

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Ústav pro životní prostředí**

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



**Karolína Leifertová**

Toxicita perfluorovaných uhlovodíků  
Toxicity of perfluorinated hydrocarbons

Bakalářská práce

Školitel: **Prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph. D.**

Praha, 2020

**Charles University**  
**Faculty of Science**

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně pod vedením Prof. RNDr. Tomáše Cajthamla, Ph.D. A prohlašuji, že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

## **Poděkování**

Mé poděkování patří Prof. RNDr. Tomášovi Cajthamlovi, Ph. D. za odborné vedení práce, trpělivost, ochotu a cenné rady, které mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnoval.

## **Abstrakt**

Perfluorované uhlovodíky jsou uměle vytvořené látky používané na výrobu fluoropolymerových vrstev a produktů odloných vůči zašpinění, olejům, teplu a vodě. Perfluorované látky jako je kyselina perfluoroktanová (PFOA) a perfluoroktansulfonová kyselina (PFOS) byly uznány jako environmentální polutanty kvůli jejich perzistenci a všudypřítomnosti v životním prostředí, biotě a také lidech. Tato práce se soustředí na toxicitu perfluorovaných uhlovodíků a to hlavně PFOS a PFOA. Zvláštní pozornost je věnována mechanismům toxicity perfluorovaných látek, které zatím nebyly zcela objasněny. Pro objasnění environmentálního rizika a mechanismu toxicity perfluorovaných látek je nutné provést další studie.

Perfluorinated hydrocarbons are manmade chemicals used to make fluoropolymer coatings and products resistant to stains, oil, heat and water. Perfluorinated compounds such as perfluorooctane acid (PFOA) perfluorooctane sulfonate (PFOS) have been recognized as emerging environmental pollutants due to their persistence and ubiquity in the environment, biota and also humans. This paper focuses on toxicity of perfluorinated hydrocarbons, mainly PFOS and PFOA. A special attention is given to mechanism of toxicity of perfluorinated compounds, which have not yet been fully elucidated. Further studies should be performed to reveal the environmental risk assessment and mechanism of toxicity of perfluorinated compounds.

Klíčová slova: Perfluorované uhlovodíky, toxicita, ekotoxicita, mechanismus toxicity, perfluoroktansulfonová kyselina, kyselina perfluoroktanová

## Seznam používaných zkratek

PFC	Perfluorované látky, z angl. perfluorinated compounds
PFHxA	Kyselina perfluorohexanová
PFOA	Kyselina perfluoroktanová
PFNA	Kyselina perfluornonanová
PFDA	Kyselina perfluorodekanová
PFBS	Perfluorobutansulfonová kyselina
PFHxS	Perfluorohexansulfonová kyselina
PFOS	Perfluoroktansulfonová kyselina
PFDS	Perfluorodekansulfonová kyselina
FOSA	Perfluoroktansulfonamid
FTOH	Fluorotelomerní alkoholy
PFAS	Deriváty perfluoroalkanů
PFAA	Perfluoralkylové kyseliny
PFOSA	Perfluoroktansulfonamid
PFCA	Perfluorkarboxylové kyseliny
PFSA	Perfluoralkylsulfonové kyseliny
PFBA	Perfluorbutanová kyselina
PFPA	Perfluorpentanová kyselina
PFO <sub>3</sub> OA	Perfluor-(3,5,7-trioxoktanová) kyselina
PFO <sub>2</sub> H <sub>x</sub> A	Perfluor-(3,5-dioxohexanová) kyselina
PFO <sub>4</sub> DA	Perfluor-(3,5,7,9-tetraoxodekanová) kyselina
POPs	Perzistentní organické polutanty
TMF	Faktor trofické magnifikace
BMF	Biomagnifikační faktor
NOEC	Nejnižší dávka, při které nejsou pozorovány účinky
EC <sub>50</sub>	Letální koncentrace, při které umře 50% organismů
MDA	Malondialdehyd
ROS	Reaktivní formy kyslíku, z angl. reactive oxygen species
RMR	Klidový metabolismu, z angl. resting metabolic rate
BMI	Index tělesné hmotnosti, z angl. body mass index
ALT	Alaninaminotransferáza
AST	Aspartátaminotransferáza
CKD	Chronické onemocnění ledvin, z angl. chronic kidney disease
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí, USA
WHO	Světová zdravotnická organizace
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
ATSRD	Agentura pro toxické látky a registr nemocí
VGCC	Kalciové kanály, z angl. voltage gated calcium channel
AR	Androgenní receptor
TAC	Antioxidační kapacity, z angl. total antioxidant capacity

## Obsah

1 Úvod .....	7
1.1 Perfluorované látky .....	7
1.1.1 Chemické vlastnosti.....	7
1.2 Historie a použití perfluorovaných látek .....	8
1.3 Výroba perfluorovaných látek .....	9
2 Perfluorované látky v životním prostředí.....	9
2.1 Vstup do životního prostředí.....	9
2.2 Vstup do organismů.....	10
2.3 Naměřené koncentrace v životním prostředí.....	10
2.3.1 Přítomnost perfluorovaných látek v mléku .....	13
2.4 Biologický poločas .....	13
2.5 Biomagnifikace .....	13
2.6 Odstranění z vody .....	14
3 Ekotoxicita .....	14
3.1 Fytotoxicita .....	14
3.2 Toxicita vůči vodním společenstvům .....	16
3.3 Toxicita vůči suchozemským živočichům .....	17
4 Orgánová toxicita .....	17
4.1 Distribuce ve tkáních .....	17
4.2 Somatické ukazatele .....	18
4.3 Nefrotoxicita .....	18
4.4 Hepatotoxicita .....	19
4.4.1 Steatóza .....	19
4.5 Neurotoxicita .....	20
4.6 Reprodukční toxicita .....	21
4.6.1 Vývojová toxicita .....	21
4.7 Karcinogenita .....	22
5 Hormonální dysfunkce .....	22
6 Buněčná toxicita .....	24
6.1 Toxicita dle délky řetězce .....	24
6.2 Apoptóza .....	24
6.2.1 Účinky na mitochondriální membránu .....	25
6.2.2 Poškození DNA .....	25
6.2.3 Generace ROS .....	27
6.2.4 Působení na antioxidační kapacity .....	28
6.3 Aktivace PPAR .....	29
6.3.1. Mechanismus vzniku nádorů přes PPAR $\alpha$ .....	30
7 Závěr .....	30
8 Seznam použité literatury .....	33

## 1 Úvod

V uplynulých letech se zvyšuje zájem o problematiku perfluorovaných látek. Jde o uhlovodíky, které mají vodíky substituované fluorem. Tato vazba perfluorovaným látkám dodává vysokou stabilitu, což se pojí s nízkou mírou degradovatelnosti v přírodě. Proto byly některé perfluorované látky zařazeny mezi takzvané perzistentní organické polutanty (POPs, z angl. Persistent organic pollutants). Jedním z hlavních celosvětově sledovaných představitelů perfluorovaných látek (PFC, z angl. perfluorinated compounds) jsou perfluoroktanolsulfonová kyselina (PFOS) a kyselina perfluoroktanová (PFOA), kterým v této práci bude věnována největší pozornost. Jsou to látky, vznikající lidskou činností a v přírodě samovolně nevznikají. Zájem o tyto látky vzbuzuje především jejich celosvětová přítomnost ve vodách, půdách a organismech po celém světě. Nebezpečí tkví nejen v jejich bioakumulativních vlastnostech, ale zároveň v jejich toxické povaze. Jsou totiž například hepatotoxické, nefrotoxické, neurotoxické, karcinogenní a cytotoxické. Zároveň mohou negativně působit i na populace vodních organismů jako jsou například vířníci, hrotnatky a podobně. Tato práce se bude věnovat projevům expozice PFC na široké spektrum organismů včetně rostlin. Shrne doposud známé poznatky o mechanismu toxicity a kriticky zhodnotí možné environmentální dopady z již existujících dat.

### 1.1 Perfluorované látky

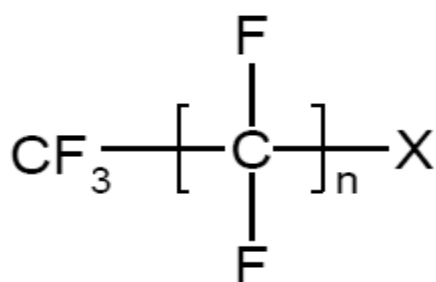
Mezi nejvýznamnější PFC patří deriváty perfluoroalkanů (PFAS), perfluoroktansulfonamidy (FOSA), perfluoralkylolové kyseliny (PFAA) a fluorované telomerní alkoholy (FTOH). V této práci bude věnována největší pozornost perfluoroktansulfonátu (PFOS) a kyselině perfluoroktanové (PFOA). Tyto látky se využívají v průmyslu při povrchové úpravě, zajišťující odolnost vůči znečištění či vodě u kobereců, kůže, textilu a obalů. Jedna z nejméně studovaných perfluorovaných látek je PFOA. PFOA se dlouhodobě využívala při výrobě kuchyňských potřeb. PFOS se používal také jako náplň do hasicích pěn sloužících na uhašení požáru hořlavých látek. Jedná se o látky inertní, tepelně stabilní, oleofobní a hydrofobní. PFC mohou být odolné vůči procesům jako je fotolýza, hydrolýza nebo biologickému rozkladu. Kvůli těmto vlastnostem jsou zařazeny mezi POPs. Na rozdíl od většiny POPs se neakumulují v lipidech, ale vážou se na proteiny (Conder a kol., 2008). PFC jsou hojně detekovány například v jaterní a ledvinové tkáni (Shankar a kol. 2011; Cui a kol., 2015)

#### 1.1.1 Chemické vlastnosti

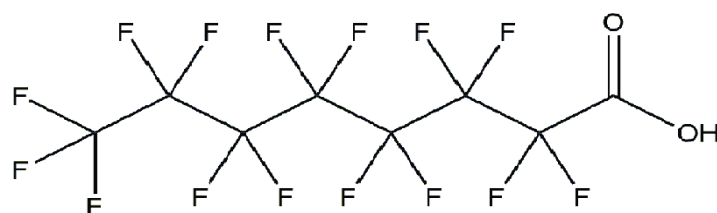
Hlavní výhodou PFC pro průmyslové využití je jejich extrémní stabilita. Ta je dána vazbou C-F, která je jedna z nejsilnějších vazeb v přírodě a tím pádem je i velmi obtížně vazbu biologicky či chemicky přerušit. Fluor má nejvyšší elektronegativitu ze všech halogenů a tvoří velmi pevné vazby s uhlíkem. Vysoká elektronegativita způsobuje posunutí vazebných elektronů směrem k fluoru, který tím získává

částečný záporný náboj a atom uhlíku částečně kladný náboj, a vazba je tedy polarizovaná. Díky mezimolekulovým interakcím mají perfluorované látky vysoký bod varu. Se zvyšující se délkou řetězce bod varu klesá. Jejich rozpustnost určuje přítomnost funkčních skupin a délka řetězce a obecně jsou pokládány málo rozpustné ve vodě i v rozpouštědlech.

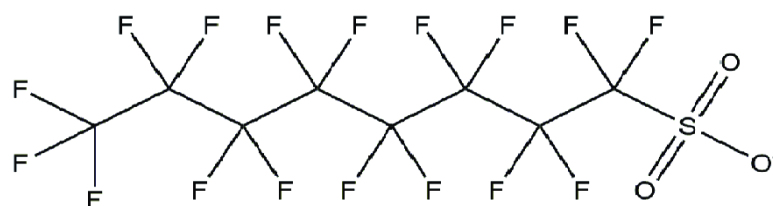
Perfluorované sloučeniny jsou látky, které snižují povrchové napětí roztoků. Jsou hydrofobní a oleofobní (O'Hagan a kol., 2008).



