

# I N T E R F E R E N T I E N D O C R I N I

## S C H E D E M O N O G R A F I C H E

### 2 P F O S e P F O A

C. Minoia<sup>1</sup>, E. Leoni<sup>1</sup>, C. Sottani<sup>1</sup>, G. Biamonti<sup>3</sup>, S. Signorini<sup>2</sup>, M. Imbriani<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Misure Ambientali e Tossicologiche, "Fondazione Salvatore Maugeri", Pavia

<sup>2</sup> Centro di Ricerca ISPEL "Fondazione Salvatore Maugeri", Pavia

<sup>3</sup> Istituto di Genetica Molecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pavia

<sup>4</sup> U.O.O.M.L. Istituto Scientifico di Pavia, "Fondazione Salvatore Maugeri", Il Sezione di Medicina del Lavoro, Università degli Studi di Pavia

#### 1. Presenza in ambiente

Le sostanze perfluoroalchiliche (PFAs) sono costituite da catene di atomi di carbonio a lunghezza variabile (da C4 a C14) lineari o ramificate. Il legame C-F rende queste molecole particolarmente resistenti all'idrolisi, alla fotolisi e alla degradazione microbica (Giesy e Kannan 2001, Prevedouros 2006). In Figura 1 sono riportati quelli di prevalente interesse rappresentati dall'acido perfluorooctansulfonico (PFOS) e dall'acido perfluorooctanoico (PFOA). Le principali caratteristiche chimico-fisiche di queste sostanze fluorurate sono una natura anfifilica e una debole tensione superficiale (per i dettagli si rimanda alla tabella 1).

I PFAs sono stati ampiamente utilizzati a partire dagli anni '50 come emulsionanti e surfactanti in prodotti per la pulizia di tappeti, pelli, tessuti, tappezzerie, pavimenti e come componenti inerti nei fitofarmaci. Ulteriori impieghi sono risultati la produzione di contenitori di uso alimentare (ad esempio nei *fast food*), pellicole fotografiche, shampoo, dentifrici, schiume antincendio (OECD 2002, Calafat 2006, Kissa 2001).

In particolare, il PFOA è utilizzato per produrre politetrafluoroetilene (PTFE), comunemente noto come *Teflon*<sup>®</sup>, del quale sono ampiamente note le proprietà antiaderenti e l'inerzia chimica (Davis 2007). Un'ulteriore applicazione è rappresentata dal *Gore-Tex*<sup>®</sup>, materiale resistente, impermeabile, caratterizzato da traspirabilità e biocompatibilità, impiegato nella realizzazione di abbigliamento tecnico-sportivo e di articoli medico sanitari, quali protesi vascolari, valvole cardiache, fili di sutura e in chirurgia estetica. Il *Gore-Tex*<sup>®</sup> ha trovato ulteriori applicazioni nell'industria aerospaziale (per il rivestimento di tute degli astronauti), nella filtrazione industriale (impianti di depurazione) e come materiale isolante nella componentistica elettronica (Martin 2004, Prevedouros 2006).

Lo *Scientific Committee on Health and Environmental Risks* (SCHER) ha classificato il PFOS come composto altamente persistente, con elevata tendenza all'accumulo e in grado di indurre rilevanti effetti tossici a livello sperimentale (ratto). Il PFOS risulta ampiamente diffuso in ambiente, anche a distanze elevate dalle sorgenti emissive originarie (Giesy e Kannan 2001). Ciò ha portato a una crescente attenzione verso questi composti per cui l'Unione Europea (UE) si è attivata per limitarne la produzione e l'utilizzo, con lo scopo di ridurre drasticamente le emissioni. Nel dicembre 2006 è stata pubblicata una Direttiva Europea relativa a restrizioni e all'immissione sul mercato di PFOS, non escludendo l'opportunità di tale decisione anche per il PFOA (Direttiva 2006/122/CE). Sono state comunque stabilite alcune deroghe per quanto concerne l'utilizzo di PFOS come componenti di schiume antincendio o per impiego di preparati nella cromatura e nel settore aeronautico. Nel 2006 l'*United States Environmental Protection Agency* (US EPA) ha richiesto alle aziende produttrici di PFOA di ridurre del 95% le emissioni industriali della sostanza entro il 2010, con la successiva eliminazione a far data dal 2015. È stata altresì raccomandata la sostituzione dei citati composti con sostanze alternative, ovviamente tenendo in dovuta considerazione le implicazioni tecnico-impiantistiche e i relativi costi economici.

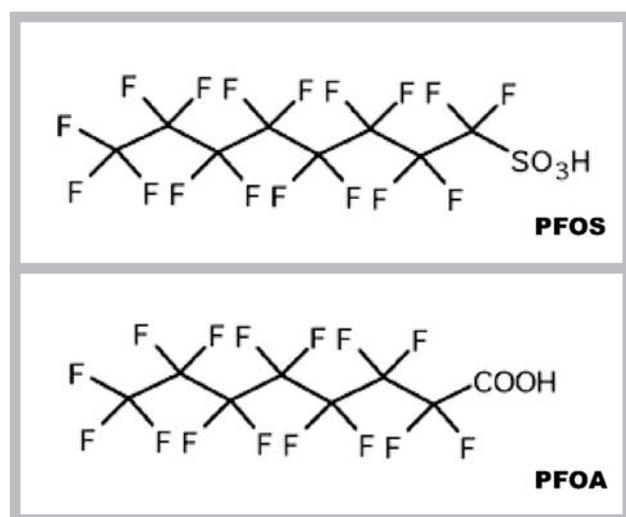


Figura 1. Struttura chimica di PFOS e PFOA

**Tabella 1.** Proprietà chimico-fisiche di PFOS e PFOA (Nd = non disponibile)

Nome IUPAC	1,1,2,2,3,3,4,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Acido eptadecafluoro-1-octan sulfonico (PFOS)	2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8- Acido pentadecafluoro octanoico (PFOA)
Altri nomi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acido 1- perfluorooctansulfonico</li> <li>• Acido eptadecafluoro-1-octansulfonico</li> <li>• Acido perfluorooctansulfonico</li> <li>• Acido perfluorooctilsulfonico</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acido pentadecafluorooctanoico</li> <li>• Acido pentadecafluoro-n-octanoico</li> <li>• Acido perfluorocaprilico</li> <li>• Acido perfluorooctanoico</li> </ul>
CAS	1763-23-1	335-67-1
RTECS	Nd	RH0781000
ICSC	Nd	#1613
Formula bruta	C <sub>8</sub> HF <sub>17</sub> O <sub>3</sub> S	C <sub>8</sub> HF <sub>15</sub> O
Peso molecolare	500,12	414,1
Aspetto	Polvere bianca	Polvere bianca con odore pungente
Densità relativa (acqua=1)	Nd	1,79 g/cm <sup>3</sup>
Coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua (Log Pow)	Le proprietà di emulsionante rendono impossibile il calcolo	6,3
Punto di fusione	Nd	52-54 °C
Punto di ebollizione	Nd	189° C
Solubilità in acqua	519 mg/l a 20°C	Insolubile
Tensione di vapore TLV	3,31·10 <sup>-4</sup> Pa	0,1 kPa (0,75 mm Hg)
Classe di cancerogenicità	Nd	Classe di cancerogenicità: 4 Gruppo di rischio per la gravidanza: C (DFG 2005)

## 2. Sorgenti espositive

Tra le possibili e diverse vie di assorbimento da parte dell'organismo umano risultano: a) la via inalatoria; b) l'ingestione di polveri presenti in ambiente; c) il consumo di acqua potabile e di alimenti.

Un aspetto da considerare riguarda l'inalazione di precursori di composti perfluorurati presenti in atmosfera, per cui prodotti di reazione secondaria, tra cui i composti sulfonammidici, possono essere metabolizzati nel composto organico persistente PFOS (Xu 2004, Tomy 2004). È altresì importante ricordare che il PFOA può essere ottenuto mediante processi di degradazione in ambiente a partire da fluorotelomeri (FTOH) (Ellis 2004, Dinglasan 2004, Wang 2005). Recentemente (Sinclair 2007, Tittlemier 2007) è stato riportato che durante le fasi di preparazione e di conservazione di alimenti si può verificare un passaggio di PFAs dai contenitori ai prodotti destinati al consumo per cui questa potenziale sorgente espositiva merita attenzione e adeguati approfondimenti.

## 3. Matrici ambientali

Il monitoraggio di PFOS e PFOA nelle acque oceaniche e nel particolato ambientale ha fornito informazioni sulle modalità di trasporto di tali composti nel compartimento atmosferico e nell'idrosfera marina (Yamashita 2005).

### 3.1. Acqua

Diversi studi (Prevedouros 2006, Mc Lachlan 2007) hanno evidenziato che l'acqua, rappresentando un mezzo di trasporto dei PFAs, può favorire la dispersione in ambiente. In particolare, l'arricchimento dell'aerosol che si verifica nel compartimento acquoso, secondo quanto proposto da Mc Murdo (2008), ha permesso di fornire una spiegazione esauriente sul processo di trasporto del PFOA in aree lontane da fonti antropiche. In uno studio effettuato nel 2005, Yamashita ha riportato i livelli di PFAs nelle acque della baia di Tokyo. La variazione dei dati ottenuti è risultata piuttosto ampia: tra 1,8 e 192 ng/l per il PFOA e tra 0,3 e 57,7 ng/l per il PFOS.

## 2. PFOS e PFOA

Gli autori hanno posto in evidenza che misure effettuate in acque *offshore* dell'Oceano Pacifico erano di tre ordini di grandezza inferiori se confrontate con quelle delle acque costiere. Nonostante la minore variabilità delle concentrazioni ottenute nel secondo monitoraggio, il PFOA è risultato ancora il composto prevalente. Ulteriori campionamenti effettuati in mare aperto (PFOA: 0,02-0,06 ng/l; PFOS: 0,001-0,02 ng/l) hanno consentito di stabilire che, tra i due composti sopraccitati, l'acido perfluorotanoico rappresentava l'inquinante principale nelle acque oceaniche esaminate. Per quanto riguarda la contaminazione di PFAs in acque fluviali si segnalano alcune pubblicazioni italiane (Loos 2008, Loos 2007) che hanno riportato valori di composti perfluorurati nelle acque del Po (PFOA: 60-174 ng/l, PFOS: 7-25 ng/l) e del Lago Maggiore (PFOA: 3 ng/l, PFOS: 9 ng/l).

