environmental science and pollution research international*. 2015;22(7):5572-9.
29. UiT.no. The Tromsø Study: The Arctic University of Norway; [20.04.16]. Available from: https://en.uit.no/forskning/forskningsgrupper/gruppe?p_document_id=453582.
30. Olsen GW, Lange CC, Ellefson ME, Mair DC, Church TR, Goldberg CL, et al. Temporal trends of perfluoroalkyl concentrations in American Red Cross adult blood donors, 2000-2010. *Environmental science & technology*. 2012;46(11):6330-8.
31. Schroter-Kermani C, Muller J, Jurling H, Conrad A, Schulte C. Retrospective monitoring of perfluorocarboxylates and perfluorosulfonates in human plasma archived by the German Environmental Specimen Bank. *International journal of hygiene and environmental health*. 2013;216(6):633-40.
32. Toms LM, Thompson J, Rotander A, Hobson P, Calafat AM, Kato K, et al. Decline in perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate serum concentrations in an Australian population from 2002 to 2011. *Environment international*. 2014;71:74-80.

33. Rotander A, Toms LM, Aylward L, Kay M, Mueller JF. Elevated levels of PFOS and PFHxS in firefighters exposed to aqueous film forming foam (AFFF). *Environment international*. 2015;82:28-34.
34. sentralbyrå S. Fødte, 2015: Statistisk sentralbyrå; 2016 [25.04.16]. Available from: <http://www.ssb.no/fodte/>.
35. Sentralbyrå S. Fødte: Foreldrenes gjennomsnittlige fødealder ved første barns fødsel: Statistisk sentralbyrå; 1986 [22.05.16]. Available from: <https://www.ssb.no/statistikbanken/selectvarval/saveselections.asp>.
36. Quinn CL, Wania F, Czub G, Breivik K. Investigating intergenerational differences in human PCB exposure due to variable emissions and reproductive behaviors. *Environmental health perspectives*. 2011;119(5):641-6.
37. Morck TA, Nielsen F, Nielsen JK, Siersma VD, Grandjean P, Knudsen LE. PFAS concentrations in plasma samples from Danish school children and their mothers. *Chemosphere*. 2015;129:203-9.
38. Vested A, Ramlau-Hansen CH, Olsen SF, Bonde JP, Kristensen SL, Halldorsson TI, et al. Associations of in utero exposure to perfluorinated alkyl acids with human semen quality and reproductive hormones in adult men. *Environmental health perspectives*. 2013;121(4):453-8.
39. Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, et al. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environmental health perspectives*. 2009;117(4):660-7.
40. Høyer BB, Ramlau-Hansen C, Obel C, Pedersen HS, Hernik A, Ogniev V, et al. Pregnancy serum concentrations of perfluorinated alkyl substances and offspring behaviour and motor development at age 5–9 years – a prospective study. *Environmental health : a global access science source*. 2015;14.
41. Horton AW. Epidemiologic evidence for the role of indoor tobacco smoke as an initiator of human breast carcinogenesis. *Cancer detection and prevention*. 1992;16(2):119-27.
42. Alexander J, Hetland RB, Vikse R, Eriksen GS, Farstad W, Jenssen BM, et al. VKM: Combined toxic effects of multiple chemical exposures. Oslo, Norway: 2008.
43. Olsen GW, Huang HY, Helzlsouer KJ, Hansen KJ, Butenhoff JL, Mandel JH. Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood. *Environmental health perspectives*. 2005;113(5):539-45.
44. Karrman A, Mueller JF, van Bavel B, Harden F, Toms LM, Lindstrom G. Levels of 12 perfluorinated chemicals in pooled Australian serum, collected 2002-2003, in relation to age, gender, and region. *Environmental science & technology*. 2006;40(12):3742-8.
45. Midasch O, Schettgen T, Angerer J. Pilot study on the perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate exposure of the German general population. *International journal of hygiene and environmental health*. 2006;209(6):489-96.
46. Karrman A, Ericson I, van Bavel B, Darnerud PO, Aune M, Glynn A, et al. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environmental health perspectives*. 2007;115(2):226-30.
47. Fromme H, Midasch O, Twardella D, Angerer J, Boehmer S, Liebl B. Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria. *International archives of occupational and environmental health*. 2007;80(4):313-9.
48. Ericson I, Gomez M, Nadal M, van Bavel B, Lindstrom G, Domingo JL. Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: a pilot study. *Environment international*. 2007;33(5):616-23.

Appendiks 1.



Figur 6. Estimert total POSF produksjonsvolum (1970-2002) fra Paul et al. Lilla linje; total global produksjon. Orange linje; produksjon fra 3M (7). Røde trekkanter; median konsentrasjon fra Tromsøundersøkelsene i 1986, 1994, 2001 og 2007.

Tabell 2. Median PFAS konsentrasjoner (ng/ml).

Referanse	Land	Samplings år	Media	N	Kjønn	PFOS	PFOA	PFHxS	PFNA
<i>Olsen et al. (43)</i>	USA	1974	Serum	178	K / M	29,5	2,3	1,6	-
		1986	Plasma	178	K/ M	34,7	5,6	2,4	-
<i>Kärrman et al. (44)</i>	Australia	2002- 2003	Serum	3802	K/ M	20,8	7,6	6,2	1,1
<i>Midasch et al. (45)</i>	Tyskland	2003- 2004	Plasma	105	K/ M	22,3	6,8	-	-
<i>Kärrman et al. (46)</i>	Sverige	2004	Serum	12	K, primipara	18,7	3,8	4,0	0,63
<i>Fromme et al. (47)</i>	Tyskland	2005	Plasma	168	K	10,9	4,8	-	-
				188	M	13,7	5,7	-	-
<i>Ericson et al. (48)</i>	Spania	2007	Fullblod	48	K/ M	7,6	1,65	2,92	0,41
<i>Berg et al. (2)</i>	Norge	2007 - 2009	Serum	150	K, nullipara	9,97	2,2	0,56	0,63
<i>Mørck et al. (37) *</i>	Danmark	2011	Plasma	143	K	8,3	1,8	0,39	0,75
				116	K/M, barn	9,02	3,20	0,44	0,88
<i>Olsen et al. (30) *</i>	USA	2000- 2001	Serum	645	K/M	34,9	4,7	2,25	0,57
		2006	Plasma	600	K/M	14,5	3,44	1,52	0,97
		2010	Plasma	600	K/M	8,3	2,44	1,34	0,83
<i>Schröter-Kermani et al. (31)</i>	Tyskland	1986	Plasma	10	M	25,2	5,2	1,66	-
		1995	Plasma	10	M	20,5	4,6	1,92	-
		2001	Plasma	10	M	23,5	6,3	2,18	-
		2007	Plasma	10	M	9,0	6,6	1,76	-

*Konsentrasjon oppgitt som gjennomsnitt (ng/ml).

K, kvinner; M, Menn; Primipara, førstegangs fødende; Nullipara, kvinner som ikke har født; N, antall.