Obrázek č. 1: Obecný vzorec perfluorovaných sloučenin



Kyselina perfluoroktanová (PFOA)



Perfluoroktansulfonová kyselina (PFOS)

Obrázek č. 2: Strukturální vzorce PFOS a PFOA (upraveno dle Post a kol., 2017)

## 1.2 Historie perfluorovaných látek

Historie perfluorovaných sloučenin sahá do poloviny minulého století. Jedni z neznámějších výrobců perfluorovaných sloučenin jsou americké firmy 3M a DuPont (Olsen a kol., 2004). DuPont je chemická firma, která se zabývala výrobou fluoropolymerů v Parkersburgu v Ohio. Při výrobě kontaminovala okolní prostředí. V návaznosti na podezření na nebezpečnost těchto látek vznikl panel



C8, který měl za úkol prokázat, zdali existují možné zdravotní následky expozice PFOA a zároveň posléze sloužil jako opěrný bod pro vyhodnocení přípustné míry znečištění vod (Panel C8, 2020). EPA (Environmental Protection Agency) v roce 2016 stanovila limit množství PFOA a PFOS ve zdrojích pitné vody na 70 ppt (EPA, 2016). V České republice je v nynější době určena celoroční průměrná norma enviromentální kvality pro povrchové vody nařízením vlády 401/2015 na koncentraci 36 µg/l PFOS (Nařízení vlády 401/2015). Dále jsou stanoveny tolerované denní limity příjmu PFOA v potravinách na 6 ng/kg těl. hmotnosti/den a PFOS na 13 ng/kg těl. hmotnosti/den a jsou dány Evropským úřadem pro kontrolu potravin (EFSA). V současné době se projevují snahy jak ze stran státních orgánů, tak výrobců o využití jiných alternativních látek místo PFOA.

### **1.3 Výroba perfluorovaných látek**

Existují dva využívané způsoby nahrazení vodíku fluorem. Prvním je elektrochemická fluorizace (ECF) při které se pomocí elektrického proudu fluoruje daný uhlovodík za vzniku sekundárních PFC. Při ECF vzniká směs lineárních i rozvětvených PFC. Dalším procesem výroby je telomerizace, kdy je využívána reakce tetrafluoroethylenu s perfluoroalkyljodidy. Při telomerizaci vznikají pouze lineární řetězce s obecně vyšší čistotou. Další z možností výroby PFC je oligomerace, tedy aniontová polymerace tetrafluoroethylenu. Tato metoda však není běžně používána (Lehmler a kol., 2015).

## **2 Perfluorované látky v životním prostředí**

### **2.1 Vstup perfluorovaných látek do životního prostředí**

Perfluorované látky jsou člověkem vyrobené látky a v životním prostředí samovolně nevznikají. Nejkontaminovanější jsou průmyslové odpadní vody a to především například v okolí fluoropolymerových výroben. Kvůli obtížnému odstranění fluorovaných látek z vody, se dostávají do vodního oběhu a posléze se akumulují v organismech a sedimentech (Pan a kol., 2010). Vzhledem k jejich inertní povaze a rekalcitrancy tyto látky velmi dlouho přetrvávají v životním prostředí. Vypouštěním perfluorovaných látek do průmyslových vod tak dochází k jejich přesunu do oceánů a dostávají se do hydrologického cyklu. Dalším důležitým zdrojem konkrétně PFOS a PFOA jsou hasicí pěny (AFFF z angl. aqueous film forming foam) a pesticidy. Další zdroj je vypouštění PFC do vzduchu (Fraser a kol., 2012).

Giesy a Kannan (2001) jako první hlásili přítomnost PFOA v živočišných vzorcích. Od té doby vyšla spousta studií dokumentujících přítomnost některých PFC nejen v živočišné říši, ale i ve vzorcích lidských tkání a krve. PFOS, PFOA a jejich soli jsou zařazeny Stockholmskou úmlouvou mezi perzistentní organické polutanty (POPs). V Evropské Unii je je PFOS regulováno pomocí směrnice REACH. Přesto, že byla výroba zastavena již před relativně dlouhou dobou, perfluorované látky jsou stále přítomny ve vodě a

organismech včetně lidské populace. Příčinou je jejich dlouhý čas eliminace z organismu. Wang a kol. (2014) uvádí jako další možný důvod vysokých koncentrací přesunutí části výroby z Ameriky a Evropy do Číny.

## **2.2 Vstup perfluorovaných látek do organismů**

Ghisi a kol. (2018) uvádí jako největší zdroj expozice člověka PFAS pitnou a užitkovou vodu. Perfluorované látky se dostávají do vod, kde mohou ovlivňovat vodní organismy (Zhang a kol., 2014). Zároveň se s kontaminovanými vodami pojí riziko kumulace v rostlinách, které rostou v půdě s vyšší koncentrací těchto látek. To může ohrozit nejen rostliny, ale i jejich konzumenty. Například dobytek krmený hospodářskými plodinami, vystavenými perfluorovaným látkám, měl vyšší riziko úmrtnosti potomků (Kowalczyk a kol., 2013).

Dalším z možných zdrojů je inhalační cesta. Například Torre a kol. (2019) zaznamenali vysoké množství perfluorovaných látek v prachu. Tyto koncentrace byly opět vyšší v průmyslových oblastech. Tento způsob expozice PFC se ovšem nepovažuje za environmentálně signifikantní, při porovnání s příjmem z kontaminované vody a nebude tak předmětem této práce (Zhou a kol., 2007).

## **2.3 Naměřené hodnoty v životním prostředí**

PFC byly detekovány ve vzorcích vody, půdy, sedimentů a zvířat po celém světě (Tab. 1; Tab. 2). Nejvyšší koncentrace jsou naměřené v okolí měst a průmyslových zón, kam se dostávají s průmyslovým odpadem. Tyto látky jsou dále přenášeny od zdrojových míst vodními proudy až do oceánů (Gewurtz a kol., 2013). Například ve vodách východního Pacifiku byly naměřeny koncentrace 1,1-20 pg/l , v severním Atlantickém oceánu 8,6-36 pg/l a ve střední části Atlantického oceánu byly naměřeny hodnoty až 37-73 pg/l (Yamashita a kol., 2005). Zároveň by bylo vhodné podotknout, že koncentrace kontaminantů v biotě stoupá s postavením v potravním řetězci, tedy organismy na vyšší trofické úrovni mají vyšší koncentraci v séru a orgánech díky konzumaci nižších živočichů. Tento jev se nazývá biomagnifikace a bude probírán v samostatné kapitole 2.5 (Tomy a kol., 2009).

Tabulka č. 1: Koncentrace PFOS a PFOA ve vodách

Místo	Rok testování	Vzorek	PFOS (ng/l)	PFOA (ng/l)	
Čína	2002-2005	Jezera	0,4 (medián)	0,1 (medián)	Jin a kol., 2009
Čína	2002-2005	Řeky a podzemní vody	4,0 (medián)	3,9 (medián)	Jin a kol., 2009
Brazílie		Pitná voda	0,58-6,7	0,81-2,8	Quinete a kol., (2009)
Pacifik (východní)	2001	Oceán, povrch	0,001-0,02	0,015-0,062	Yamashita a kol., (2005)
Západní pacifik	2000	Oceán, povrch	0,054-0,078	0,001-0,013 Medián 4,3	Yamashita a kol., (2005)
Východní pacifik (4000- 4400m)	2004	Oceán 4000- 4400 m	0,0032	0,0004- 0,0006	Yamashita a kol., (2005)
Severní Atlantik	2002-2004	Oceán	0,0086-0,036	0,0041- 0,0061	Yamashita a kol., (2005)

Tabulka č. 2: Koncentrace PFOS ve vodních organismech (Giesy a kol., 2001). Uvedené hodnoty jsou v ng/g čerstvé hmotnosti pro játra a svalovou tkáň, koncentrace v plazmě je uváděna v ng/ml

Druh	Místo	Vzorek	Počet vzorků	PFOS ng/g ; ng/ml
Tuleň kroužkovaný	Baltské moře	plasma	18	5-14
Vydra mořská	USA, Pobřeží Kalifornie	játra	3	35-57
Delfínovec ganžský	Indie, řeka Ganga	játra	2	35-81
Kormorán	Itálie	játra	12	33-470
Racek stříbřitý	Huronské jezero	plasma	2	280-450
Tuňák obecný	Středozevní moře	játra	8	21-87
Pstruh obecný	USA, Michigan	sval	10	6-46

Tabulka č. 3: Naměřené koncentrace v řekách v jednotlivých zemích světa (Kunachewa a kol., 2012)

PFOS		PFOA	
Země	Průměrná koncentrace (ng/l)	Země	Průměrná koncentrace (ng/l)
Anglie	14,4	Japonsko	30,7
Singapur	5,5	Anglie	10,6
Tchaj-wan	3,5	Šrí Lanka	10,5
Japonsko	3,2	Čína	7,4
Nepál	2,6	Turecko	5,7
Čína	1,7	Singapur	5,6
Malajsie	1,5	Malajsie	4,8
Švédsko	1,2	Laos	3,8
Turecko	1,0	Thajsko	2,3
Thajsko	0,8	Irsko	1,2
Medián	2,15	Medián	5,65

Tabulka č. 4: Přehled koncentrací, které ve studiích vyvolaly negativní odpověď organismů

	Doba	Látka	Expozice	Symptom	Zdroj
Myši	21 dní	PFOA	47,21 mg/den	Snížení váhy, snížený příjem potravy a vody	Son H. a kol., 2007
	28 dní	PFOS, PFOA	5 mg/den	Změna chování a návyků. Kachexie a letargie	Lin Cui a kol., 2008
	28 dní	PFOS, PFOA	20 mg/den	Patologické změny	Lin Cui a kol., 2008
	21 dní	PFOS, PFOA	17,63 mg/den	Zvýšení hmotnosti jater	Son H. a kol., 2007
<i>D. rerio</i>	150 dní	PFOS	250 mg/l	Poškození spermatogónií	Chen a kol., 2016
	120 dní	PFOS	0,25 mg/l	Změna struktury folikulárních buněk a snížení T4	Chen a kol., 2018
Vířníci		PFOS, PFOA	1 µg/l	Snížení rychlosti líhnutí vajíček	Zhang a kol., 2014

Při porovnání tabulky č. 3 a tabulky č. 4 je evidentní, že testované koncentrace jsou mnohonásobně vyšší, nežli v životním prostředí.

### 2.3.1 Přítomnost perfluorovaných látek v mléku

PFC mohou ovlivňovat potomky i skrze mateřské mléko. Krávy byly v průběhu laktační fáze exponovány 2,2-5,3 µg/kg/den PFBS, PFOA, PFOS a PFHxS. V mléku byly ve velkém množství detekovány pouze PFOS a PFHxS, na rozdíl od PFBS a PFOA, které detekovány nebyly (Kowalczyk a kol., 2013). Obdobné výsledky byly publikovány i v epidemiologické studii u lidí, kdy hladiny PFOS a PFHxS byly detekovány v mléku všech studovaných švédských žen o průměrných koncentracích 0,201 ng/ml PFOS a 0,085 ng/ml PFHxS. PFOSA, PFOA a PFNA nebylo detekováno u všech testovaných žen (Kärrman a kol., 2007). Zatím neexistuje dostatek podkladů pro správnou evaluaci rizik spojených s kojením, ovšem vzhledem k bioakumulativní povaze těchto látek by bylo vhodné věnovat pozornost i této formě intoxikace.