Da un esame della letteratura corrente risulta che numerosi lavori hanno indagato la presenza di PFAs nelle acque destinate al consumo umano. Nel merito Harada (2003) ha rilevato concentrazioni di PFOS comprese tra 0,1 e 51 ng/l. Nella maggior parte degli acquedotti considerati in questo studio (8 su 9) i valori non superavano 4 ng/l e solamente in un caso è stata rilevata la contaminazione di acque superficiali, con conseguente e apprezzabile innalzamento dei livelli di PFOS in acque potabili (43,7-51 ng/l). Analogamente Saito (2004) ha evidenziato che la presenza di una sorgente antropica determinava un aumento dei valori di PFOS (concentrazioni comprese tra 5,4 e 40,0 ng/l) e PFOA (concentrazioni comprese tra 1,1 e 1,6 ng/l) in acque destinate al consumo umano. Uno studio americano "Multi-City-Study" (US EPA 2001) ha riportato valori di PFOS tra  $\leq 2,5$  e 63 ng/l. Includendo in tale valutazione il PFOA i dati ottenuti variavano da 7,5 a 27 ng/l. È interessante porre in evidenza che i livelli europei di PFAs (Skutlarek 2006) nelle acque potabili sono risultati sensibilmente inferiori rispetto a quelli sopraccitati, sia per quanto riguarda il PFOA ( $< 2-4$  ng/l) sia per il PFOS ( $< 2-6$  ng/l). Negli ultimi anni l'attenzione dei ricercatori si è rivolta ad alcuni episodi di contaminazione di acque potabili riferibili a PFOA. Il primo, relativo al 2004, ha interessato l'area di Little Hocking (Ohio, USA) e le concentrazioni di PFOA nei pozzi variavano tra 1900 e 10100 ng/l (2004), tra 3900 e 18600 ng/l (gennaio 2005), tra 1900 a 6600 ng/l (marzo 2005) (LHWA 2005). La successiva valutazione dei livelli di PFOA nel siero di soggetti esposti (consumatori abituali dell'acqua proveniente dalla centrale in oggetto) ha fornito una mediana pari a 374 ng/l (Emmett 2006a). Inoltre, l'indagine ha posto in evidenza che l'impiego di filtri a carbone attivo era in grado di ridurre il livello di contaminazione dell'acqua consumata, con conseguente diminuzione dei livelli ematici di acido perfluorotanoico. Il secondo caso di inquinamento si è verificato in Germania tra il 2006 e il 2007 nella regione

## INTERFERENTI ENDOCRINI ■ SCHEDE MONOGRAFICHE

di Sauerland ed è stato favorito da un impiego diffuso di fertilizzanti contenenti PFAs (Wilhelm 2008a). I valori di PFOA rilevati da Skutlarek et al., compresi tra 22 e 519 ng/l, hanno subito una drastica diminuzione ( $< 100$  ng/l) solo in seguito all'utilizzo di filtri a carbone attivo per la purificazione dell'acqua.

### 3.2. Aria

I livelli aerodispersi *outdoor* di PFOS e PFOA sono stati oggetto di indagini analitiche in un numero limitato di casi, peraltro caratterizzati da una relativa esiguità campionaria e/o da tempi di campionamento di breve durata. Al riguardo studi giapponesi condotti in area urbana a elevata esposizione (Harada 2005a) hanno rilevato rispettivamente concentrazioni medie di PFOA e PFOS pari a 0,37 ng/m<sup>3</sup> (0,07-0,92 ng/m<sup>3</sup>) e 0,006 ng/m<sup>3</sup> (0,003-0,01 ng/m<sup>3</sup>). Nel corso della stessa indagine campionamenti effettuati in area rurale hanno fornito valori sensibilmente inferiori sia per il PFOA (0,002 ng/m<sup>3</sup>), sia per il PFOS (0,0006 ng/m<sup>3</sup>). Analogamente, ricerche condotte nel continente europeo hanno evidenziato livelli in atmosfera di acidi perfluoroalchilici più elevati in prossimità di industrie che producevano fluoropolimeri rispetto ai valori ottenuti da campioni *outdoor* prelevati in zone agricole. Non è stato sufficientemente chiarito il motivo per cui nel particolato ambientale la concentrazione di PFOA era più elevata rispetto al PFOS (è stato ipotizzato che ciò possa dipendere da differenti reazioni di degradazione in atmosfera). In USA la determinazione di PFOA in aree adiacenti a impianti per la produzione di fluoropolimeri ha fornito livelli aerodispersi compresi tra 120 ng/m<sup>3</sup> e 900 ng/m<sup>3</sup>. Al riguardo Barton (2006) ha ipotizzato che la direzione prevalente dei venti (rispetto alla stazione di campionamento) potesse costituire una variabile determinante sui livelli ambientali di PFOA e ciò giustificerebbe l'ampia dispersione dei valori ottenuti determinati in un periodo di 10 settimane di monitoraggio ambientale. Per quanto riguarda l'acido perfluorotanoico, Barber (2007) ha osservato una variabilità delle concentrazioni in funzione del periodo stagionale considerato. Sebbene tale valutazione sia supportata da un numero limitato di dati, nella città di Manchester (UK) sono state rilevate concentrazioni medie di PFOA maggiori in primavera (0,3 ng/m<sup>3</sup>) rispetto a quelle ottenute nel periodo invernale (0,02 ng/m<sup>3</sup>). Lo stesso autore presso la città di Hazelrigg (UK) ha effettuato un ulteriore campionamento, evidenziando valori più elevati di PFOA (0,6 ng/m<sup>3</sup> in primavera e 0,1 ng/m<sup>3</sup> in inverno), probabilmente a causa della vicinanza di un impianto di produzione di PFAs.

I PFOA e i PFOS possono interagire con il particolato aerodisperso di dimensioni granulometriche  $< 4$   $\mu$ m (frazione respirabile); sono state altresì descritte intera-

zioni con particelle di dimensioni superiori (frazione inalabile). In un recente studio di Trudel (2008) le concentrazioni di PFOA e PFOS in campioni *indoor* sono state ricavate indirettamente dal contenuto delle stesse sostanze nelle polveri depositate in ambiente domestico. I valori riportati per il PFOA erano compresi tra  $4 \cdot 10^{-5}$  ng/m<sup>3</sup> (per basse esposizioni) e  $2 \cdot 10^{-2}$  ng/m<sup>3</sup> (per elevate esposizioni). Per quanto riguarda il PFOS le concentrazioni stimate per esposizioni elevate erano dello stesso ordine di grandezza del PFOA, mentre per basse esposizioni il dato ottenuto era pari a  $4 \cdot 10^{-6}$  ng/m<sup>3</sup>. Gli stessi autori hanno confermato che i valori stimati sono risultati coerenti con i livelli ambientali misurati recentemente e riportati in letteratura (Barber 2007). Si sottolinea che nella ricerca condotta da Trudel la concentrazione di PFOA e PFOS nelle polveri depositate (ambiente domestico caratterizzato da elevata esposizione) era pari a 1,2 µg/g. Nel merito Kubwabo (2005) ha riportato che il composto perfluorurato più frequentemente presente nelle polveri era rappresentato dal PFOS (<0,002-5,065 µg/g); i livelli di PFOA erano compresi tra 0,002 e 1,231 µg/g. Nonostante i risultati dello studio citato mostrino una discreta concordanza con quelli ottenuti nel 2008 da Strynar e Lindstrom in Ohio e North Carolina (PFOS: <0,009-12,1 µg/g; PFOA: 0,01-1,96 µg/g) e da Trudel in Germania (PFOS: 0,003-0,342 µg/g; PFOA: 0,002-0,141 µg/g), è opportuno valutare con attenzione l'ampio intervallo delle concentrazioni rilevate. L'interpretazione di questi valori non è stata sufficientemente chiarita: si ipotizza che ciò possa dipendere sia dalla scarsa numerosità dei dati disponibili sia dall'impiego di metodiche analitiche differenti.

### 3.3. Suolo

Un'indagine del suolo condotta nel West Virginia in posizione adiacente a un impianto per la lavorazione di composti perfluorurati ha quantificato il PFOA a livelli compresi tra <0,017 e 700 ng/g (US EPA 2005). Un altro studio ha riportato una concentrazione di PFOA nel suolo pari a 2,87 ng/g a distanza di due mesi dall'utilizzo di schiume antincendio.

## 4. Contributo della dieta

In uno studio condotto da Trudel nel 2008 il contributo della dieta rappresenterebbe la principale via di esposizione a PFOS e PFOA della popolazione generale. In letteratura un numero limitato di studi ha valutato la presenza di composti perfluorurati in diverse tipologie di alimenti.

È stato dimostrato un accumulo di PFOS nel pesce di mare e in quello di acqua dolce (Martin 2003a b, Gruber 2007). Al riguardo la concentrazione di PFOS in prodotti

ittici (Grandi Laghi dell'America settentrionale tra il 1999 e il 2000) è risultata compresa tra 59 e 297 ng/g; per il PFOA i valori erano inferiori a 36 ng/g (Giesy e Kannan 2001, Kannan 2005). Le medesime sostanze, secondo i dati ottenuti in uno studio cinese (Gulkowska 2006) su pesce fresco e crostacei sono risultate presenti a valori più contenuti: 0,33-4,6 ng/g (PFOS) e <0,25-1,7 ng/g (PFOA). In uno studio tedesco (Stahl 2007) i valori rilevati sono risultati analoghi a quelli di Gulkowska per entrambi i composti. Si ritiene opportuno segnalare che i dati ottenuti in campioni di pesce proveniente da aree contaminate da fluoropolimeri variavano tra 6 e 425 ng/g (Wilhelm 2008a). Inoltre è emersa una correlazione positiva tra consumo di pesce proveniente dal Mar Baltico e la concentrazione ematica di PFAs in un gruppo di popolazione costituito da soggetti adulti (n=45) (Falandysz 2006). Ciò porta a ritenere che la dieta ittica possa favorire, in condizioni particolari come quelle in precedenza citate, un contributo significativo all'esposizione a PFAs della popolazione generale (Hölzer 2008).

Per quanto riguarda le altre tipologie di alimenti, un'indagine condotta dalla *UK Food Standards Agency* nel 2004 ha confermato la presenza di PFOS in verdure in scatola (2 ng/g), uova (1 ng/g) e marmellata (1 ng/g); relativamente ai *composites* a base di patate (patatine fritte e piatti pronti contenenti il tubero) il contenuto di PFOS (10 ng/g) è risultato sensibilmente superiore a quello di PFOA (1 ng/g).

Uno studio americano (*Centre Analytical Laboratories*) ha riportato livelli di PFOS nella carne macinata e nel latte intero compresi tra 0,57 e 0,85 ng/g. Un quantitativo superiore di PFOA (0,50-2,35 ng/g) è stato determinato in campioni di pane, fagiolini verdi, mele e carne tritata. Infine, si sottolinea che i valori medi rilevati nei singoli alimenti, sommati tra loro, sono superiori al contenuto di PFAs della *total diet*.

## 5. Cenni al metabolismo e aspetti tossicologici

Studi condotti a livello sperimentale (ratto) hanno dimostrato un efficace assorbimento per via orale e tempi di eliminazione per il PFOS (100 giorni) (Johnson 1979) superiori rispetto al PFOA (2-4 h nelle femmine, 4-6 giorni nel maschio) (Kemper 2003). Nell'uomo l'emivita nel compartimento sierico è risultata pari a 3,8 anni per PFOA e 5,4 anni per PFOS (Olsen 2007). È stato confermato da diversi autori (Vander Heuvel 1992, Jones 2003, Kerstner-Wood 2003) che PFOA e PFOS si legano alle proteine sieriche (albumina, β-lipoproteine) e si accumulano in organi come fegato, rene, milza, cervello e testicoli. Nell'uomo, la *clearance* renale dei composti citati è trascurabile contrariamente a quanto avviene nella cavia (Harada 2005b, Kudo 2003). Nel ratto PFOS e

## 2. PFOS e PFOA

PFOA non sono interessati da processi metabolici e il loro assorbimento risente del ricircolo enteroepatico (Kemper e Nabb 2005, Kuslikis 1992, Vander Heuvel 1991, Johnson 1984). Nell'ultimo decennio diversi ricercatori hanno stabilito che la lunghezza delle catene carboniose dei PFAs è in grado di influenzarne la tossicità, come in precedenza riportato, ma anche l'accumulo nell'organismo (Martin 2003b). Al riguardo si ritiene necessario un approfondimento della tossicocinetica relativa alla forma lineare e a quelle ramificate di entrambi i composti trattati (Karrman 2007).