### 2.4 Biologický poločas perfluorovaných látek

Jak již bylo zmíněno, perfluorované látky jsou vysoce bioakumulativní. Mají tedy schopnost přetrvávat v organismu dlouho potom, co do něj vstoupí. Například agentura pro toxické látky a registr nemocí (ATSRD) uvedla průměrný poločas eliminace PFOA a PFOS z lidského organismu čtyři roky (ATSRD; 2015), zatímco toxikologická studie vládní agentury Public Health England uvádí 8,7 let pro PFOS a 3,8-4,4 let pro PFOA. Studie 26 zaměstnanců fluorochemické společnosti uvedla poločas eliminace PFOS 4,8 let, pro PFHS 7,3 let a pro PFOA 3,5 roku. Eliminace také záleží na délce uhlíkového řetězce. Kratší řetězce se eliminují rychleji, než delší (Kataria a kol., 2015).

### 2.5 Biomagnifikace

Bioakumulace je hromadění určité chemické látky v organismu. Každá látka má jinou schopnost bioakumulace dle její povahy. V ekosystémech je regulován tok živin směrem k predátorům, takzvaná biomagnifikace. Tedy koncentrace bioakumulovaných látek je v predátorech až několikanásobně vyšší než v jejich kořisti. Tento jev se netýká pouze živin, ale také enviromentálních polutantů. Pro interpretaci biomagnifikace se využívá biomagnifikační faktor BMF, který udává podíl koncentrací dané látky v predátorovi ku kořisti. Dále se využívá faktor TMF (throphic magnification factor), který vyjadřuje stoupající koncentraci v rámci potravního řetězce. Látky s TMF přesahujícím hodnotu 1 jsou považovány za látky, které se biomagnifikují.

Perfluorované látky zůstávají dlouho v organismech i rostlinách a tak se zvyšuje i schopnost jejich biomagnifikace. Studie ukazují, že k biomagnifikaci dochází u ptáků, savců a mořských živočichů. Například biomagnifikační faktor PFOS studovaný na populaci zooplaktonu v Číně byl roven 9. Tommy a kol. (2009) uvádí TMF vzorků jater a celého těla mořských savců přesahující 1 pro řetězce s 8-11 uhlíky. Zároveň se ukazuje, že bioakumulace se liší u různých izomerů PFC (Houde a kol., 2008). Bylo zjištěno, že

skupiny perfluoralkylsulfonových kyselin (PFSA) se bioakumulují více, než perfluorkarboxylové kyseliny (PFCA) o stejné délce uhlíkového řetězce (Conder a kol., 2008). Všeobecně je jako nejvíce bioakumulativní považována PFOS.

Biomagnifikace může být ovlivněna řadou aspektů jako je místo, množství polutantů, trofický status atd. Například i salinita vody může ovlivnit příjem a exkreci PFC z organismů a také vlastnosti těchto látek jako takových. Zvýšením příjmu a snížením exkrece PFC u ústřic vedlo k vyšší bioakumulaci. Všeobecně jsou pozorovány vyšší hodnoty biomagnifikačního faktoru u organismů na vyšší trofické úrovni. Proto jsou u některých savců naměřené vyšší hladiny kontaminantů. Zároveň je nutné při hodnocení dat BMF přihlídnout k velikosti, životnímu cyklu, metabolické aktivitě a kondici jedince. Osud PFC v organismu se mírně liší při různém pohlaví. Koncentrace v krevním séru odlišných pohlaví se liší a zároveň je rozdílná biotransformace a eliminace u samců a samic potkanů (Kim a kol., 2016).

## **2.6 Odstranění perfluorovaných látek z vody**

PFC jsou velmi perzistentní. PFAS se nedají odstranit z vody běžnými opatřeními jako je chlorace, UV a ozonace. Není možné je odstranit ani oxidací, ačkoliv některé druhy PFC jako je FTOH je možné částečně oxidovat. Oxidace může vést ke vzniku perfluorovaných kyselin (Ellis a kol., 2004). Obdobným procesem se tomu děje metabolickým procesem v organismech. Některé studie informují o možném metabolismu PFC pomocí mikrobiálních organismů v čistírnách odpadních vod. Jinými slovy byly naměřeny vyšší výstupní koncentrace v čistírenském kalu, nežli vstupní koncentrace PFOS a PFOA. Pro efektivní odstranění PFC z vody je možné použít techniku sorpce na GAC (granulované aktivované uhlí). Tato metoda je ovšem uplatnitelná pouze pro perfluorované uhlovodíky s delším řetězcem, které se snadněji uchyť v sorbentu. Pro látky s krátkým řetězcem jako je PFBA a PFBS může být proces neefektivní. Dalším možným způsobem odstranění PFC je reverzní osmóza nebo nanofiltrační membrány, ovšem vzhledem k menší molekulové hmotnosti látek jako je PFBA a PFOA může být tento postup také nevhodný (Rahman a kol., 2013).

## **3 Ekotoxicita**

### **3.1 Fytotoxicita**

Perfluorované látky se akumulují v rostlinách. To přináší potenciální riziko nejen pro rostliny jako takové, ale i pro jejich konzumenty. Do rostlin se perfluorované látky dostávají absorpcí přes kořenový systém. Mechanismus absorpce je dle Wen a kol. (2013) zprostředkován jak pasivní formou pomocí difúze, tak také příjmem zprostředkovaným pomocí transportérů. Navrhují, že absorpce PFOA je řízena energeticky závislými procesy a absorpce PFOS je řízena usnadněnou difúzí. Zároveň PFOS vstupuje do buňky přes aquaporiny. Yang a kol. (2015) zjistili, že se PFOS absorbované přes kořeny ukládá

přednostně do prýtu bez zjevné degradace či transformace. Při porovnání s anorganickým fluorem, se PFOA lépe transportuje rostlinou. Zároveň je lépe vstřebáváno přes kořeny, než F<sup>-</sup>.

Akumulace PFAS závisí na obsahu proteinů v rostlině, protože se přednostně váží na proteiny, nikoli lipidy (Wen a kol., 2016). Některé studie ukazují, že na rozdíl od živočichů se v rostlinách akumuluje více PFOA, než PFOS. Například Lechner a Knapp (2011) uvádí, že mrkve a brambory mají mnohokrát vyšší obsah PFOA, než PFOS. Studie na *Juncus effusus* prokázala nejvyšší akumulaci PFAA (perfluoralkylových kyselin) s delším řetězcem ( $\geq C8$ ) v kořenech. PFAA s 8 a více uhlíky v řetězci se po akumulaci v kořenech jen velmi málo transportovaly do ostatních částí rostliny. Naopak PFAA s kratším řetězcem se více akumulovaly v prýtu (Zhang a kol., 2019). Expozice PFOS i PFOA inhibují růst kořenů i nadzemních částí *Zea mays*. Studie *Brassica chinesis* prokázala, že PFOS i PFOA inhibují pouze růst kořene, což souhlasí i se studií týkající se *J. effusus*, při které byl pozastaven pouze růst kořene, ale růst nadzemní části rostliny pozastaven nebyl (Zhao a kol., 2011; Zhang a kol., 2019). NOEC (No observed effect concentration) byl stanoven na hodnotu 20-200 mg/kg u *B. chinesis* (Zhao a kol., 2011). Bylo zjištěno, že toxicita závisí na typu půdy. V půdách s malým množstvím organické hmoty a s nízkou kationtově výměnnou kapacitou byla zaznamenána vyšší toxicita PFOS a PFOA a projevem byla inhibice růstu kořene. Jako správné se jeví, že sorpce PFOS a PFOA na půdní pevnou fázi je klíčovým faktorem pro určení toxicity a míry vlivu na inhibici růstu kořene. Naopak při nízkých nábdbávkách byla pozorována hormerze, tedy příznivé působení mírných zátěžových faktorů. Bylo navrženo, že tento jev je způsoben tím, že PFOA a PFOS jakožto surfaktanty usnadňují příjem živin z půdy, při malých dávkách. Na rozdíl od množství organické hmoty se zdá, že jiné vlastnosti, jako je například pH a obsah jílu na toxicitu perfluorovaných látek nemají vliv (Zhao a kol., 2011). Existují pouze velmi limitované důkazy o metabolismu některých PFC. Například Wang a kol. (2009) a Nabb a kol. (2007) navrhují možnou transformaci nefluorované skupiny.

PFOS způsobuje dvojnásobné navýšení hladiny peroxidu vodíku v prýtu *Arabidopsis thaliana*. Výskyt peroxidu vodíku dokazuje přítomnost oxidačního stresu, což ukazuje i prudký vzestup MDA (malondialdehydu), markeru oxidačního stresu. Naopak v kořenech nebyl zaznamenán nárůst koncentrace peroxidu vodíku (Yang a kol., 2015). Stejně hodnoty jsou podpořeny studií toxicity PFC na *J. effusus*, kdy PFAA prokazatelně interagovaly s antioxidantním systémem v prýtu i kořenech. Stejně jako u obratlovců a bezobratlých, vznik přebytku reaktivních forem kyslíku (ROS, z angl. reactive oxygen species) může mít fatální následky na stav rostliny. Přesto, že jsou ROS nezbytné pro metabolismus rostliny, například jako sekundární přenašeči signálu v buněčných procesech, mohou při vyšších koncentracích vést k oxidativnímu poškození a buněčné smrti. Rostlina disponuje mechanismy, kterými se aktivně brání proti oxidačnímu poškození. Expozice PFAAs ovlivňuje antioxidantní enzymy jako je superoxid dismutáza (SOD, z angl. superoxide dismutase) a kataláza (CAT, z angl. catalase). Aktivita CAT

byla zvýšena v prýtu, ale v kořenech byla snížena. Bylo zjištěno, že aktivita CAT a SOD se zvyšuje při nižších expozicích (10 mg/L PFOS), ale je zcela inhibována při 200 mg/L (Zhou a kol., 2016).

### 3.2 Toxicita vůči vodním společenstvům

PFOS a PFOA ve vodách nejsou zcela transformovány a transportují se v rozpuštěné formě na dlouhé vzdálenosti. PFOA se převážně váže na organickou hmotu a Perfluoroktansulfonamid (PFOSA) a PFOS se sorbují pouze na sediment. Méně se váží na písčité sediment s nízkým obsahem organického uhlíku a dominantně se váží na bahnité sedimenty s vysokým obsahem uhlíku. Při distribuci PFC na rozhraní voda-sediment hraje roli koncentrace kovových aniontů, pH, teplota a salinita. Sorpce PFOS stoupla při vyšších koncentracích  $\text{CaCl}_2$ . Ve sladkých vodách je PFOS převážně rozpuštěný, ale ve slaných vodách má tendenci se mnohokrát více sorbovat na sediment. Je důležité poznamenat, že PFC asociované s vodními sedimenty mají vysokou biologickou dostupnost a mohou se tak akumulovat ve vodních živočiších (Pan a kol., 2010).

Koncentrace perfluorovaných sloučenin byly naměřeny ve vodách po celém světě (Tab. č. 1; 3). Vzhledem k jejich toxicitě mohou působit na vodní organismy a narušovat tak celé ekosystémy. Jedním z prvních opěrných bodů vodních ekosystémů je takzvaná mikrobiální smyčka. Na rozdíl od klasického potravního řetězce začíná na rozpuštěných či partikulovaných částicích. Narušení mikrobiální smyčky může mít fatální následky, protože funguje jako recyklační aparát vodního společenstva a vrací tak látky do oběhu a udržuje stálý tok živin (Li a kol., 2014).

Přesto, že existují pouze limitovaná data o toxicitě vůči vodním mikroorganismům, je prokázáno, že tyto látky ohrožují celé jejich populace. PFOS i PFOA způsobují vznik ROS a následné poškození DNA trepky velké z kmene nálevníků, signifikantní části mikrobiální smyčky (Kawamoto a kol., 2010). Zároveň u trepky způsobuje influx  $\text{Ca}^{2+}$  iontů přes kalciové kanály (VGCC z angl. voltage gated calcium channel), což způsobuje vyšší koncentrace vápennatých iontů v trepce. Také koncentrace 15  $\mu\text{M}$  a vyšší způsobuje změnu směru pohybu trepky (Kawamoto a kol., 2007). Byla prokázána úmrtnost bičíkovců při expozici PFOS i PFOA (Mhadhbi a kol., 2012). Nálevníci a bičíkovci jsou včetně bakterií hlavní část mikrobiální smyčky a narušení těchto společenstev může mít fatální následky pro udržení správného toku živin ve vodách. Pro popsání celé mikrobiální smyčky by bylo vhodné zahrnout i bakterie. Poslední data ukazují schopnost některých bakterií degradovat velmi pevnou vazbu C-F. Těmito bakteriemi je například *Acidimicrobium bacterium A6*, které při testech odstranilo až 60% PFAS během 100 dní (Huang a kol., 2019). Je zvažováno možné využití bakterií pro ostraňování PFC z vod a je za potřebí dalších studií. Zatím neexistují data o schopnosti biodegradace PFC pomocí jiných, běžně ve vodách žijících bakteriích.

PFOS a PFOA mají i na vířníky značný vliv, protože snižují početnost celé jejich populace (Zhang a kol., 2014, Zhang a kol., 2013). Studie ryb *Coregonus lavaretus* a *Perca fluviatilis* z italského jezera



Maggiore uvádí koncentraci ve tkáních  $46,0 \text{ ng.g}^{-1}$  (Squadrone a kol., 2014). U vybraných vodních organismů byla určena akutní  $EC_{50}$  PFOS při 24 hodinové expozici byla rovna  $0,11 \text{ mg L}^{-1}$  pro *Psetta maxima*,  $6,9 \text{ mg L}^{-1}$  pro *Siriella armata*,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  pro *Paracentrotus lividus* and  $37.5 \text{ mg L}^{-1}$  pro *Isochrysis galbana* a pro PFOA  $11,9 \text{ mg L}^{-1}$  pro *P. maxima*,  $15,4 \text{ mg L}^{-1}$  pro *S. armata*,  $110 \text{ mg L}^{-1}$  pro *P. lividus* and  $163,6 \text{ mg L}^{-1}$  pro *I. galbana*. Z těchto dat je patrné, že PFOS je toxičtější, než PFOA a že každý organismus vykazuje jinou míru citlivosti. Tento jev může být způsoben odlišnou citlivostí vůči environmentálním polutantům (Mhadhbi a kol., 2012). Studie používající ryby *Danio rerio* ukázala, že působí hepatotoxicky a způsobují dědičné vady (Du a kol., 2008). Výše uvedené informace dokazují negativní vliv PFC na široké spektrum vodních organismů.

### 3.3 Toxicita vůči suchozemským živočichům

Většina existujících studií se suchozemskými organismy byla provedena na savcích jako jsou opice, myši, krysy nebo krávy ale jen velmi malé množství studií bylo provedeno například na prvoústých organismech, jako jsou například hlístice. I při velmi nízkých koncentracích ovlivňuje PFOA i PFOS reprodukční schopnosti *Caenorhabditis elegans* a snižuje tak celkovou biomasu háďátek. Hlístice hrají důležitou roli pro určování environmentálních toxikologických aspektů (Tominaga a kol., 2004). PFOS je velmi toxické i pro *Drosophila hydei* již při dávce  $50 \text{ ng/ml}$ . Při expozici byla také radikálně snížena početnost potomků *D. hydei*. Tato studie naznačuje, že *D. hydei* je citlivější na expozici, než jiní suchozemští bezobratlí jako je například včela medonosná, nebo žížala hnojní (Gossum a kol., 2010).

Souhrně se dá říci, že toxicita byla jednoznačně prokázána u drtivé většiny studovaných organismů. U savců se perfluorované látky projeví jako hepatotoxické, nefrotoxické, neurotoxické a účinkující na vývoj organismů. Projeví se i jako nebezpečné pro plod a jejich toxicita byla prokázána již na buněčné úrovni (Watkins a kol. 2013; Cui a kol., 2008; Johannson a kol., 2008; Zhang a kol., 2014). Savci tyto látky přijímají buď pitným režimem, nebo jako součást potravy. Podrobný popis toxicit bude probírán v samostatných kapitolách.

## 4 Orgánová toxicita

### 4.1 Distribuce ve tkáních

Již mnoho studií prokázalo, že PFAA mají vysoký potenciál k akumulaci v játrech, ledvinách, plicích, mozku a kostech (Kataria a kol., 2015). Nejčastěji postiženým orgánem při expozici PFAS jsou játra. Je nutné podotknout, že játra nejsou jediným orgánem, ve kterém byly detekovány vysoké koncentrace PFC. Distribuce v organismu se pravděpodobně odvíjí od délky uhlíkového řetězce. V mozku, kde je

nejvíce fosfolipidů se převážně nacházejí delší řetězce (C12-14) jako PFDS, PFTrA a PFTA. Středně dlouhé řetězce C8-C12 jako jsou PFOS, FOSA a PFCA se vyskytují nejvíce v játrech. Méně časté PFHxA se nachází pouze v játrech, což může být způsobeno afinitou na specifické jaterní proteiny, jako jsou jaterní receptory mastných kyselin. PFAS zároveň mohou být přenášeny organickými anionovými přenašeči (OAT, z angl. organic anion transporter) a organickými anion-transportními polypeptidy (Dassuncao a kol., 2019).

## 4.2 Somatické ukazatele toxicity

Již při nízkých dávkách PFOS i PFOA byla v několika studiích zaznamenána porucha příjmu potravy a úbytek váhy. Myši exponované PFOA po dobu 21 dní vykazovaly značný rozdíl v příjmu potravy. Ve skupině s dávkou 47,21 mg/kg/den se denní konzumace potravy snížila o 25% a pitný režim se snížil o 55% oproti kontrolnímu vzorku. Zároveň byla zaznamenána redukce přírůstku váhy oproti kontrolnímu vzorku o 26 % (Son a kol., 2007). Při 28 denní expozici PFOA a PFOS se již od 5 mg/kg/den projevovala kachexie a letargie. Již při této dávce PFOS či PFOA byla pozorovaná snížená aktivita a snížený příjem potravy. Patologické změny nastaly až od dávky 20 mg/kg/den u PFOS i PFOA. (Cui a kol., 2008). Du a kol. (2008) zaznamenali zkrácení těla a snížení váhy samců i samic *D. rerio* při aplikaci 50 µg/l.

Vyšší plazmatické koncentrace PFAS, hlavně PFOS a u kyseliny perfluorononanové (PFNA) u testovaných žen a mužů, mohou interferovat s regulací tělesné hmotnosti. U žen je efekt vyšší. Děje se tomu kvůli pomalejšímu návratu bazálního metabolického výdeje (RMR, z angl. resting metabolic rate). Studie ukazují, že existuje signifikantní spojitost mezi znovuzískáním tělesné hmotnosti u populace žen. PFC proto mohou mít spojitost s obezitou (Liu a kol., 2018).

## 4.3 Nefrotoxicita

Zvýšené sérové koncentrace PFOA jsou spojovány s vyšší sérovou hladinou kyseliny močové. Studie NHANES 1999-2000 a 2003-2008 uvádí, že jsou hladiny PFOS a PFOA v krevním séru přímo spojovány s vyšším výskytem hyperurikémie u zaměstnanců fluorochemických společností. Shankar a kol. (2011) uvádí, že zvýšené hladiny kyseliny močové v důsledku expozice PFOA vedly ke zvýšení výskytu onemocnění ledvin a to především snížením schopnosti glomerulární filtrace. Watkins a kol. (2013) uvedl, že zvýšení sérové koncentrace PFOS, PFNA a PFHxS vedou ke snížení glomerulární filtrace, ovšem PFOA nikoliv. Zvýšená koncentrace PFOA v séru může být naopak důsledkem snížené míry glomerulární filtrace. PFOS i PFOA mohou způsobovat chronická onemocnění ledvin i při relativně nízkých koncentracích. Snížení celkové filtrace perfluorovaných látek kvůli snížené míře glomerulární filtrace vede k vyšší koncentraci těchto molekul v krvi a to může mít za následek chronické onemocnění ledvin

(CKD, z angl. chronic kidney disease). Spojitost CKD a PFOS a PFOA není závislá na indexu tělesné hmotnosti (BMI, z angl. body mass index), výskytu diabetu, hypertenze a zvýšené hladiny cholesterolu v krevním séru (Shankar a kol., 2011).

Alternativy PFOA, jako je například PFO<sub>4</sub>DA, vedou také k poruše močovinového cyklu a tyto látky snižují při dávce 10 mg/kg/den obsah amoniaku v séru a hladiny enzymů, které souvisí s cyklem kyseliny močové (Guo a kol., 2019).

#### 4.4 Hepatotoxicita

Je známo, že PFOS i PFOA mají hepatotoxický účinek. Při denní expozici 50 a 250 mg/kg PFOA, což odpovídá 17,63 mg/kg/den a 47,21 mg/kg/den PFOA po dobu 21 dní se ve vztahu k dávce zvýšila hmotnost jater myši. Dále byly pozorovány změny v plasmatických jaterních aminotransferázách alaninaminotransferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST), což indikuje poškození jater (Son a kol., 2007). Pitevni rozbory krysích jater po 28 denní expozici PFOA ukázaly zvětšení jater a černé zbarvení při expozici 20 mg/kg/den (Cui a kol., 2008).

Bylo zjištěno, že PFOS se akumuluje daleko více než PFOA. Játra vystavena 20 mg/kg/den zčernala a objevily se na nich žluté skvrny. Úmrtnost krys byla zaznamenána v intervalu od 11. do 26. dne při dávce 20 mg/kg/den PFOS. Zároveň byla zaznamenána hypertrofie, akumulace tuků ve tkáni a zvětšení kapilár v játrech exponovaných krys (Cui a kol., 2008). Při koncentracích PFOS 250 µg/l byly játra samců *D. rerio* bledá a morfologicky poškozená. Bylo zaznamenáno zvětšení jaterních buněk důsledkem akumulace lipidů. U samic nebyla zaznamenána morfologická změna buněčné struktury (Du a kol., 2008). *In vitro* studie hepatotoxicity PFOS na lidských hepatocytech prokázala, že mohou tyto látky stimulovat buněčnou proliferaci při dávkách 50, 100, 150 a 200 µM, ale inhibují buněčnou viabilitu při dávkách 300, 400, 500 a 600 µM, přičemž 1 µM ≈ 0,5 mg/L (Cui a kol., 2015).