Studi condotti *in vivo* hanno permesso di stabilire che gli ormoni sessuali, in quanto regolano l'espressione di specifici trasportatori di anioni a livello renale, determinano differenze nell'emivita di PFOA. Pertanto i tempi di eliminazione di questa sostanza nei ratti di sesso femminile (2-4 h) sarebbero riconducibili a una *up-regulation* da parte dell'estradiolo sul gene che codifica per la proteina di trasporto OAT2 (Kudo 2002). Secondo alcuni autori (Eraly 2004, Ljubojevic 2004) una variazione nell'espressione genica dei trasportatori di anioni inorganici tra le diverse specie potrebbe giustificare l'emivita di maggior durata rilevata nell'uomo rispetto ai roditori e ai primati.

Da un punto di vista tossicologico la dose letale media (LD50) del PFOA nel ratto varia tra 430 e 1800 mg/kg (Kennedy 2004); relativamente al PFOS il valore è pari a 251 mg/kg (US EPA 2000). Nel roditore gli effetti di tali sostanze si manifestano principalmente a livello epatico e possono determinare epatomegalia, ipertrofia epatocellulare e vacuolizzazione (Seacat 2003, Kennedy 2004). Tali effetti sono stati confermati anche nei primati (Seacat 2002). Austin (2003) ha posto in evidenza che un'esposizione continua a PFOS (10 mg/kg/giorno per 2 settimane) in ratti di sesso femminile è in grado di influenzare il ciclo estrale e di determinare un aumento dei livelli sierici di corticosteroidi. Inoltre, lo stesso autore ha rilevato una diminuzione della concentrazione ematica di adrenalina e di leptina. A dosi inferiori ( $\geq 0,8$  mg/kg/giorno) Luebker (2005a) e Lau (2006) hanno dimostrato che l'esposizione in sede uterina si ripercuote negativamente sulla numerosità della progenie. Si ritiene che ciò possa essere riconducibile a una riduzione degli impianti embrionali e a un incremento dell'incidenza di morti fetali e/o neonatali. Secondo altri autori la somministrazione orale di PFOS ( $\geq 0,4$  mg/kg/giorno) in roditori allo stato immaturo determina diminuzione del peso corporeo e ritardo nello sviluppo, incluso quello neuromotorio (Luebker 2005b, Fuentes 2007). Si sottolinea che alla dose sopracitata non è stato evidenziato un incremento dell'incidenza delle malformazioni (Lau 2007). Relativamente al PFOA si ritiene opportuno ricordare la capacità immunotossica che si concretizza nella soppressione della risposta immunitaria

## INTERFERENTI ENDOCRINI ■ SCHEDE MONOGRAFICHE

di tipo umorale e nell'arresto della proliferazione linfocitaria a livello splenico (US EPA 2005).

Recentemente il PFOA è stato classificato come cancerogeno per l'animale (US EPA 2000) e ciò è supportato da evidenze in merito a una correlazione tra insorgenza di adenomi a carico delle cellule di Leydig ed esposizione alla sostanza. È stato riportato che anche il PFOS è in grado di favorire la trasformazione neoplastica attraverso la formazione di adenomi epatocellulari nei roditori di sesso femminile e di adenomi delle cellule follicolari tiroidee nei roditori di sesso maschile (Thomford 2002). Per quanto riguarda la tossicità e la carcinogenicità a livello epatico, l'attivazione del recettore PPAR $\alpha$  nel modello animale da parte di PFOS e PFOA (per il quale si rimanda al capitolo successivo) (Vanden Huevel 2006), può determinare alterazioni nell'espressione dei geni coinvolti nella proliferazione dei perossisomi, nel controllo del ciclo cellulare e dell'apoptosi (Klaunig 2003). L'impiego del modello murino è stato di fondamentale importanza per comprendere meglio l'attività dei PFAs su *pathways* differenti. Al riguardo, Sohlenius (1995) e Seacat (2003) hanno dimostrato che questi composti oltre a favorire la  $\beta$ -ossidazione di acidi grassi, sono responsabili della diminuzione dei livelli sierici di glucosio e colesterolo. Ulteriori ricerche hanno posto in evidenza che il legame con proteine della membrana cellulare determina alterazioni nella trasmissione del segnale dai recettori superficiali (Hu 2003).

## 6. Meccanismi di azione di PFOS e PFOA come interferenti endocrini

### 6.1. Studi condotti sull'animale

Lo studio del meccanismo d'azione a livello molecolare ha permesso di stabilire che nel roditore i PFAs si comportano da agonisti per il *recettore attivato dai proliferatori perossisomiali di tipo  $\alpha$*  (PPAR $\alpha$ ). I PPARs sono una famiglia di recettori ormonali nucleari implicati nella regolazione del metabolismo lipidico e glucidico; sono anche coinvolti nel controllo di fenomeni infiammatori che accompagnano l'evoluzione dell'aterosclerosi (Elangbam 2001, Berger 2002, Delerive 2001, Marx 2001). In particolare PPAR $\alpha$  è espresso in diversi organi (fegato, rene, cuore) e nel tessuto adiposo bruno dove, in seguito all'interazione con il ligando (leucotriene B $_4$ , dPGJ $_2$ ...), esercita la sua azione di modulatore dell'espressione genica. Nel roditore il recettore PPAR $\alpha$ , come *target* molecolare attivato dal PFOA, induce la trascrizione di geni coinvolti nel metabolismo lipidico, determinando un incremento dell'ossidazione di acidi grassi e una conseguente diminuzione del peso corporeo dell'animale. Il concomitante abbassamento dei livelli plasmatici di trigliceridi e colesterolo è invece

riconducibile a un'interferenza da parte del recettore PPAR $\alpha$  nel *pathway* di biosintesi di steroli e di acidi biliari. Al riguardo, è da porre in evidenza che l'impiego di topi *knock-out* per PPAR $\alpha$  ha fornito un'ulteriore conferma circa gli effetti derivanti dall'attivazione di tale proteina, permettendo di ipotizzare l'esistenza di altri *target* molecolari (CAR e PXR).

Tra le alterazioni del sistema endocrino dopo somministrazione di PFOA nell'animale quelle che interessano gli ormoni sessuali sono state documentate da diversi autori (Biegel 1995, Bookstaff 1990, Cook 1992, Liu 1996). In particolare Biegel (2001, 1995) ha riportato che variazioni dei livelli ormonali in seguito a esposizione cronica a PFOA sono correlate con l'insorgenza di iperplasia e sviluppo di adenoma delle cellule di Leydig. Tra le ipotesi avanzate per interpretare tali evidenze si ritiene che l'azione interferente si possa manifestare attraverso due possibili meccanismi d'azione: a) l'attivazione del recettore PPAR $\alpha$  sarebbe in grado di determinare un incremento dell'attività dell'aromatasi epatica con conseguente innalzamento dei livelli di estradiolo e di TGF $\alpha$  (fattore di crescita delle cellule di Leydig); b) una diminuzione della concentrazione di testosterone potrebbe causare un aumento dell'ormone luteinizzante (LH), un possibile mitogeno delle cellule interstiziali. Occorre sottolineare che le ipotesi sopra enunciate potrebbero fornire una spiegazione dell'iperplasia a carico delle cellule di Leydig nell'uomo. Quest'ultima è infatti un'alterazione istologica diffusa tra i pazienti di sesso maschile affetti da infertilità (Holm 2003), nei quali i livelli di testosterone sono inferiori rispetto a soggetti sani (Andersson 2004). Studi recenti (Lau 2003, Luebker 2005a, Seacat 2003, Thibodeaux 2003) hanno dimostrato che nel ratto le alterazioni a livello endocrino interessano anche gli ormoni tiroidei (T3 e T4), con una diminuzione della loro concentrazione in seguito a esposizione a PFOS.

### 6.2 Studi condotti sull'uomo

Nonostante il modello animale abbia fornito evidenze di un'interferenza da parte dei PFAs sui *pathway* degli ormoni sessuali e tiroidei, in letteratura non sono disponibili conferme riguardo a effetti analoghi nell'uomo (Emmet 2006b, Olsen 2003, Olsen 1998, Inoue 2004). Inoltre, i meccanismi d'azione riportati per l'animale basati sull'attivazione del recettore PPAR $\alpha$  non risultano completamente trasferibili all'uomo. Ciò a causa di un'espressione più contenuta di questi recettori (Palmer 1998, Tugwood 1998) e di una trasduzione del segnale non proprio analoga a quella del modello murino (Mori-mura 2006, Shah 2007). Altri autori (Maloney e Waxman 1999) hanno altresì dimostrato che nell'uomo la risposta in seguito ad attivazione di recettori PPAR $\alpha$  da parte di PFOA risulta più contenuta rispetto al roditore.

## 7. Metodi di analisi e tecniche strumentali

La valutazione dell'esposizione a PFOS e PFOA in sangue intero, plasma e siero risale agli anni '60 con Taves (1968). Questo autore ha utilizzato una tecnica semiquantitativa come la risonanza magnetica nucleare (NMR) in grado di determinare il fluoro totale a livelli di  $\mu\text{g/l}$ . Lo stesso autore ha identificato il fluoro plasmatico come acido perfluorooctanoico. Successivamente, negli anni '80, mediante impiego di gascromatografia (GC), sono stati determinati in siero i principali componenti dei composti perfluoroalchilici (PFAs) e tra questi il PFOA e il PFOS (Ylinen 1985, Yamamoto 1989). In questi studi la gascromatografia è stata accoppiata al rivelatore a cattura di elettroni (GC-ECD) o al rivelatore a ionizzazione a fiamma (GC-FID). Tra il 1995 e il 1997 la gascromatografia accoppiata al rivelatore di massa (GC-MS) è stata utilizzata per la determinazione di PFOS e PFOA (March 1985 e Hudlicky 1997). Successivamente si è fatto ricorso alla cromatografia a elevate prestazioni (HPLC) interfacciata alla spettrometria di massa (HPLC-MS). L'impiego limitato della GC-MS è riferibile alla fase pre-analitica richiesta, piuttosto complessa e laboriosa. I composti perfluoroalchilici, non volatili, necessitano infatti di derivatizzazione e il prodotto di reazione è particolarmente instabile (Belisle 1980). Per tali motivazioni, la GC-MS è sconsigliata (Holm 2004), non solo per l'instabilità del prodotto di reazione riconducibile al gruppo solforico del PFOS, ma anche per la variabilità dei dati ottenuti. La tecnica elettiva per la determinazione di PFOS e di PFOA a livello di traccia in varie matrici biologiche risulta quindi la HPLC/MS. La migliore sensibilità analitica nell'analisi di composti per fluoro alchilici si ottiene mediante ionizzazione *electrospray* (ESI) in modalità di ioni negativi (Sottani 2002, Inowe 2004, Kuklenvik 2004, Flaherty 2005, Karrman 2005, Maestri 2006, Ehresman 2007). Solamente Holm (2004) ha riportato l'impiego di un'interfaccia *ion trap* per la determinazione di PFOS e PFOA in plasma. Lo stesso autore ha utilizzato una procedura di estrazione *on-line* dei due analiti dalla matrice implementando il limite di rilevabilità (LOD). Holm ha ottenuto un LOD di 0,5 ng/mL per PFOA e pari a 0,2 ng/mL per PFOS in plasma. La novità del metodo consiste nell'analisi diretta del campione biologico dopo precipitazione proteica con acetonitrile. L'analisi diretta è resa possibile dall'applicazione del sistema *column switching*. Per la determinazione di PFOS e PFOA è stata impiegata la LC-ESI-MS/MS e nei lavori più recenti (Karrmann 2005) si è sottolineata la necessità di assicurare una pre-concentrazione del campione con estrazione *off-line*. Ciò al fine di ottenere limiti di rilevabilità adeguati per determinare i livelli di esposizione caratteristici della