Vzhledem k omezení používání a výroby perfluorovaných chemikálií jako PFOS a PFOA a jejich solí evropskou směrnicí 2006/122/ES se začaly využívat alternativy. Kvůli vlastnostem vazby fluor-uhlík se využívají například FO<sub>2</sub>HxA, PFO<sub>3</sub>OA a PFO<sub>4</sub>DA. Samci myši byli vystaveni 0,4; 2 a 10 mg/kg/den všech výše zmíněných látek. PFO<sub>4</sub>DA při dávce 2 a 10 mg/kg/den způsobilo zvýšení hmotnosti jater, zatímco látky PFO<sub>2</sub>HxA a PFO<sub>3</sub>OA neprokázaly bioakumulaci v játrech či krevním séru. PFO<sub>4</sub>DA také vedlo k odlišné expresi 198 jaterních genů, z toho u 56 byla exprimace snižena a u 142 zvýšená. PFO<sub>4</sub>DA nejspíše působí hepatotoxicky, ovšem v daleko menší míře, než PFOA (Guo a kol., 2019)

##### 4.4.1 Steatóza

Steatóza vzniká při zvýšeném hromadění lipidů v buňkách při poruchách metabolismu lipidů. Vznik steatózy může mít za následek narušení funkce jater. Perfluorované látky jsou známé svým efektem na hladiny triglyceridů a cholesterolu (Kennedy a kol., 2004). Zároveň napodobují mastné

kyseliny a mohou tak interferovat s jejich metabolismem (Ren a kol., 2015). Studie prokázaly akumulaci lipidů u myší (Wan a kol. 2012, Das a kol., 2016). Das a kol. 2016 se domnívají, že steatóza je důsledkem narušení rovnováhy akumulace, syntézy a oxidace mastných kyselin (Angrish a kol., 2016). PFAA aktivují syntézu mastných kyselin a triglyceridů. Jedna z možných variant příčin zvýšených hladin mastných kyselin je inhibice  $\beta$ -oxidace. Při absenci správných kompenzačních mechanismů ( $\beta$ -oxidace či transport) mohou vést zvýšené hladiny mastných kyselin ke zvýšenému počtu lipidových váčků (Wan a kol., 2012) Zaznamenané zvýšené hodnoty genů *SREBP* (z angl. sterol regulated element binding protein) napovídají, že indukce syntézy mastných kyselin a triglyceridů mohla být indukována právě jejich činností. Aktivované byly 2 geny, *SREBP1* a *SREBP2*. *SREBP1* reguluje geny zapojené do lipogeneze, zatímco *SREBP2* kóduje stejnojmenný protein, který reguluje geny syntézy cholesterolu. PFOA a PFOS signifikantně zvýšily expresi genu *SREBP1*, zatímco *SREBP2* byl zvýšen pouze pomocí PFOA (Das a kol., 2016).

#### 4.5 Neurotoxicita

PFOS se akumulují v neuronech (Kawamoto a kol., 2008, Liu a kol., 2011). PFOS i PFOA mají schopnost přecházet mezi hematoencefalickou bariérou (Dassuncao a kol., 2019) a mohou vést k nevratným změnám v mozku dospělých myší. Projevují se zejména sníženou schopností pohybu v prostoru, učení a paměťovými defekty při dávce 21  $\mu\text{M}/\text{kg}$  PFOS. První příznaky se objevily již při dávce 1,4  $\mu\text{M}/\text{kg}$  ve formě špatné pohybové orientace (Johannson a kol., 2008). Existují informace o tom, že PFAS způsobují úbytek dopaminu u žab chovaných 30 dní v sedimentu s 1000 a 100 ppb PFOS a PFOA. Deplece dopaminu může vést k neurologickým poruchám. Ostatní neurotransmitery nebyly ovlivněny (Foguth a kol., 2019). Studie vodních savců prokázala, že hladiny PFAS a PFOS v mozku korelují se změnami neurotransmiterů (Dassuncao a kol., 2019). Expozice PFOS zároveň způsobila apoptózu buněk v hipokampu, a zároveň byla přítomností PFOS zvýšená hodnota proteinů ovlivňujících tento děj. Byla zvýšená hladina kaspázy-3 (proteázy uplatňující se při apoptóze) a snížená hladina Bcl-2 (proteiny, regulující permeabilitu buněčné membrány). Právě poškození buněk hipokampu může vést k poruše učení a paměti. Dále byly zaznamenané výrazně zvýšené hodnoty glutamátu v hipokampu (Long a kol., 2013). Glutamát je neurotransmitter, který je při vyšších koncentracích neurotoxický. Způsobuje narušení zejména mitochondrií a následnou buněčnou smrt (Atlante a kol., 2001). *In vitro* studie synaptických spojení prokázala zkrácení délky neuritů při expozici 50  $\mu\text{M}$  PFOS. Zkrácení bylo patrné o 8% i u 10  $\mu\text{M}$  roztoku PFOS. Zároveň léčba 50  $\mu\text{M}$  PFOS způsobila snížení shluku dendritů. Z dosavadních poznatků lze usuzovat, že PFOS mohou při vysokých dávkách způsobovat inhibici synaptogeneze (Liao a kol., 2008).

Mechanismus neurotoxicity PFOS či PFOA zatím není známý. Jedním z navrhovaných mechanismů je narušení homeostázy vápníku. Vápník hraje důležitou roli jako přenašeč signálu

v buňkách, reguluje excitabilitu neuronů, fosforylaci a zároveň hraje roli v procesech, jako je paměť (Gareri a kol., 1995). PFOA mohou indukovat zvýšení vápníku v neuronech a vznik reaktivních forem kyslíku (Liao a kol., 2008, Liu a kol., 2011). Studie neurotoxicity látek jako je například kadmium rovněž indukovalo zvýšení koncentrace vápníku a následnou apoptózu. Je tedy možné, že mechanismus těchto dvou látek je podobný a koncentrace vápníku hraje klíčovou roli při apoptóze (Liu a kol., 2011).

Vápník je uskladněn mimo jiné v mitochondriích, což je zároveň i hlavním zdrojem ROS v organismu. Koncentrace vápníku je regulována primárně dvěma receptory inositoltrifosfátovým receptorem (inositoltriphosphate receptor, IP<sub>3</sub>Rs) a ryanodinovým receptorem (RyRs), přičemž PFOS narušuje expresi IP<sub>3</sub>Rs. To naznačuje, že je tento receptor zapojen v mechanismu neurotoxicity PFOS (Wang a kol., 2010).

## 4.6 Reprodukční toxicita

Bylo zjištěno, že PFOS i PFOA mají negativní vliv na míru sexuální reprodukce vírníků, přičemž účinek PFOS má na populaci daleko výraznější vliv. PFOA vykazuje pouze malý efekt na míru reprodukce vírníků. Krátkodobá expozice PFOS vede ke snížení populace vírníku, naopak delší expozice vede k rapidnímu zvýšení populace. Důvodem může být trade-off strategie vírníků, při které kompenzují budoucí vymírání potomků. Zároveň vede expozice PFOS i PFOA k poklesu tvorby miktických (vznikajících v nepříznivém období) vajíček a ovlivňují rychlost líhnutí nových jedinců z těchto vajíček při koncentracích 1,0 mg/l (Zhang a kol., 2014).

PFOS také inhibovala produkci spermatu u ryb *D. rerio*. Při koncentracích 250 µg/L PFOS po dobu 150 dní byl zaznamenán výskyt více vyspělých oocytů a méně spermatogónií. (Chen a kol., 2016) Byl rovněž zaznamenán pokles spermatu myši při dávkách 10 mg/kg/den. Pokles produkce spermatu u myši může být způsoben sníženou proliferací a zároveň zvýšenou apoptózou buněk (Qu a kol., 2016).

Zároveň byl zaznamenán pokles hladin testosteronu. Ve varlatech byla pozorována zvýšená exprese genu *BAX*, kódujícího BAX protein, kaspázy-3 a kaspázy-9. Tyto dva enzymy jsou zapojeny do regulace apoptózy. Při dávkách 0,5 a 10 mg/kg/den bylo pozorováno zvýšení hladin estrogenových receptorů β a pouze při dávce 10 mg/kg/den se snížily hladiny estrogenových receptorů α (Qu a kol., 2016). PFOS zároveň způsobovalo strukturální změny v samčích i samičích gonádách při expozici 250 µg/L po dobu 150 dní (Chen a kol., 2016). Fei a kol., 2009 zaznamenal spojitost mezi vyšší hladinou PFOS v krvi a nepravidelným menstruačním cyklem i sníženou plodností.

### 4.6.1 Vývojová toxicita

Apelberg kol. (2007) zaznamenali PFOS a PFOA v lidské pupečnickové krvi. Při dávkách 3,2 mg/kg/den byla signifikantně snížena doba březosti samic myši (Luebker a kol., 2005). Dávky 3 a 5

mg/kg PFOS, PFOA a PFNA březím samicím myší způsobily potraty. Jednou z příčin potratů mohlo být zvětšení jater. Postnatální přežití bylo při dávce 3 mg/kg rovno 80%, ovšem při vyšší dávce již 5 mg/kg přežilo pouze 20% potomků. Du a kol., (2008) pozorovali zdeformovanost narozených larev ryb *D. rerio* již při dávce 50 µg/l PFOS. Většina potomků se narodila se zakřiveným hřbetem, což bylo neslučitelné se životem. PFOS i PFOA zároveň způsobily inhibici embryogeneze u ježovky *P. lividus*. Po expozici se objevily malformace u ranních stádií jiných mořských živočichů. U všech testovaných organismů, jako je *I. galbana*, *P. lividus*, *S. armata* a *P. maxima* tyto látky způsobily změny ve vaječném žloutku a u larválních stádií perikardiální edém a kosterní deformace (Mhadhbi a kol., 2012).

#### 4.7 Karcinogenita

V roce 2006 zařadila agentura pro ochranu životního prostředí (EPA z angl. environmental protection agency) PFOA mezi pravděpodobné karcinogeny pro člověka. V roce 2016 shledala Světová zdravotnická organizace (World Health Organization, WHO) PFOA rovněž jako potenciální karcinogen skupiny s neznámými následky na lidské zdraví (skupina 2B). PFOS bylo zařazeno Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC, z angl. International agency for research on cancer) jako pravděpodobný karcinogen. Obě dvě látky byly označeny jako toxické pro laboratorní zvířata (EPA, 2016d, 2016e).

Laboratorní studie na krysách prokázaly vznik nádoru varlat u samců, mléčných žláz u samic a játrech u obou pohlaví po expozici PFOA (Butenhoff a kol., 2012). Další studie potvrzují vznik jaterního adenomu, adenomu Leydigových buněk a slinivky břišní při podání 300 mg/kg PFOA (Biegel a kol., 2001; Butenhoff a kol., 2012). Rovněž podávání 20 mg/kg PFOS krysám po dobu 2 let v potravě způsobilo patologické změny v játrech, způsobující hepatocelulární hypertrofii s proliferací endoplazmatického retikula. Zároveň byl zaznamenán statisticky vyšší vznik hepatocelulárního adenomu (Butenhoff a kol., 2012 b). Epidemiologické studie rovněž prokázaly souvislost mezi PFOA a jaterními adenomy, adenomem Leydigových buněk a buněk slinivky břišní.

### 5 Hormonální narušení

Thyroidní žláza je žláza vyskytující se u obratlovců, která je zodpovědná za tvorbu a sekreci hormonů. Její další funkcí je udržování homeostázy jódu v těle. Mezi nejdůležitější hormony produkované štítnou žlázou jsou thyroxin (T4) a trijodthyronin (T3). T3 zvyšuje rychlost metabolismu a syntézu proteinu v mnoha orgánech a tkáních (Armstrong a kol., 2020).

PFOS prochází do thyroidních buněk pasivně, pomocí difuze. Expozice PFOS může narušovat struktury a posléze i funkci štítné žlázy. *In vitro* studie prokazovaly toxické účinky na buňky thyroidní žlázy. Expozice 100 µM (přibližně 50 mg/l) PFOS vedla k inhibici buněčné proliferace a zvýšené úmrtnosti buněk

(Coperchini a kol., 2015). *In vivo* studie prokázala změnu struktury folikulárních buněk u *D. rerio* při chronické expozici 0,25 mg/l PFOS po dobu 120 dnů. Dalším projevem bylo narušení hormonů štítné žlázy tak, že došlo ke snížení hladiny T4 (Chen a kol., 2018). I u opic byly sníženy hladiny T4 (Seacat a kol., 2002). Du a kol. (2013) zjistili, že PFOS se může chovat jako antagonist a thyroidního receptoru. Vzhledem k tomu, že perfluorované sloučeniny vykazují jistou podobnost s mastnými kyselinami, v těle je napodobují a mohou se tak vázat na specifické proteiny (Ren a kol., 2015).

PFHxS, PFOS a PFOA interagují s estrogenovým receptorem. Estrogenový receptor hraje klíčovou roli nejen při vývoji plodu, ale i na samotnou plodnost a jeho narušení může vést k různým typům rakoviny. Perfluorované látky prochází i placentou, což může vést k narušení vývoje embrya. Kromě estrogenového receptoru fungují výše zmíněné PFC jako antagonisté androgenního receptoru (AR) (Kjeldsen a kol., 2013). Disrupce AR může vést k různým hormonálním onemocněním. Expresí genů regulovaných AR jsou zodpovědné například za diferenciaci samčích pohlavních buněk v děloze a vývoj reprodukčních orgánů samců (Gao a kol., 2005). Tyto poznatky jasně vedou k závěru, že PFAA mají schopnost narušovat endokrinní homeostázu. Vlivem PFOS i PFOA byly také zvýšeny hladiny estradiolu, jednoho z ženských pohlavních hormonů a také byl způsoben pokles koncentrace testosteronu u samců (Kang a kol., 2016). Snížení hodnot testosteronu může způsobit redukci množství spermatu. Zároveň se testosteron i estradiol uplatňuje při vývoji reprodukčních orgánů (Mooradian a kol., 1987). Existují důkazy o tom, že PFOS narušuje i syntézu aldosteronu. Působení PFOS zvyšuje genovou expresi enzymu *cyp11b2* (Kang a kol., 2016). Tento enzym je zahrnut v biosyntéze aldosteronu. Aldosteron je velmi důležitý pro organismus, protože je schopen regulovat krevní tlak pomocí regulace reabsorpce vody a iontů v ledvinách. Tato dysregulace může vést k vývinu ledvinových onemocnění (Hu a kol., 2012).

Vzhledem k tomu, že steroidní hormony jako je aldosteron, testosteron či estrogen vznikají z cholesterolu při procesu zvaném steroidogeneze, je vhodné do této kapitoly zahrnout i účinky na cholesterol (Miller a kol., 2011). Existuje vztah mezi perfluorovanými látkami a hladinou cholesterolu v séru. *In vivo* i *in vitro* studie potvrdily zvýšení hladin cholesterolu v séru při expozici PFC (Nelson a kol., 2010; Eriksen a kol., 2013). Rebholz a kol. (2016) poukázali na vznik hypercholesterolemie u samců i samic myší. Po vstupu perfluorovaných látek do organismů se hromadí v krvi, konkrétně se váží na krevní proteiny. Dále se akumulují v ledvinách a v játrech. Cholesterol je vylučován játry přes žluč a po vstupu do trávicího traktu je absorbován do krve. Jedním z navrhovaných mechanismů je účinek PFC v místě vzniku cholesterolu (Eriksen a kol., 2013). Rebholz a kol. (2016) navrhuje jako příčinu hypercholesterolemie zvýšení hmotnosti jater a změněnou expresi genů spojených s produkcí sterolu, konkrétně produkce žlučových kyselin.

Jako jeden z dalších možných příčin změn v hladinách cholesterolu může být skrze steroidogenní akutní regulační protein (StAR protein). StAR protein je nezbytnou součástí metabolismu cholesterolu. Váže na sebe cholesterol a tak jej přenáší přes mitochondriální membránu, kde nastává steroidová

transformace (Hurley a kol., 2000). Perfluorované uhlovodíky se váží na aminokyseliny v tomto proteinu a mohou tak znemožnit translokaci cholesterolu přes mitochondriální membránu (Kumar a kol., 2017). Pro podložení této hypotézy je třeba dalších studií.

## 6 Buněčná toxicita

### 6.1 Toxicita dle délky řetězce

Mnohé studie porovnávající cytotoxicitu různých perfluorovaných látek prokázaly, že toxický účinek záleží na délce řetězce molekuly, kdy cytotoxicita se zvyšuje se zvyšujícím se uhlíkovým řetězcem (Ojo a kol., 2020; Croce a kol., 2019). Ojo a kol. (2020) například uvádí, že při pozorování toxicity na lidských HepG2 buňkách cytotoxicita perfluorovaných karboxylových kyselin klesá v pořadí PFDA > PFNA > PFOA > PFHpA a perfluorovaných alkalických sulfonových kyselin PFOS > PFHxS. Dále bylo zjištěno, že PFOS s PFOA, PFNA, PFDA, PFHxS, a PFHpA vykazují synergický nebo antagonistický účinek toxicity, přičemž synergické účinky převažují. Martin a kol., (2009) zkoumali toxicitu FTOH na hepatocytech myši. Obdobně jako u jiných perfluorovaných látek závisí toxicita na délce řetězce. U FTOH jsou krátké řetězce výrazně toxičtější než středně dlouhé řetězce. Naopak nejdelší testované řetězce byly opět toxičtější, než středně dlouhé  $LC_{50} 4:2 < 6:2 > 8:2$ .

Perfluorované látky mohou zároveň působit synergickým efektem s jinými kontaminanty životního prostředí. Shan a kol., 2013 podal zprávu o kombinované toxicitě PFOS či PFOA a pentachlorofenolu (PCP) při použití HepG2 buněk. PFOS a PFOA posilují účinek PCP nejspíše pomocí narušení plazmatické membrány a zvýšením její permeability, což vedlo ke zvýšené dostupnosti PCP. PFAS zároveň mohou zvyšovat toxicitu některých těžkých kovů (Jain, 2019).

### 6.2 Apoptóza

Apoptóza je přirozená programovaná smrt buněk. Zvýšení, nebo naopak snížení výskytu apoptózy může vést k neurodegenerativním poruchám, ischemii, autoimunitním onemocněním a rakovině. Zvýšená buněčná smrt může být důsledkem poškození DNA, defektů membránové permeability, tvorby ROS či irreverzibilním poškozením buněčných funkcí (Reed, 2000).

Prokázalo se, že působení PFOA a PFOS indukuje apoptózu. Jednou z příčin může být vznik oxidačního stresu, nebo poškození DNA. Pozorováním vlivu PFOA a PFOS na bakteriích *Escherichia coli* byl prokázán vznik oxidačního stresu, což mělo za následek poškození DNA. Xenobiotikum se navázalo na buněčnou membránu, což způsobilo její disrupci. Zároveň byla vlivem PFOA a PFOS způsobena celková inhibice růstu buněk a smrt. Mechanismus účinku obou látek byl podobný, ovšem PFOS měla daleko nižší toxicitu, avšak daleko vyšší biokoncentrační faktor v bakteriích. Autoři navrhují, že mechanismus



toxicity se u těchto látek liší zejména ve vlivu na vznik ROS a porušení membrány (Gesheng a kol., 2016; Shan a kol., 2013).

### 6.2.1 Účinky na mitochondriální membránu

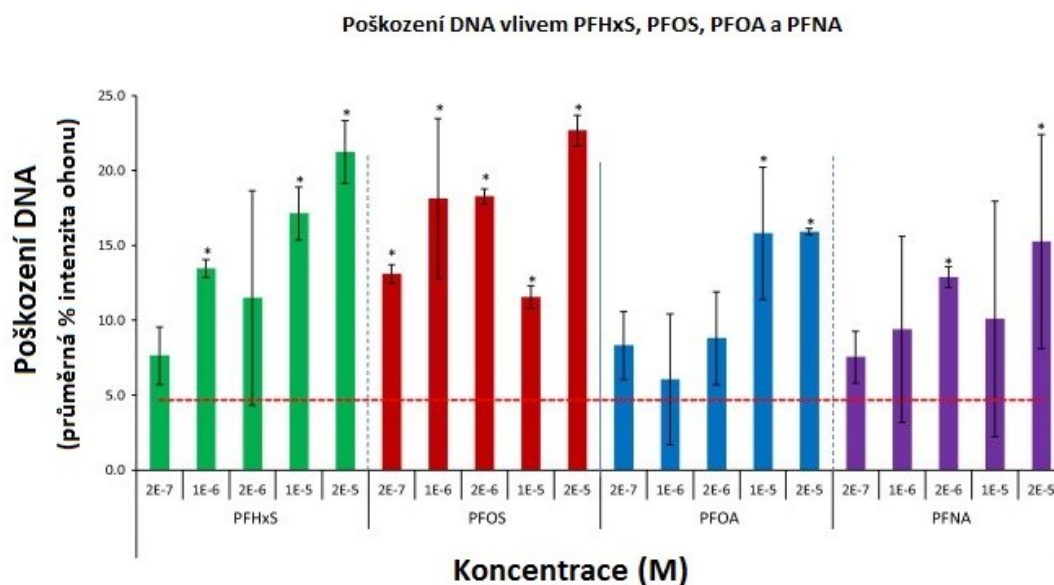
Jako významný mechanismus toxicity PFOA, pozorovaný na játrech *D. rerio*, je navrhována změna mitochondriální permeability, která je způsobena indukcí mitochondriálního proteinu (MPTP, z angl. mitochondrial permeability transition pore). MPTP je zodpovědný za otevírání mitochondriálních pórů. Působením MPTP se stane mitochondrie neselektivně permeabilní a to způsobuje průchod malých molekul dovnitř. Byla pozorována změna v expresi genů, které souvisejí s MPTP po expozici PFOA. Zvýšení permeability má za následek únik iontů, čímž je narušena gradientová rovnováha a vznik ATP pomocí oxidační fosforylace. Díky zvýšené permeabilitě se do mitochondrie dostávají malé molekuly, což vede ke změně koncentračního gradientu a může vést i ke zvětšení organely, prasknutí membrány a následnému vylití intermembránového prostoru a důsledkem toho indukce apoptózy. Mrtvé buňky jsou pak nahrazovány jinými, což bylo patrné na zvýšení míry DNA replikací. Zároveň bylo pozorované snížení inhibice buněčného dělení. Hagenars a kol. (2013) pozoroval snížení aktivity elektronového transportního řetězce (ETC, z angl. electron transport chain) o 55%, z čehož je patrná mitochondriální dysfunkce. Je známo, že snížení ETC má za následek snížení tvorby ATP a přispívá ke vzniku reaktivních forem kyslíku (Chen a kol., 2007).