## 2. PFOS e PFOA

popolazione generale. Karrmann ha ottenuto un LOD pari a 0,1 ng/mL per PFOA e a 0,5 ng/mL per PFOS in sangue intero. Il metodo sviluppato è di particolare interesse in quanto oltre a consentire la determinazione degli analiti in sangue intero evidenzia, attraverso un confronto con dati precedentemente pubblicati, che il PFOS e PFOA creano un *binding* con le proteine plasmatiche. Sulla base di queste ultime considerazioni e dei dati ottenuti è emersa la necessità di disporre di metodi che consentano l'analisi di PFOS e PFOA in matrici biologiche quali sangue, siero e plasma (Ehresmann 2007). Per tali motivazioni, la recente letteratura è concorde nel ritenere che è preferibile la determinazione dei due derivati perfluorurati a catena alchilica per poter disporre di dati statisticamente significativi e per caratterizzare il rischio espositivo a tali sostanze. Si sottolinea al riguardo che la tecnica HPLC/MS può essere considerata idonea per sensibilità analitica nei confronti delle sostanze perfluoroalchiliche. Un suo utilizzo nell'analisi di matrici complesse, come quelle ematiche, pone qualche dubbio (Martin 2004). In particolare, la scarsa selettività della HPLC/MS non consente infatti di differenziare sia gli interferenti del PFOS, sia possibili isomeri strutturali. È quindi necessario ricorrere all'uso di una tecnica maggiormente selettiva, quale l'HPLC-MS/MS, che permette di scegliere le transizioni di massa ( $m/z$  499  $\rightarrow$  80 per PFOS e  $m/z$  413  $\rightarrow$  369 per PFOA), riducendo l'effetto matrice nella determinazione di questi composti. Un altro approccio che può contribuire a ridurre l'effetto matrice, riferibile non solo a isomeri strutturali ma anche a fattori pre-analitici di laboratorio riconducibili all'impiego di fluoropolimeri (ad es. *Teflon*), consiste nell'uso di standard interni marcati all'ossigeno per PFOS ( $^{18}O$ ) e al carbonio per PFOA ( $^{13}C$ ) già commercialmente disponibili dal 2005. Più recentemente De Silva ha sviluppato un metodo per la determinazione di PFOA e PFOS in sangue e siero mediante gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa utilizzando il sistema di ionizzazione chimica con metano in ioni negativi [GC-(NCI)-MS]. L'applicazione di questa tecnica unitamente al processo di estrazione in presenza di controione (*ion-pairing extraction*) ha permesso di ottenere un LOD per il PFOA pari a 0,2 ng/ml. Tale metodica ha evidenziato, analogamente a quanto ottenuto con la tecnica di HPLC-MS/MS, la presenza di composti PFOA lineari in miscela con isomeri ramificati. La determinazione di PFOA e PFOS differenziata nel *pattern* isomerico consente non solo di ottenere misure più accurate (*bias positiva*) e precise, ma anche di conoscere la percentuale di composti ramificati nel siero. Ciò non è influente in quanto l'attività estrogenica di tali forme può modificare l'accumulo e la tossicità (Martin 2004, De Silva 2006).

## INTERFERENTI ENDOCRINI ■ SCHEDE MONOGRAFICHE

### 8. Valutazione dell'*intake* alimentare nella popolazione generale

In letteratura è disponibile un numero limitato di lavori scientifici che hanno determinato la presenza di composti perfluorurati in diverse tipologie di alimenti. Tra gli studi di *total diet* più recenti si ritiene opportuno ricordare quello di Tittlemier (2007) il quale, sulla base del contenuto di PFAs in prodotti di origine animale e di *fast food*, ha valutato l'esposizione alimentare in un gruppo di popolazione canadese ( $>12$  anni). Sebbene la composizione della *total diet* considerata non possa essere ritenuta sufficientemente rappresentativa delle abitudini alimentari canadesi, l'*intake* alimentare giornaliero calcolato dagli autori per PFOA e PFOS è risultato pari a 1,1 ng/kg (di peso corporeo) e 1,8 ng/kg, rispettivamente. Inoltre, è stato rilevato che il PFOA rappresentava il 28% di PFAs totali; un contributo maggiore è stato attribuito al PFOS (44%). Questi valori sono concordi con quelli determinati da Ericson (2008) che ha rilevato valori di *intake* più elevati nei bambini rispetto agli adulti. Un'indagine condotta in Germania (Fromme 2007) ha invece riportato una mediana minore per il PFOS (1,4 ng/kg) rispetto al PFOA (2,9 ng/kg). Lo studio citato è stato condotto per sette giorni consecutivi su un gruppo di popolazione di 31 soggetti (15 femmine e 16 maschi) di età compresa tra i 16 e i 45 anni.

### 9. Valutazione dei valori di PFOS e PFOA in liquidi biologici

Risulta evidente che la concentrazione sierica e/o plasmatica di PFOA e PFOS varia in modo significativo in funzione dell'area geografica considerata. In particolare, da un esame di 473 campioni provenienti da 9 paesi e diversi continenti (Americhe, Europa, Asia) è risultato che i livelli sierici o plasmatici più elevati di PFOA e PFOS sono riferibili alla popolazione statunitense, mentre valori inferiori dei due composti sono stati determinati nella popolazione indiana. Il dettaglio dei dati riportati in letteratura sarà riportato e commentato nel relativo paragrafo. Per quanto riguarda le altre matrici le casistiche sono risultate meno numerose e anche gli studi pubblicati più limitati, per cui i valori disponibili spesso risultano solo orientativi.

#### 9.1. Siero o plasma

Una possibile schematizzazione dei valori disponibili di PFOA e PFOS nel siero può essere la loro suddivisione per continenti (Europa, Stati Uniti, Asia), non escludendo la possibilità di considerare specifiche casistiche, che potrebbero essere influenzate da fattori antropici. Una seconda variabile che deve essere tenuta

in considerazione, per le motivazioni riportate nel paragrafo "Metodi di analisi e tecniche strumentali" è la strumentazione utilizzata e il LOD/LLOQ della procedura impiegata. È altresì opportuno considerare i valori di PFOA e PFOS misurati in gruppi di popolazione generale nell'ultimo decennio e, nell'ambito di questi studi, quelli riportati dal CDC di Bethesda ciò al fine di verificare l'evoluzione temporale della concentrazione sierica o plasmatica nel corso degli ultimi anni.

Ad esempio, considerando i valori riferiti ad aree geografiche europee (Germania, Belgio, Spagna ecc.) emerge quanto di seguito riportato:

- Midasch e Angerer, in uno studio del 2006, hanno valutato che la concentrazione media di PFOS (22,3 µg/l) e PFOA (6,8 µg/l) nella popolazione tedesca risultava la più elevata dei paesi europei. Sono stati analizzati 105 soggetti di sesso maschile e femminile di età compresa tra 5 e 84 anni. L'intervallo di concentrazione per il PFOS variava da 6,2 a 131 µg/l e tra 1,7 e 39,3 µg/l per il PFOA. Questi valori sono stati confermati più recentemente da Fromme, che ha determinato su un campione di popolazione più numeroso (n=356) livelli medi di PFOS e PFOA pari a 13,7 e 5,7 µg/l. Valori simili di PFOS e PFOA sono stati determinati da Kannan nello studio condotto su un gruppo di popolazione belga (1998-2000), con una concentrazione media di PFOS di 17,2 µg/l e di PFOA di 4,1 µg/l. È interessante confrontare i livelli rilevati nel periodo 1997-2000 nella popolazione svedese (Karrman 2004), che hanno quantificato rispettivamente il PFOS e il PFOA in 17,1 e 2,5 µg/l in sangue e 34,2 e 5,0 µg/l in plasma (valore medio). Nello studio di Ericson su un gruppo di popolazione spagnola (n=48) i livelli medi di PFOS e di PFOA sono risultati invece pari a 15,2 µg/l e 3,6 µg/l. Recentemente Jensen (2008) ha evidenziato che l'esposizione europea norvegese e russa a sostanze perfluoroalchiliche, quali PFOS e PFOA, è sensibilmente più elevata rispetto ad altri inquinanti organici persistenti come i metaboliti di DDE, PCB e ftalati.
- Se ci si riferisce al monitoraggio biologico della popolazione americana, i livelli di PFOS e PFOA pubblicati sono relativi a due differenti campagne di monitoraggio quali il NHANES 1999-2000 e il NHANES 2003-2004. Si evidenzia che negli Stati Uniti la 3M (St. Paul, MN) ha deciso di interrompere nel 2000-2002 la produzione di PFOS per via elettrochimica e di continuare la produzione di PFOA. Si ritiene che la scelta di questa azienda, unica produttrice di PFOS, possa aver modificato l'andamento della concentrazione di questi composti nel siero della popolazione generale. I dati pubblicati sono stati sempre corredati da informazioni raccolte mediante questionari relativi allo stile di vita e alle

condizioni socio-economiche dei partecipanti lo studio (CDC 2003).

Le indagini NHANES 1999-2000 e 2003-2004 (Calafat 2007) hanno rispettivamente interessato 1562 e 2094 partecipanti, di età compresa tra 12 e 60 anni, suddivisi in 4 fasce principali e distinti per etnia e/o razza (Americani Messicani, Neri non Ispanici, Bianchi) nonché per sesso.

Considerando entrambi i monitoraggi e quindi un campione complessivo di 3656 soggetti nell'arco di tempo compreso tra il 1999 e il 2003 la positività dei dati è risultata del 98% per PFOS e PFOA. Da questi risultati si evince che sorgenti dirette o indirette di tali sostanze erano ancora presenti. Tuttavia, considerando i dati del NHANES 1999 con quelli del NHANES 2003 la linea di tendenza è in progressiva diminuzione delle concentrazioni sieriche. Il PFOS come valore globale medio è stato stimato pari a 30,4 µg/l nel 1999-2000 e a 20,3 µg/l nel 2003-2004, analogamente il PFOA si è ridotto da 5,2 a 3,9 µg/l.

L'andamento dei livelli di PFOS/PFOA nel compartimento sierico o plasmatico è stato valutato da diversi ricercatori (Harada 2004 e 2007, Olsen 2005 e 2007b, Jin 2007, Wilhelm 2008).

- In Giappone (campioni prelevati dal 1983 fino al 2003) la concentrazione sierica di PFOS e PFOA è risultata essere da 3 a 14 volte superiore negli anni 2000 rispetto agli anni '90 (Harada 2004). Analogamente, i risultati di uno studio sulla popolazione cinese (Jin 2007) hanno evidenziato una apprezzabile incremento delle concentrazioni plasmatiche di PFOS e di PFOA. I valori erano di poco superiori al limite di rilevabilità degli analiti nel 1987 (LODs di 0,01 e 0,03 µg/l) mentre sono risultati pari a 22,4 µg/l (PFOS) e 4,9 µg/l (PFOA) nel 2002 (valori medi).

In merito a questi valori sono importanti alcune considerazioni. I dati dello studio giapponese di Harada del 2004 e in quello cinese di Jin richiedono ulteriori conferme. È emersa, da parte degli autori, la necessità di disporre di una matrice omogenea (plasma o siero) e di uno standard interno marcato, anche per effettuare un confronto dei dati ottenuti con quelli europei o statunitensi. Olsen, in uno studio americano su campioni ematici raccolti nei due periodi storici sopraccitati (studi NHANES) ha riscontrato una diminuzione progressiva di PFOS e PFOA pari al 40% e al 50%, rispettivamente. Il metodo utilizzato è stato adattato su campioni di plasma con l'uso di standard interno marcato al carbonio (<sup>13</sup>C acido perfluorooctanoico) e analizzato in triplo quadrupolo (LC-MS/MS). I limiti di quantificazione erano di 3,4 µg/l per PFOS e di 1,0 µg/l per PFOA. Si ritiene quindi, in base agli studi europei, tenuto conto dei dati riportati da Calafat e confermati da Olsen nel 2007, che l'andamento delle concentrazioni

## 2. PFOS e PFOA

sieriche dei due composti sia in progressiva diminuzione, dopo aver raggiunto un *plateau* nel 1999. Questo tipo di andamento è stato rilevato sia nei maschi, sia nelle femmine. La differenziazione dei dati in funzione del sesso indicava che, in tutte le razze, ad eccezione della popolazione cinese, la concentrazione media di PFOS era pari a 33,4 µg/l nel 1999 e a 23,3 µg/l nel 2003. La concentrazione di PFOS nelle femmine era pari a 28,0 e 18,4 µg/l rispettivamente, nel 1999 e 2003. Se si considerano razze o etnie differenti non si osservano concentrazioni variabili dei due composti, ma tale variabilità aumenta se si associa l'età del soggetto. Si ritiene che i valori sopraccitati siano riferibili a differenti stili di vita e al consumo di diverse tipologie di alimenti. Tuttavia, il contributo della singola sorgente o percorso di esposizione a PFAs non risulta identificato.

È indubbio che fattori farmacocinetici possano contribuire alle differenze osservate nella distribuzione dei valori di PFOS e PFOA in soggetti della popolazione generale inclusa quella infantile (maschi e femmine). La concentrazione maggiore di PFOS rispetto al PFOA che caratterizza la totalità dei dati pubblicati è infatti correlata con la metabolizzazione di precursori dei composti perfluoroalchilici PFOS-derivati. Tali molecole degradano parzialmente a PFOA e in modo consistente a PFOS, come prodotto finale e persistente in ambiente (Calafat 2007).

### 9.2. Latte materno

Uno studio di Völkel (2008) ha riportato le concentrazioni di PFOS e PFOA nel latte materno, che sono risultate comprese tra 0,096 e 0,639 µg/l in 70 campioni. Il PFOA, era presente a livelli analiticamente rilevabili in 11 campioni, con una positività del 16% e concentrazioni comprese tra 0,201 e 0,460 µg/l. Tali dati sono comparabili con quelli di So (2006) in una ricerca condotta su un gruppo di donne primipare. La concentrazione mediana di PFOS nel latte materno (0,110 µg/l) è risultata anche in questo caso maggiore rispetto al PFOA. Questo andamento è stato confermato da uno studio di Karrman (2004) sulla popolazione svedese. Un campione su un totale di 19 analizzati è risultato positivo al PFOA, mentre il livello medio di PFOS era pari a 0,170 µg/l. Nell'interpretazione di questi dati bisogna tenere conto del fatto che sostanze lipofile sono più facilmente trasferite dal sangue materno al latte. Viceversa sostanze anfifiliche, come i composti perfluoroalchilici, non vengono trasportati nel latte se non in quantità contenute. Pertanto, la possibilità che PFOS o PFOA siano presenti nel latte materno è molto ridotta. La concentrazione ematica di queste sostanze è più elevata nel siero di donne in gravidanza o durante l'allattamento rispetto al contenuto nel latte materno.

## INTERFERENTI ENDOCRINI ■ SCHEDE MONOGRAFICHE

### 9.3. Sangue del funicolo ombelicale

Apelberg (2007) ha riferito livelli di PFOS e PFOA nel siero del funicolo tra 3,3 e 8,7 µg/l e nell'intervallo 0,3-7,1 µg/l, rispettivamente. Complessivamente sono stati analizzati 293 campioni ottenuti dalla popolazione statunitense. Le concentrazioni rilevate sono state correlate con l'età gestazionale, il peso corporeo del feto e la circonferenza del cranio. L'autore ha riportato una correlazione inversamente proporzionale tra l'aumentata concentrazione dei due composti citati e la circonferenza cranica rispetto alla media normale dei bambini nati (indice di crescita corporea). I dati disponibili non sono sufficienti per stabilire se ciò rappresenta un indicatore prognostico di crescita del feto. Altri autori (Inoue 2004, Olsen 2003) hanno quantificato i livelli di PFOS e PFOA nel funicolo rilevando una correlazione statisticamente significativa tra la concentrazione nel sangue materno e in campioni di funicolo ombelicale. Lo studio giapponese (Inoue) ha confermato questa correlazione e messo in evidenza che i livelli di PFOS e PFOA nelle due matrici erano più elevati per la popolazione femminile americana (circa il doppio) rispetto a quella asiatica. Analoghe considerazioni sono state espresse da Olsen nello studio del 2003.

## 10. Concentrazione di riferimento dell'intake alimentare

Si pone in evidenza che allo stato attuale non sono state stabilite dosi di riferimento (RfD) per i PFAs. Le RfDs temporanee stimate per PFOS (25 ng/kg/giorno) e PFOA (333 ng/kg/giorno) sono state ricavate da studi sperimentali di carcinogenicità di tipo multigenerazionale (Gulkowska 2006).

## 11. Valori di riferimento di PFOS e PFOA in siero o plasma

Il monitoraggio biologico della popolazione generale per la determinazione dei livelli ematici di composti perfluoroalchilici per quanto attiene all'Europa ha interessato 3 importanti indagini. Il *data-base* utilizzato ha fatto riferimento a due di queste indagini, quella di Midasch del 2006 e Fromme del 2007. Il dettaglio del monitoraggio, in termini di ubicazione dell'area geografica considerata, l'anno in cui sono stati raccolti i campioni di plasma, la numerosità della popolazione oggetto di studio, suddivisa per età e sesso, è successivamente riportato in tabella. I valori di PFOS e PFOA sono stati ottenuti dallo stesso laboratorio (Angerer, Erlangen), mediante un'unica strumentazione e secondo metodo analitico validato

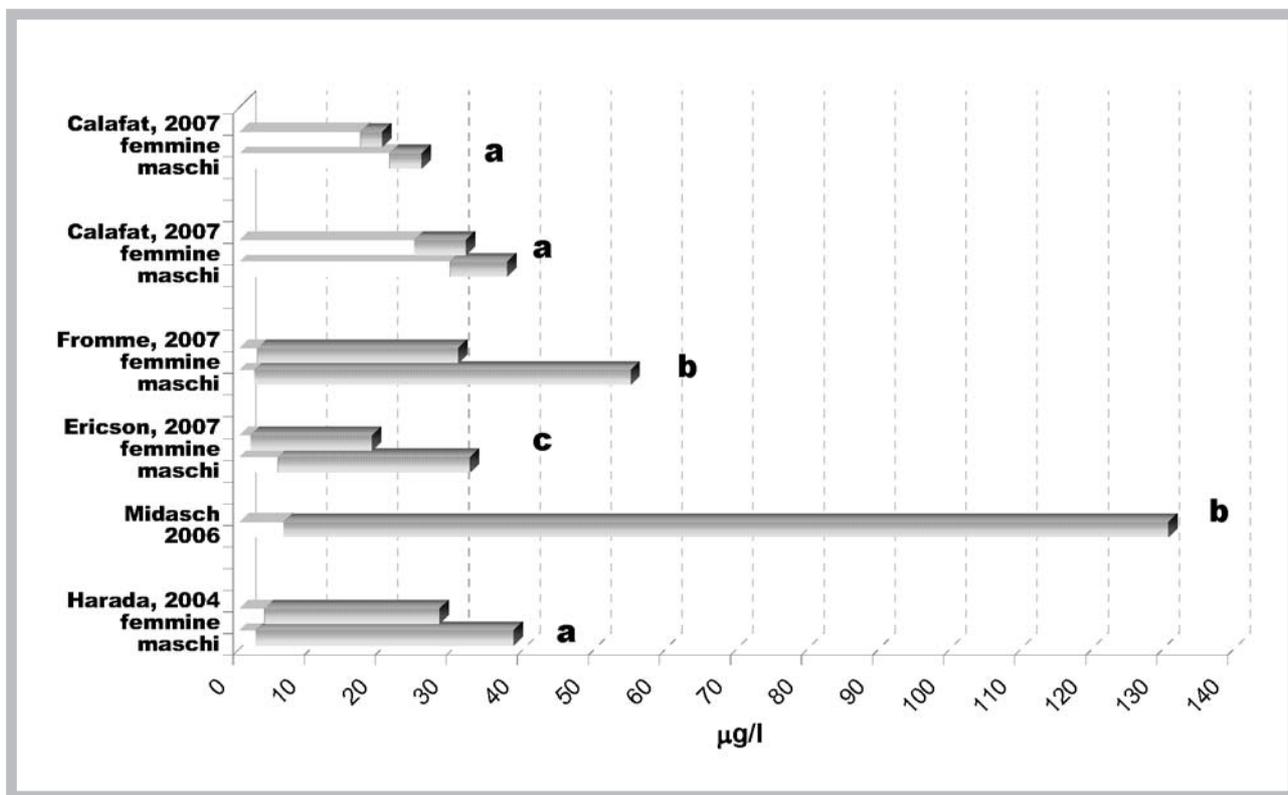


Figura 2. Valori di riferimento di PFOS in siero e plasma (a = siero; b = plasma; c = valori calcolati moltiplicando per un fattore 2 le concentrazioni ottenute da sangue intero)