PFOA se rozpouští v lipidových dvojvrstvách a tak ovlivňuje funkci membrány. PFOS může ovlivňovat gradientový přesun proteinů a narušovat elektronový transportní řetězec. Naměřená data ukazují sníženou spotřebu kyslíku na transportní mechanismy, což může vést ke tvorbě reaktivních forem kyslíku a také snížení produkce ATP. PFOA také přímo ovlivňuje póry MPT, což je indikováno změnami hladin adenin nukleotid traslokátorů (ANT., z angl. adenine nucleotide translocase) a mitochondriálních porinů (VDAC, z angl. voltage-dependent anion channel) na transkripční úrovni. Pozorovaná mitochondriální dysfunkce může mít za následek změny v cyklu kyseliny citronové, metabolismu mastných kyselin a ketonů nebo vypuštění  $Ca^{2+}$  a apoptotických proteinů. Byla také pozorována snížená hladina glykogenu v játrech. Navrhovanou příčinou je nahrazování postižených organel k udržení homeostázy (Hagenars a kol., 2013).

### 6.2.2 Poškození DNA

PFHxS, PFOS, PFOA, a PFNA indukovaly štěpení vláken DNA v souvislosti s dávkou pozorované na HepG2 buňkách. PFOS mimo jiné vyvolalo významný pokles antioxidační kapacity (TAC, z angl. total antioxidant capacity). Mimo délky řetězce má vliv na vyvolání oxidačního stresu i koncentrace těchto látek. Kratší řetězce jako PFOA (C8) nebo PFNA (C9) narušují DNA mnohem více, než molekuly s delším

řetězcem. Přesto, že PFOA a PFOS mají stejný počet uhlíků v řetězci, PFOS nevykazuje vliv na TAC, ovšem PFOA TAC signifikantně zvyšuje. Poškození DNA může být způsobeno uvolněním ROS při rozpadu mitochondrie. Některé ROS hrají v organismu důležitou roli pro přenos energie, jako signální molekuly při buněčné regulaci nebo pro imunitní ochranu. Uvolnění velkého množství ROS může způsobit porušení DNA, lipidů a proteinů. Přesto, že šest ze sedmi testovaných látek podnítily vznik reaktivních forem kyslíku, jen čtyři způsobily poškození řetězce DNA viz graf č. 1 (Wielsøe a kol., 2014; Xu a kol.; 2019).



Obrázek č. 3: Výsledek kometového testu ukazující porušení DNA po 24 hod expozici různých PFC vyjádřené (červená je odpověď z kontroly solventu).PFOS, PFHxS, PFOA a PFNA zvýšilo poškození DNA v závislosti na dávce (upraveno dle Wielsøe a kol., 2014)

Při poškození DNA řetězce vstupuje do procesu protein p53, který zastavuje buněčné dělení, dokud není řetězec opraven (Reed, 2000). Tento protein také přímo indukuje transkripci genu *BAX* z rodiny *Bcl-2*. *BAX* působí přímo na VDAC, což vede ke ztrátě membránového potenciálu a uvolnění cytochromu (Hemann a kol., 2006). Cytochrom dále aktivuje kaspázu, která je zodpovědná za buněčnou smrt (Reed, 2000). Mnohé studie prokázaly zvýšení exprese cytochromu a zvýšení štěpení kaspáz při expozici PFC (Zhang a kol., 2012). Byla prokázána zvýšená syntéza proteinu p53 a snížená exprese *Bcl-2* při expozici PFOS, což vedlo k aktivaci *BAX* (Hu a kol., 2009; Zhang a kol., 2012). Je známo, že *Bcl-2* může být rovněž aktivováno pomocí tzv. FOXO3 proteinů. Jedná se o protein, jehož funkcí je mimo jiné regulace genů spouštějících apoptózu a regulací antioxidantů jako je kataláza. Dle Liu a kol. (2005) mohou být tyto proteiny spuštěny indukci ROS. Ošetření PC12 buněk (nádorová buněčná linie odvozená

od feochromocytomu kryší dřeně nadledvin) 100  $\mu\text{M}$  PFOS po dobu 48 hodin mění expresi FOXO3. Zároveň vyřazení genu FOXO3 genovou manipulací ochránilo buňky PC12 před apoptózou v důsledku expozice PFC (Wu a kol., 2019). To nasvědčuje tomu, že interakce perfluorovaných látek a FOXO3 může způsobovat reakci, která má za následek jak vypuštění ROS, tak apoptózu již na úrovni DNA.

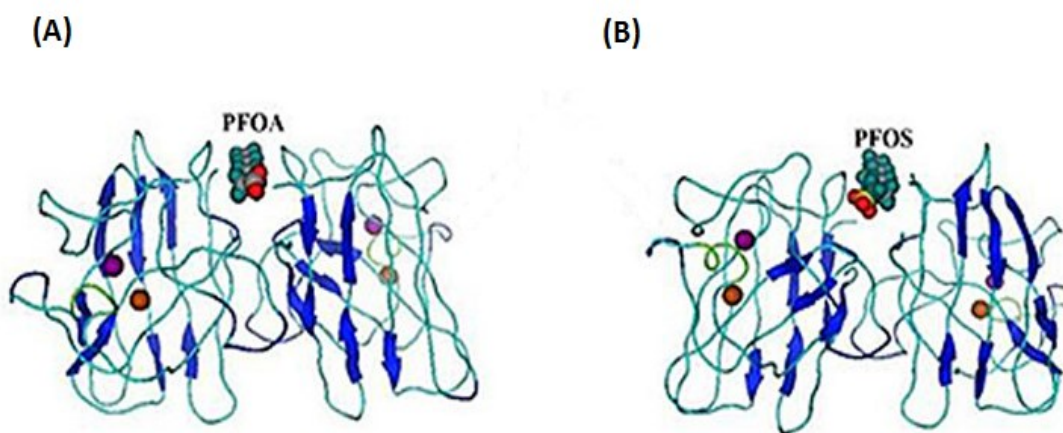
### 6.2.3 Generace ROS

V dnešní době se čím dál tím více studií zaměřuje na tvorbu oxidačního stresu vlivem ROS. ROS jsou atomy či molekuly, které disponují alespoň jedním nespárovaným elektronem. Při vzniku nerovnováhy mezi tvorbou reaktivních forem a antioxidační kapacitou dochází k takzvanému oxidačnímu stresu. Hlavní příčinou vzniku ROS je únik elektronů z mitochondriálního komplexu I a III a jejich následné reakce s kyslíkem za vzniku superoxidů. Dále mohou vznikat při metabolických reakcích, při nichž se uplatňují cytochromy P450. Mezi hlavní antioxidační kapacity patří enzym superoxid dismutáza (SOD), který převádí superoxid na peroxid vodíku. Peroxid vodíku není radikálem, protože nemá žádný nepárový elektron. Nebezpečí peroxidu vodíku tkví v jeho reaktivitě a malé velikosti, která umožňuje molekule procházet skrz buněčnou membránu. Jedním z hlavních mechanismů odstranění peroxidu vodíku je působení kataláz. Katalázy (CAT) se nachází v peroxisomech, organelách podílejících se na degradaci mastných kyselin s dlouhými řetězci (Sies, 2017).

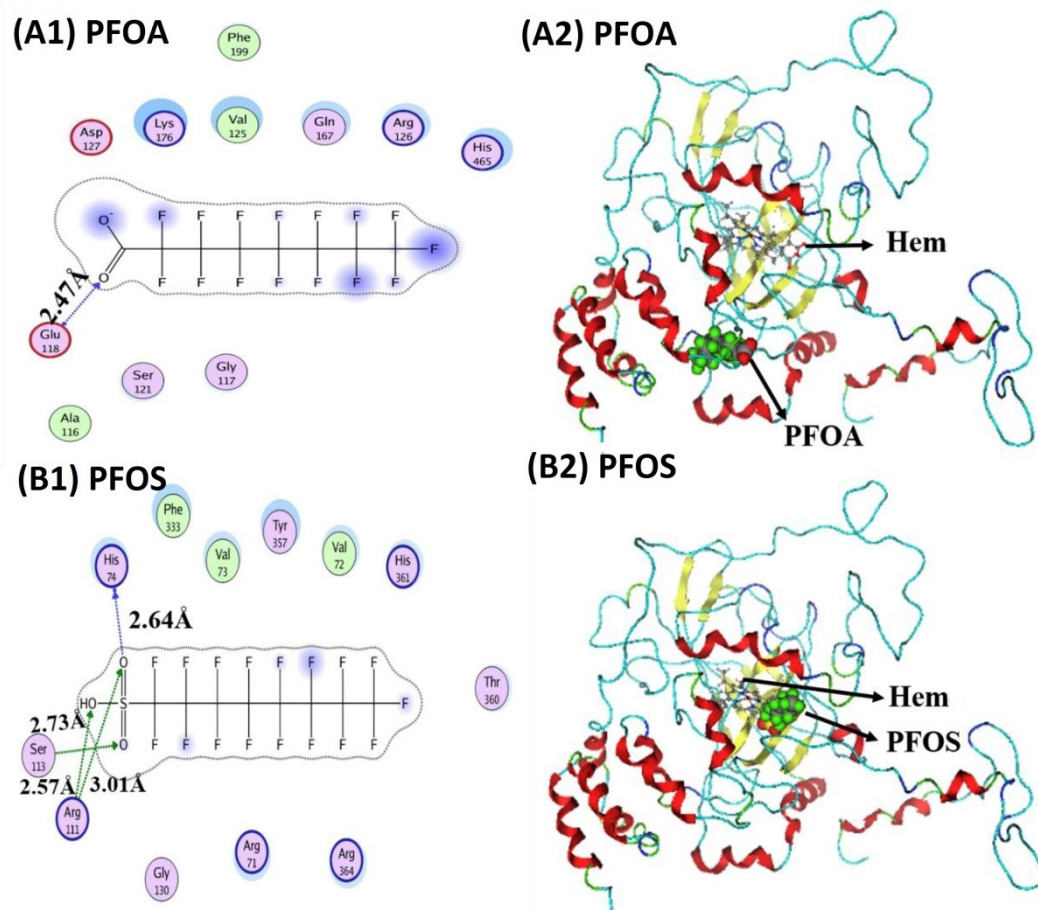
Je známo, že perfluorované látky indukují vznik ROS. Jejich vysoké hladiny byly detekovány u rostlin, myší, nálevníků i v lidských tkáních (Kawamoto a kol., 2010; Liu a kol., 2017; Zhou a kol., 2017). Některé studie ovšem potvrdily, že při aplikaci PFOA se vznik ROS naopak snížil. Florentin a kol. (2011) navrhuje, že tvorba ROS v ostatních studiích je způsobena nesprávnou buněčnou kulturou. Na druhou stranu existuje mnoho studií, které prokázaly opak. Zdroj ROS zatím není známý, ovšem jedna z navrhovaných cest je prostřednictvím aktivace PPAR  $\alpha$ . Receptory PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors) hrají roli například při regulaci odtoku cholesterolu z makrofágů prostřednictvím indukce exprese genu *ABCA1* (Chinetti a kol., 2001). *ABCA1* kóduje stejnojmenný protein ABCA1, který funguje jako regulátor homeostázy cholesterolu (Charvet a kol., 2010). Zároveň se přes receptor PPAR $\alpha$  indukuje  $\beta$ -oxidace mastných kyselin a  $\omega$ -hydroxylace přes cytochrom CYP4A. Důsledkem toho může být produkce peroxidu vodíku (Panarekatis a kol. 2001). Ovšem při bližším zkoumání byl detekován superoxid, což naznačuje, že  $\beta$ -oxidace nemohla být zdrojem ROS. PPAR ale může ovlivnit vznik superoxidů pomocí stimulace aktivity SOD (Li a kol, 2017). Nadměrná generace ROS může vést k dysfunkci buněčných procesů a porušení organismů.