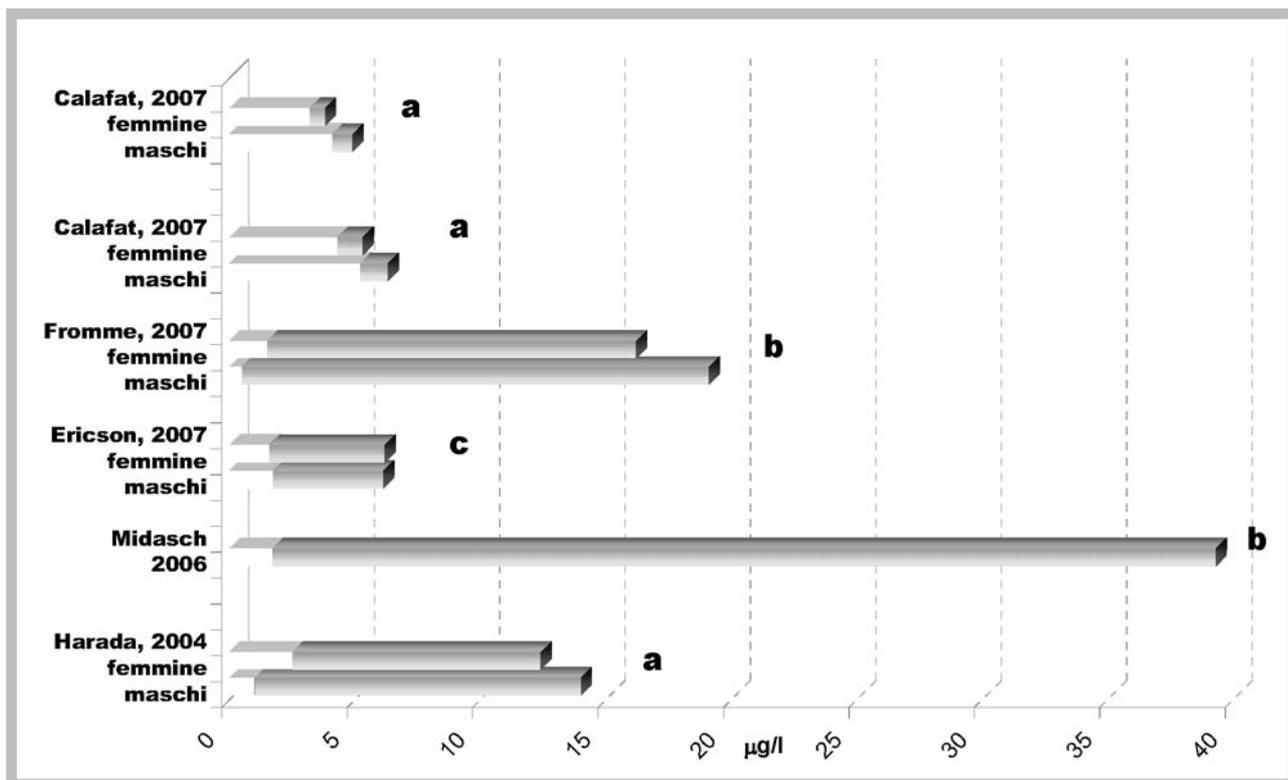


Figura 3. Valori di riferimento di PFOA in siero e plasma (a =siero; b = plasma; c = valori calcolati moltiplicando per un fattore 2 le concentrazioni ottenute da sangue intero)

**Tabella 2.** Valori di riferimento preliminari di PFOS e PFOA per la popolazione europea

	Calafat, 2007	Calafat, 2007	Fromme, 2007	Ericson, 2007	Midasch, 2006	Harada, 2004
<b>Area Geografica</b>	USA	UE (Germania)	UE (Spagna)	UE (Germania)	Asia (Giappone)	
<b>Anno di campionamento</b>	NHANES 2003-2004	NHANES 1999-2000	2005	2006	2003-2004	2003
<b>N # numerosità</b>	2094	1562	356	48	105	225
<b>♀</b>	1041		168	24	54	99
<b>♂</b>	1053		188	24	51	126
<b>Età dei soggetti</b>	12 ≥ 60	12 ≥ 60	14-67	23-60	5-84	35 (valore medio)
<b>LOD del metodo applicato</b>	0,2 µg/l	0,4 µg/l	0,5 µg/l	0,09 µg/l	0,8 µg/l	0,04 µg/l

	PFOS (µg/l)	PFOA (µg/l)
Femmine (popolazione adulta)	15	10
Maschi (popolazione adulta)	25	10
Bambini (età media 6 anni)	10	10

in accordo alle Linee Guida *Food and Drug Administration* (FDA). Solo il limite di rilevabilità è stato ottimizzato dai ricercatori (vedi tabella) nel corso degli anni. I risultati ottenuti nel terzo e più recente monitoraggio biologico (Holzer, 2008) sono stati esclusi dalla definizione dei valori di riferimento della popolazione europea. I campioni di plasma utilizzati nello studio, infatti, sono stati raccolti in coincidenza con l'incidente di contaminazione delle acque di falda nella regione di Sauerland (North-Rhine Westphalia) avvenuto tra ottobre e novembre 2006. L'intervallo dei valori di concentrazione plasmatica e sierica di PFOS e PFOA ottenuti dai ricercatori sopraccitati è espresso in µg/l e dettagliato per ciascuno studio nei grafici di seguito riportati. I dati europei sono stati confrontati con quelli americani (studi del NHANES 1999-2000 e 2003-2004), con quelli asiatici, in particolare riferibili allo studio di Harada che ha monitorato la popolazione di 3 regioni del Giappone. In un recentissimo lavoro (Whilhelm 2008), è emerso che i livelli ematici di PFOS e PFOA nella popolazione europea sono in accordo con i valori americani e asiatici. I valori di riferimento preliminari ottenuti sono riportati in tabella 2.

## 12. Valori di PFOA in soggetti professionalmente esposti a PFAs

Se si confrontano i valori di PFOA e di PFOS in soggetti professionalmente esposti a perfluorurati, il

PFOA è il composto a più elevata concentrazione. Tale dato non sorprende in quanto la produzione del PFOA è continuata mentre nel 2000-2002 è stata interrotta quella del PFOS. I livelli sierici di quest'ultimo composto reperibili in letteratura per l'esposizione occupazionale risultano notevolmente più elevati indicativamente di uno o due ordini di grandezza. Ad esempio, Ehresman ha rilevato in 18 lavoratori esposti a PFAs una concentrazione media di 1046 µg/l, con un valore massimo di 7320 µg/l. Nel lavoro di Olsen (2007a) il monitoraggio biologico dei livelli di PFOA in soggetti esposti (n=26) ha fornito una concentrazione media di 691 µg/l, con un intervallo compreso tra 72 e 5100 µg/l. In merito a possibili effetti sulla salute dei lavoratori esposti secondo lo stesso autore non si sono evidenziati possibili associazioni tra patologie renali ed emivita del contenuto sierico di PFOA. Va rilevato che la totalità degli studi epidemiologici è stata condotta su dati di PFOA resi disponibili da periodiche campagne di monitoraggio condotte presso gli stabilimenti della 3M. Nello stesso documento prodotto da US EPA del 2005 si afferma tra l'altro che non sono stati indagati gli effetti della riproduzione. Qualche dubbio è stato espresso su una possibile relazione tra cancro alla prostata, alla vescica e al rene in lavoratori esposti a PFAs. Tra gli ulteriori dati emersi risulta un aumento dei livelli di estradiolo nei soggetti con alti livelli. Anche i valori di colesterolo e trigliceridi nel siero sono risultati correlabili con l'esposizione professionale a PFOA.

### 13. Sviluppo di nuovi marcatori molecolari di espressione genica nell'animale

Da un esame della letteratura contemporanea si sottolinea che diversi ricercatori hanno valutato il profilo di espressione genica nel roditore in seguito a esposizione di PFOS e PFOA (Guruge 2006, Hu 2005, Martin 2007) e i dati ottenuti mostrano una discreta concordanza. È stato riportato che tali alterazioni si manifestano a livello di geni coinvolti in diverse vie:

- proliferazione dei perossisomi
- metabolismo degli acidi grassi
- trasporto dei lipidi
- sintesi del colesterolo
- attivazione del proteosoma
- proteolisi
- comunicazione cellulare
- infiammazione

In riferimento a quanto sopra esposto, variazioni a carico di geni coinvolti nel metabolismo degli acidi grassi sono ben supportate da risultati di precedenti studi *in vivo* (Kudo 1999, Singer 1990, Sohlenius 1993, Van Raferghem 1988). Analogamente gli effetti a carico dei mitocondri riconducibili ai PFAs sono riportati in diversi lavori (Berthiaume e Wallace 2002, O'Brien e Wallace 2004, Starkov e Wallace 2002).

### 14. Conclusioni

È indubbio che il PFOA e il PFOS sono composti persistenti che, trattandosi di sostanze anfipatiche, nell'uomo non hanno mostrato la tendenza ad accumularsi nel tessuto adiposo. La dieta rappresenta la principale via di esposizione nell'organismo, anche se i dati attualmente disponibili necessitano di essere approfonditi soprattutto attraverso studi comparabili di *total diet*. Al momento non è possibile definire una concentrazione di riferimento dell'*intake* alimentare di PFOS e PFOA per la popolazione italiana e il valore RdF proposto come temporaneo è stato stimato pari a 25 ng/kg/giorno per PFOS e a 333 ng/kg/giorno per PFOA. Un aspetto peculiare di questi composti è quello di agire come interferenti endocrini in diverse specie animali con dubbi e necessità di approfondimenti per quanto riguarda l'uomo. La determinazione di PFOA e PFOS nel siero rappresentano gli indicatori biologici maggiormente utilizzati, anche nel monitoraggio di composti perfluorurati nei soggetti professionalmente esposti. Gli studi disponibili sui VRs del PFOA e del PFOS hanno evidenziato in quest'ultimo decennio variazioni apprezzabili, talvolta contraddittorie tra i diversi autori e ciò è dipeso sia dall'area di residenza della popolazione generale in studio, sia dall'evoluzione tecnico strumentale. Grazie all'impiego della HPLC a singolo e a triplo quadrupolo la

specificità e l'accuratezza delle misure è migliorata progressivamente. Ciò nonostante permangono tra gruppi di popolazione residenti in diversi continenti differenze statisticamente significative tra i valori di riferimento nel siero (plasma) di PFOA e PFOS. Emblematico al riguardo è il doppio studio del NHANES che a distanza di circa un triennio (Figura 2 e 3) ha evidenziato significative riduzioni dei livelli sierici dei due composti. I valori rilevati nei soggetti professionalmente esposti, in precedenza commentati, pongono l'attenzione anche sulla popolazione generale, in particolare per quanto attiene allo sviluppo e alla riproduzione.

Particolarmente avvertita sia per la popolazione generale, sia per quella esposta a livello occupazionale, è l'esigenza di disporre di nuovi biomarcatori. Gli studi attualmente disponibili lasciano intravedere la possibilità di integrare la determinazione di PFOA e PFOS con indicatori di espressione genica, anche se i limitati dati disponibili si riferiscono a studi sperimentali.

### 15. Bibliografia

- 1) 3M Company. (2001). Material safety data sheet FC-26 fluorad brand fluorochemical acid, ID number/U.P.C.: ZF-0002-0376-8. Available at: <http://www.3M.com/US/safety/index.jhtml>.2007.
- 2) Andersson AM. Impaired Leydig cell function in infertile men: a study of 357 idiopathic infertile men and 318 proven fertile controls. *J Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89: 3161-3167.
- 3) Apelberg BJ. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 1670-1676.
- 4) Austin M. Neuroendocrine effects of perfluorooctane sulfonate in rats. *Environ Health Perspect* 2003; 111:1485-1489.
- 5) Barber L. Analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in air samples from northwest Europe. *J Environ Monit* 2007; 9: 530-541.
- 6) Barton CA. Characterizing perfluorooctanoate in ambient air near the fence line of a manufacturing facility: comparing modeled and monitored values. *J Air Waste Manag Assoc* 2006; 56: 48-55.
- 7) Belisle J. A method for the determination of perfluorooctanoic acid in blood and other biological samples. *Anal Biochem* 1980; 101: 369-376.
- 8) Berger J. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med* 2002; 53: 409-35.
- 9) Berthiaume J. Perfluorooctanoate, perfluorooctanesulfonate, and N-ethyl perfluorooctanesulfonamide ethanol; peroxisome proliferation and mitochondrial biogenesis. *Toxicol Lett* 2002; 129: 23-32.
- 10) Biegel LB. Effects of ammonium perfluorooctanoate on Leydig cell function: *in vitro*, *in vivo*, and *ex vivo* studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995; 134: 18-25.
- 11) Biegel LB. Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicol Sci* 2001; 60: 44-55.
- 12) Bookstaff RC. Androgenic deficiency in male rats treated with perfluorodecanoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990; 104: 322-333.
- 13) Calafat AM. Polyfluoroalkyl Chemicals in the U.S. Population: Data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004 and Comparisons with NHANES 1999-2000. *Environmental Health Perspectives* 2007; 115: 1596-1602.

2. PFOS e PFOA

INTERFERENTI ENDOCRINI ■ SCHEDE MONOGRAFICHE

- 14) Calafat AM. Perfluorochemicals in pooled serum samples from United States residents in 2001 and 2002. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 2128-2134.
- 15) Centre Analytical Laboratories, Inc. Analysis of PFOS, FOSA and PFOA from Various Food Matrices Using HPLC Electro spray/Mass Spectrometry; Centre Study Number 023-057; 2001.
- 16) Cook JC. Induction of Leydig cell adenomas by ammonium perfluorooctanoate: A possible endocrine-related mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992; 113: 209-217.
- 17) Davis KL. Transport of ammonium perfluorooctanoate in environmental media near a fluoropolymer manufacturing facility. *Chemosphere* 2007; 67: 2011-2019.
- 18) De Silva AO. Isomer Distribution of Perfluorocarboxylates in Human Blood: Potential Correlation to Source. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 2903-2909.
- 19) Delerive P. Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Endocrinol* 2001; 169: 453-9.
- 20) Dinglasan MJ. Fluorotelomer alcohol biodegradation yields poly- and perfluorinated acids. *Environ Sci Technol* 2004; 38: 2857-2864.
- 21) Direttiva 2006/122/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 12 dicembre 2006. Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea L372/32 del 27 dicembre 2006.
- 22) Ehresman DJ. Comparison of human whole blood, plasma, and serum matrices for the determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and other fluorochemicals. *Environ Res* 2007; 103:176-184.
- 23) Elangbam CS, Tyler RD, Lightfoot RM. Peroxisome proliferator-activated receptors in atherosclerosis and inflammation-an update. *Toxicol Pathol* 2001; 29: 224-31.
- 24) Ellis DA. Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environ Sci Technol* 2004; 15: 3316-3321.
- 25) Emmett EA. Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum concentrations and exposure sources. *J Occup Environ Med* 2006a; 48: 759-770.
- 26) Emmet EA. Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum levels and certain health parameters. *J Occup Environ Med* 2006b; 48: 771-779.
- 27) Eraly SA. The molecular pharmacology of organic anion transporters: from DNA to FDA? *Mol Pharmacol* 2004; 65: 479-487.
- 28) Ericson I. Human exposure to perfluorinated chemicals through the diet: intake of perfluorinated compounds in foods from the Catalan (Spain) market. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 1787-1794.
- 29) Falandysz J. Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic coast. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 748-751.
- 30) Flaherty JM. Quantitative determination of perfluorooctanoic acid in serum and plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005; 819: 329-338.
- 31) Fromme H. Integrated Exposure Assessment Survey (INES). Exposure to persistent and bioaccumulative chemicals in Bavaria, Germany. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210: 345-349.
- 32) Fuentes S. Concurrent exposure to perfluorooctane sulfonate and restraint stress during pregnancy in mice: effects on post-natal development and behavior of the offspring. *Toxicol Sci* 2007; 98: 589-598.
- 33) Giesy JP. and Kannan K. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ Sci Technol* 2001; 35: 1339-1342.
- 34) Gruber L. Tissue distribution of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in fish. *Organohalogen Compd* 2007; 69: 3.
- 35) Guidance for industry: bioanalytical method validation, FDA, US Department of Health and Human Services. 2001. available <http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.pdf>.
- 36) Gulkowska A. Persistent perfluorinated acids in seafood collected from two cities of China. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 3736-3741.
- 37) Guruge KS. Gene expression profiles in rat liver treated with perfluorooctanoic acid (PFOA). *Toxicol Sci* 2006; 89: 93-107.
- 38) Harada K. Perfluorooctane sulfonate contamination of drinking water in the Tama River, Japan: estimated effects on resident serum levels. *Bull Environ Contam Toxicol* 2003; 71: 31-36.
- 39) Harada K. 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: 141-147.
- 40) Harada K. Airborne perfluorooctanoate may be a substantial source contamination in Kyoto area, Japan. *Bull Environ Contam Toxicol* 2005a; 74: 64-69.
- 41) Harada K. Renal clearance of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans and their species-specific excretion. *Environ Res* 2005b; 99: 253-261.
- 42) Harada K. Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan. *Chemosphere* 2007; 66: 293-301.
- 43) Holm A. Determination of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in human plasma by large volume injection capillary column switching liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *J Sep Sci* 2004; 27:1071-1079.
- 44) Holm M. Leydig cell micronodules are a common finding in testicular biopsies from men with impaired spermatogenesis and are associated with decreased testosterone/LH ratio. *J Pathol* 2003; 199: 378-386.
- 45) Hölzer J. Biomonitoring of perfluorinated compounds in children and adults exposed to perfluorooctanoate (PFOA)-contaminated drinking water. *Environ Health Perspect* 2008; 116: 651-657.
- 46) Hu WY. Alterations in cell membrane properties caused by perfluorinated compounds. *Comp Biochem Physiol Part C* 2003; 135: 77-88.
- 47) Hu WY. Identification of genes responsive to PFOS using gene expression profiling. *Environ Toxicol Pharmacol* 2005; 19: 50-57.
- 48) Hudlicky M. Chemistry of organic fluorine compounds II, a critical review, 1<sup>st</sup> ed; American Chemical Society: Washington, DC, 1995.
- 49) Inoue K. Determination of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonylamide in human plasma by column-switching liquid chromatography-electrospray mass spectrometry coupled with solid-phase extraction. *J Chrom B* 2004, 810: 49-56.
- 50) Inoue K. 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.
- 51) Jensen AA. Emerging endocrine disruptors: perfluoroalkylated substances. *Int J Androl* 2008; 31:161-169.
- 52) Jin Y. Historical trends in human serum levels of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in Shenyang, China. *Tohoku J Exp Med* 2007; 212: 63-70.
- 53) Johnson JD. 1979. Extent and route of excretion and tissue distribution of total carbon-14 in rats after a single i.v. dose of FC-95-<sup>14</sup>C. Riker Laboratories, Inc., St Paul, MN, U.S. EPA docket 8EHQ-1180-00374. Washington, DC:US Environmental Protection Agency.
- 54) Johnson JD. Cholestyramine-enhanced fecal elimination of carbon-14 in rats after administration of ammonium [<sup>14</sup>C]perfluorooctanesulfonate. *Fundam Appl Toxicol* 1984; 4: 972-976.
- 55) Jones PD. Binding of perfluorinated fatty acid to serum proteins. *Environ Toxicol Chem* 2003; 22: 2639-2649.
- 56) Kannan K. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lake food chain. *Arch Environ Toxicol* 2005; 48: 559-566.

- 57) Kärman A. Levels of perfluoroalkylated compounds in whole blood from Sweden. *Organohalogen Compd* 2004; 66: 4058-4062.
- 58) Kärman A. Development of a solid-phase extraction-HPLC/single quadrupole MS method for quantification of perfluorochemicals in whole blood. *Anal Chem* 2005; 77: 864-870.
- 59) Kärman A. Identification and pattern of perfluorooctane sulfonate (PFOS) isomers in human serum and plasma. *Environ Int* 2007; 33: 782-788.
- 60) Kemper RA. Pharmacokinetics of perfluorooctanoic acid in male and female rats. *Toxicologist* 2003; 72: 148.
- 61) Kemper RA. and Nabb DL. In vitro studies in microsomes from rat and human liver, kidney, and intestine suggest that perfluorooctanoic acid is not a substrate for microsomal UDP-glucuronosyltransferases. *Drug Chem Toxicol* 2005; 28: 281-287.
- 62) Kennedy GL. The toxicology of perfluorooctanoate. *Crit Rev Toxicol* 2004; 34: 351-384.
- 63) Kerstner-Wood C. Protein binding of perfluorobutane sulfonate, perfluorohexane sulfonate, perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate to plasma (human, rat, and monkey), and various human-derived plasma protein fractions. Southern Research Institute, Birmingham, AL. U.S. EPA 2003 Administrative Record, AR-226-1354.
- 64) Kissa E. Fluorinated Surfactants and Repellents, second ed. 2001. Marcel Dekker, New York, US, pp. 1-615.
- 65) Klauning JE. PPARalpha agonist-induced rodent tumors: Mode of Action and human relevance. *Crit Rev Toxicol* 2003; 33: 655-680.
- 66) Kubwabo B. Occurrence of perfluorosulfonates and other perfluorochemicals in dust from selected homes in the city of Ottawa, Canada. *J Environ Monit* 2005; 7: 1074-1076.
- 67) Kudo N. Alterations by perfluorooctanoic acid of glycerolipid metabolism in rat liver. *Chem Biol Interact* 1999; 118: 69-83.
- 68) Kudo N. Sex hormone-regulated renal transport of perfluorooctanoic acid. *Chem Biol Interact* 2002; 139: 301-316.
- 69) Kudo N. and Kawashima Y. Toxicity and toxicokinetics of perfluorooctanoic acid in humans and animals. *J Toxicol Sci* 2003; 28: 49-57.
- 70) Kuslikis BI. Lack of evidence for perfluorodecanoyl- or perfluorooctanoyl-coenzyme A formation in male and female rats. *Biochem Toxicol* 1992; 7: 25-29.
- 71) Lau C. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II. Postnatal evaluation. *Toxicol Sci* 2003; 74: 382-392.
- 72) Lau C. Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicol Sci* 2006; 90: 510-518.
- 73) Lau C. Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol Sci* 2007; 99: 366-394.
- 74) LHWA (Little Hocking Water Association), 2005. Notice of contamination. Little Hocking's current activities. <http://www.littlehockingwater.org>.
- 75) Liu RC. Effect of the peroxisome proliferators, ammonium perfluorooctanoate (C8), on hepatic aromatase activity in adult male CrI: CD BR (CD) rats. *Fundam Appl Toxicol* 1996; 30: 220-228.
- 76) Ljubojevic M. Rat renal cortical OAT1 and OAT3 exhibit gender differences determined by both androgen stimulation and estrogen inhibition. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287:124-138.
- 77) Loos R. Analysis of perfluorooctanoate (PFOA) and other perfluorinated compounds (PFCs) in the River Po watershed in N-Italy. *Chemosphere* 2008; 71: 306-313.
- 78) Loos R. Polar herbicides, pharmaceuticals, perfluorooctansulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Anal Bioanal Chem* 2007; 387: 1469-1478.
- 79) Luebker D. Neonatal mortality from in utero exposure to perfluorooctanesulfonate (PFOS) in Sprague-Dawley rats: dose-response, and biochemical and pharmacokinetic parameters. *Toxicology* 2005a; 215: 149-169.
- 80) Luebker D. Two-generation reproduction and cross-foster studies of perfluorooctanesulfonate (PFOS) in rats. *Toxicology* 2005b; 215: 126-148.
- 81) Maestri L. Determination of perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonate in human tissues by liquid chromatography/single quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2006; 20: 2728-2734.
- 82) Maloney EK. and Waxman DJ. Transactivation of PPARalpha and PPARgamma by structurally diverse environmental chemicals. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 161: 209-218.
- 83) March J. Advanced Organic Chemistry, 3<sup>rd</sup> ed. John Wiley & Sons, New York 1985.
- 84) Martin JW. Analytical challenges hamper perfluoroalkyl research. *Environ Sci Technol* 2004; 38:248-255.
- 85) Martin JW. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Toxicol Chem* 2003a; 22:196-204.
- 86) Martin JW. Dietary accumulation of perfluorinated acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Toxicol Chem* 2003b; 22: 189-195.
- 87) Martin MT. Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity. *Toxicol Sci* 2007; 97: 595-613.
- 88) Marx N. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and their role in the vessel wall: possible mediators of cardiovascular risk? *J Cardiovasc Risk* 2001; 8: 203-210.
- 89) McLachlan M. Riverine discharge of perfluorinated carboxylates from the European Continent. *Environ Sci Technol* 2007; 41: 7260-7265.
- 90) McMurdo CJ. Aerosol enrichment of the surfactant PFO and mediation of the water-air transport of gaseous PFOA. *Environ Sci Technol* 2008; 42: 3969-3974.
- 91) Midasch O. Pilot study on the perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate exposure of the German general population. *Int J Hyg Environ Health* 2006; 209: 489-496.
- 92) Morimura K. Differential susceptibility of mice humanized for peroxisome proliferator-activated receptor alpha to Wy-14,643-induced liver tumorigenesis. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1074-1080.
- 93) O'Brien TM. Wallace KB. Mitochondrial permeability transition as the critical target of N-acetyl perfluorooctane sulfonamide toxicity in vitro. *Toxicol Sci* 2004; 82: 333-340.
- 94) OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 2002. Co-operation on existing chemicals. Hazard assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts. ENV/JM/RD(2002)17/FINAL, Paris.
- 95) Olsen GW. An epidemiologic investigation of reproductive hormones in men with occupational exposure to perfluorooctanoic acid. *J Occup Environ Med* 1998; 40: 614-622.
- 96) Olsen GW. Perfluorooctanesulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in the serum of American Red Cross adult blood donors. *Environ Health Perspect* 2003; 111: 1892-1901.
- 97) Olsen GW. Quantitative evaluation of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in the serum of children. *J Child Health* 2004; 2:53-76.
- 98) Olsen GW. Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood. *Environ Health Perspect* 2005; 113:539-545.
- 99) Olsen GW. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 2007a; 115:1298-1305.
- 100) Olsen GW. Preliminary evidence of a decline in perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) concentrations in American Red Cross blood donors. *Chemosphere* 2007b; 68: 105-111.

2. PFOS e PFOA

INTERFERENTI ENDOCRINI ■ SCHEDE MONOGRAFICHE

- 101) Palmer CN. Peroxisome proliferator activated receptor- $\alpha$  expression in human liver. *Mol Pharmacol* 1998; 53: 14-22.
- 102) Prevedouros K. Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 32-44.
- 103) Saito N. Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan. *J Occup Health* 2004; 46: 49-59.
- 104) Seacat AM. Subchronic toxicity studies on perfluorooctane-sulfonate potassium salt in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci* 2002; 68: 249-264.
- 105) Seacat AM. Sub-chronic dietary toxicity of potassium perfluorooctane-sulfonate in rats. *Toxicology* 2003; 183:117-131.
- 106) Shah Y. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  regulates a microRNA-mediated signaling cascade responsible for hepatocellular proliferation. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 4238-4247.
- 107) Sinclair E. Quantitation of gas-phase perfluoroalkyl surfactants and fluorotelomer alcohols released from nonstick cookware and microwave popcorn bags. *Environ Sci Technol* 2007; 41: 1180-1185.
- 108) Singer SS. Perfluoro-N-decanoic acid effects on enzymes of fatty acid metabolism. *Toxicol Lett* 1990; 54: 39-46.
- 109) Skutlarek D. Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters. *Environ Sci Pollut Res Int* 2006; 13: 299-307.
- 110) So MK. Health risk in infants associated with exposure to perfluorinated compounds in human breast milk from Zhoushan, China. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 2924-2929.
- 111) Sohlenius AK. Perfluorooctane sulfonic acid is a potent inducer of peroxisomal fatty acid  $\beta$ -oxidation and other activities known to be affected by peroxisome proliferators in mouse liver. *Pharmacol Toxicol* 72: 90-93.
- 112) Sottani C. Quantitative determination of perfluorooctanoic acid ammonium salt in human serum by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2002; 16: 650-654.
- 113) Stahl T. 2007. Messungen des Landesbetriebes Hessisches Landeslabor, Abt. V, Umwelt- und Spurenanalytik. Persönliche Mitteilung.
- 114) Starkov AA, Wallace KB. Structural determinants of fluorocemical-induced mitochondrial dysfunction. *Toxicol Sci* 2002; 66: 244-252.
- 115) Strynar MJ, Lindstrom AB. Perfluorinated compounds in house dust from Ohio and North Carolina, USA. *Environ Sci Technol* 2008; 42: 3751-3756.
- 116) Taves DR. Electrophoretic mobility of serum fluoride. *Nature* 1968; 220: 582-583.
- 117) Thibodeaux JR. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. I. Maternal and prenatal evaluations. *Toxicol Sci* 2003; 74: 369-381.
- 118) Thomford PJ. Terminal observations in Sprague-Dawley rats after lifetime dietary exposure to N-ethyl perfluorooctane sulfonamide ethanol. *Toxicologist* 2002; 66: 85.
- 119) Tittlemier SA. Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast food, and food items prepared in their packing. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 3203-3210.
- 120) Tomy GT. Biotransformation of N-ethyl perfluorooctanesulfonamide by rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) liver microsomes. *Environ Sci Technol* 2004; 38: 758-762.
- 121) Trudel D. Estimating consumer exposure to PFOS and PFOA. *Risk Anal* 2008; 28: 251-69.
- 122) Tugwood JD. A ppar  $\alpha$  cDNA cloned from guinea pig liver encodes a protein with similar properties to the mouse PPAR  $\alpha$ : implications for species differences in response to peroxisome proliferators. *Arch Toxicol* 1998; 72: 169-177.
- 123) U.K. Food Standards Agency. Fluorinated Chemicals: U.K. Dietary Intakes. Food Survey Information Sheet 11/06. 2006; available at <http://www.food.gov.uk/science/surveillance/fsisbranch2006/fsis1106>, accessed Dec 20, 2007.
- 124) US EPA, 2000. Perfluorooctane sulfonate proposed significant new use rule. Federal Register 65: 62319-62333.
- 125) US EPA, 2001. Analysis of PFOS, FOSA, and PFOA from various food matrices using HPLC electrospray/mass spectrometry. 3M Study conducted by Centre Analytical Laboratories, Inc. [http://ewg.org/files/multicity\\_full.pdf](http://ewg.org/files/multicity_full.pdf).
- 126) US EPA, 2005. Draft Risk Assessment of the potential human health effects associated with exposure to perfluorooctanoic acid and its salts. OPPT review, <http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/pfoarisk.pdf>.
- 127) Van Rafelghem MJ. Perfluorodecanoic acid and lipid metabolism in the rat. *Lipids* 1988; 23: 671-678.
- 128) Van Heuvel JP. Tissue distribution, metabolism and elimination of perfluorooctanoic acid in male and female rats. *J Biochem Toxicol* 1991; 6: 83-92.
- 129) Vanden Heuvel JP. Differential activation of nuclear receptors by perfluorinated fatty acid analogs and natural fatty acids: A comparison of human, mouse, and rat peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ , - $\beta$ , and  $\gamma$ , liver X receptor- $\beta$ , and retinoid X receptor- $\alpha$ . *Toxicol Sci* 2006; 92: 476-489.
- 130) Volkel W. Perfluorooctane sulphonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in human breast milk: Results of a pilot study. *Int J Hyg Environ Health* 2008; 211: 440-446.
- 131) Wang N. Aerobic biotransformation of  $^{14}\text{C}$ -labeled 8-2 telomer B alcohol by activated sludge from domestic sewage treatment plant. *Environ Sci Technol* 2005; 39: 531-538.
- 132) Wilhelm M. Assessment and management of the first German case of a contamination with perfluorinated compounds (PFC) in the region Sauerland, North Rhine-Westphalia. *J Toxicol Environ Health* 2008a; 71: 1-8.
- 133) Wilhelm M. Preliminary observations on perfluorinated compounds in plasma samples (1977-2004) of young German adults from an area with perfluorooctanoate contaminated drinking water. *Int J Hyg Environ Health* 2008;
- 134) Xu L. Biotransformation of N-ethyl-N (2hydroxyethyl) perfluorooctane sulfonamide by rat liver microsomes, cytosol, and slices and by expressed rat and human cytochromes P450. *Chem Res Toxicol* 2004; 7:767-75.
- 135) Yamamoto G. Distribution and forms of fluorine in whole blood of human male. *Anal Biochem* 1989; 182: 371-376.
- 136) Yamashita N. A global survey of perfluorinated acids in oceans. *Mar Pollut Bull* 2005; 51: 658-668.
- 137) Ylinen M. Quantitative gas chromatographic determination of perfluorooctanoic acid as the benzyl ester in plasma and urine. *Arch Environ Contam Toxicol* 1985; 14: 713-717.