#### 6.2.4 Působení na antioxidační kapacity

Totální antioxidační kapacita je souhrn procesů, které přecházejí vzniku ROS, nebo je eliminují (Wielsøe a kol., 2014). PFOS i PFOA mají vliv na CAT a SOD (Han a kol 2018). PFOS narušují sekundární strukturu CAT tím, že snižují obsah  $\alpha$ -helixových peptidů a zvyšují obsah typů  $\beta$ -skládaných listů peptidů. PFOS účinkuje na okolní mikroprostředí a snižuje velikost samotné katalázy. PFOA rozvolnila sekundární strukturu katalázy, ovšem působením PFOA nebyl zaznamenán pokles aktivity enzymu. Naopak působení PFOS rapidně snížilo aktivitu CAT o 72 %. Inhibice byla způsobena vazbou xenobiotika na enzym. PFOA se přednostně vázalo na neaktivní místa katalázy, tudíž nemělo vliv na funkčnost enzymu. PFOS se vázalo blízko aktivního místa katalázy, tedy kolem hemové skupiny, která je klíčová při reakci s peroxidy. (Xu a kol., 2018). PFOA i PFOS zároveň narušovaly SOD tak, že zvyšují její aktivitu. Tyto molekuly interagovaly se SOD pomocí hydrofobních sil. Tato interakce změnila strukturu a povahu SOD, čímž mohlo dojít k narušení antioxidační kapacity buňky a vést tak ke zvýšenému množství ROS a následné apoptóze (Xu a kol, 2019).



Obrázek č. 4: Grafická vizualizace vazebného místa (A) PFOA a (B) PFOS na SOD. (upraveno dle Xu, 2019)



Obrázek č. 5: Grafická vizualizace vazebných míst PFOS a PFOA na CAT. (A1) (B1) PFOA a PFOS interagují s aminokyselinovými zbytky katalázy. Ligandy jsou vyznačeny kulatým ohraničením. (A2) (B2) Vykreslený model (ribbon) CAT a vazebná místa PFOS a PFOA. Zeleně a modře jsou vyznačené vodíkové vazby (Upraveno dle Xu, 2018)

Obdobný účinek má i perfluorodekanová kyselina (PFDA), u které byl také prokázán účinek na molekulární i buněčné úrovni. PFDA taktéž narušila strukturu katalázy a snížila její aktivitu. PFDA se navíc vážala přímo na molekuly DNA a na buněčné úrovni zvyšovala obsah reaktivních forem kyslíku, což bylo pozorováno na hepatocytech myší (Xu a kol., 2019).

### 6.3 Aktivace PPAR

PPAR jsou jaderné receptory a jsou známy 3 různé typy PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  a PPAR $\gamma$ . Tyto receptory byly nalezeny u kostnatých ryb, obojživelníků, hlodavců a lidí. Regulují genové exprese pomocí vazby na specifické DNA sekvence. PPAR $\alpha$  je exprimován během embryonálního vývoje. K expresi dochází v buňkách vaječníku a jsou detekovány i v placentě a děloze (Abott a kol., 2008). PFOS i PFOA jsou aktivátory PPAR $\alpha$ . U zvířat byla prokázána poměrně větší citlivost k aktivaci PPAR receptorů vlivem perfluorovaných látek. Receptory byly ve studii na myších aktivovány v dávce 80  $\mu$ M PFOA a 30  $\mu$ M PFOS

(Takacs a kol., 2007). I u ptáků byla prokázána zvýšená exprese PPAR $\alpha$  cílových genů pomocí PFOS u ptáků a tedy aktivace PPAR $\alpha$  (Cwinn a kol., 2008). Abott a kol. (2009) publikovali studii, která prokazuje vliv aktivace PPAR $\alpha$  na úmrtní mláďat myší. Při zvýšené aktivaci PPAR vlivem PFOS byla zaznamenána mortalita novorozenců, ale při vyřazení genu kódujícího PPAR nikoliv. Koncentrace PFOS, jež aktivuje PPAR $\alpha$  se pohybuje v rozmezí 10-100  $\mu$ M PFOA. Zároveň byla pozorována i menší afinita PFOS k PPAR $\gamma$ . Vzhledem k podobnosti s mastnými kyselinami je například PFOA dokáží napodobovat, a tak se stávají agonisty tohoto receptoru. (Huevel a kol., 2006)

Jedním z rizik spojených s aktivací PPAR pomocí PFOS PFOA a jiných perfluorovaných látek je proliferace peroxisomů, hepatomegalie (zvětšení jater), snížené hladiny triglyceridů a cholesterolu a vznik hepatocelulárních karcinomů (Kennedy a kol., 2004). S tím korespondují výsledky akutní *in vivo* studie myší, kdy PFOS i PFOA indukovaly peroxisomální proliferaci vedoucí k hepatomegalii. Elcombe a kol. (2013) pozorovali spojitost mezi PPAR $\alpha$  aktivací a jaterní tumorogenezí.

### 6.3.1 Mechanismus vzniku nádorů

Jako mechanismus indukce jaterní karcinogenity vlivem perfluorovaných látek se předpokládá aktivace PPAR  $\alpha$  receptorů. Pro jaterní tumor existuje hypotéza mechanismu jeho vzniku. 1) aktivace jaterního PPAR 2) změna buněčného růstu a následná kvalitativní porucha růstu jaterních buněk, tvorba nových preneoplastických buněk a vznik jaterních lézí 3) expanze preneoplastických ložisek a následná transformace v adenomy (Corton a kol., 2012). Biegel a kol. uvádí jako důvod vzniku nádorů Leydigových buněk trvale zvýšené hladiny estradiolu. Podávání estradiolu myším způsobilo zvýšený výskyt nádorů (Bonser a kol., 1942). Expozice PFC zvyšuje hladiny estradiolu v séru (Kraugerud a kol., 2011). Je proto možné, nikoli prokázané, že zvýšení koncentrace estradiolu a následná peroxisomální proliferace po expozici PFC může být rovněž zodpovědné za nádory Leydigových buněk (Biegel a kol., 2001).

## 7 Závěr

Perfluorované sloučeniny jsou antropogenní látky, které jsou velmi perzistentní v životním prostředí. Existuje jen velmi málo záznamů o jakýchkoliv metabolických procesech, při kterých by se PFC transformovaly. V některých případech byla zaznamenána rostlinná metabolická přeměna FOSA na PFOS. PFOS jsou spolu s PFOA nejzkoumanější perfluorované látky, a to kvůli nejvyšším naměřeným koncentracím po celém světě a také kvůli nejtoxičtější povaze ze známých PFC. Látky jsou naměřeny ve vysokých koncentracích ve všech vodách po celém světě a to i v balených, určených ke konzumaci. Důvodem jejich všudypřítomnosti je jejich snadný transport od zdroje vodními toky nebo vzduchem. Bohužel, veškeré konvenční mechanismy čištění vody, které jsou uplatňovány v čistírnách odpadních vod, jsou neúčinné pro odstranění PFC. Některé metody jako jsou reverzní osmóza nebo nanofiltrační

membrány se jeví jako účinné, ovšem nejsou uplatnitelné na veškeré PFC. Zkoumání efektivnějších možností odstranění PFC z vody by mělo být předmětem dalších studií.

Perfluorované látky jsou velmi toxické pro drtivou většinu organismů. Například vykazují toxické účinky na mikroorganismy, které jsou součástí mikrobiální smyčky. Jak bylo zmíněno, PFC účinkují neblaze i na bakterie tím, že mohou narušit jejich membránu, ačkoliv bylo zjištěno, že některé bakterie jsou schopné tyto látky výjimečně i degradovat.

V souvislosti s vodou přichází téma i k rostlinám. Expozice PFC se projevuje inhibicí růstu kořene u všech testovaných rostlin. PFC se v rostlinách akumulují v proteinech. V místech s vyššími koncentracemi PFC ve vodách mohou být rostliny ohroženy. Sekundárně mohou být ohroženy organismy, které kontaminované rostliny konzumují. V těchto organismech se látky akumulují a v jejich predátorech mohou být naměřeny daleko vyšší koncentrace, tedy dochází k takzvané biomagnifikaci.

U zkoumaných savců se látky projeví primárně jako hepatotoxické. PFC se v játrech akumulují, způsobují hepatomegalii, steatózu a buněčnou proliferaci jaterních buněk, což může vést ke vzniku karcinomů. Játra jsou prvním postiženým orgánem, protože detoxikují krev od škodlivých látek. Zároveň zde hraje roli i enterohepatický oběh. V principu se jedná o cirkulaci látek z jater do žluče a následným vstupem do tenkého střeva, kde se látka reabsorbuje a transportuje se znovu do jater. Kvůli tomu jsou játra vystavena opakovanému poškození. Enterohepatická cirkulace je jedna z navrhovaných příčin umocnění toxicity perfluorovaných látek. Dále působí nefrotoxicky tím, že snižují glomerulární filtraci. PFC procházejí hematoencefalickou bariérou a akumulují se v neuronech. Zároveň narušují metabolismus vápníku, který je klíčový pro přenos vzruchu mezi neurony. Dalším z projevů je narušení hladin cholesterolu, triglyceridů a hormonů. Narušení hormonů může vyústit ve vývojovou toxicitu a k reprodukčním poruchám. V této práci byla věnována pozornost i vlivu PFC na reprodukční systém. Studie prokázaly vliv PFC na početnost potomků a na míru genetických poruch, které nejsou sloučitelné se životem například u ryb *D. rerio*.

V této práci byly také shrnuty veškeré dosavadní poznatky o mechanismech indukce toxicity. Doposud se ví, že tyto látky způsobují zvýšení hladin ROS. Vznik ROS byl zaznamenán u rostlin, bakterií, obojživelníků, ryb i savců. PFC působí i na antioxidační mechanismy, jejichž funkce je udržování hladin ROS. Tyto látky se váží na peptidy v SOD a CAT a tak narušují jejich funkce. Dalším z projevů je apoptóza buněk. Jedna ze známých příčin apoptózy je právě vznik reaktivních forem kyslíku. Studie mechanismu indukce buněčné smrti vlivem PFC prokázala roli proteinu FOXO3 při apoptóze. Je proto možné, že PFC působí na tyto proteiny a tím způsobují smrt buněk. FOXO3 je relativně nedávno objevený protein a má mnoho funkcí jako je například regulace Bcl-2, p53 a jiných proteinů, které se uplatňují v řízení apoptózy. Nasvědčuje tomu i to, že hladiny těchto látek byly po expozici PFC významně pozměněny. Dalším z mechanismů stojícím za apoptózou je narušení mitochondriální membrány a následná smrt buňky.

Je nutné podotknout, že testy toxicity byly prováděny se zpravidla mnohokrát vyššími koncentracemi, než jsou naměřeny v životním prostředí. Většina studií je také prováděna ve velmi krátkém časovém intervalu, ovšem organismy se intoxikují po celou dobu jejich života a tyto látky v organismech nadále přetrvávají.

V nynější době se hledají alternativní látky, místo některých PFC. Tyto látky mohou rovněž působit toxicky, a proto by jejich toxicita měla být předmětem nových studií.



## 8 Seznam použité literatury

Abbott, B., 2009. Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR $\alpha$ ), beta (PPAR $\beta$ ), and gamma (PPAR $\gamma$ ) in rodent and human development. *Reproductive Toxicology*, 27(3-4), pp.246-257.

Abbott, B., Wolf, C., Das, K., Zehr, R., Schmid, J., Lindstrom, A., Strynar, M. and Lau, C., 2009. Developmental toxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) is not dependent on expression of peroxisome proliferator activated receptor-alpha (PPAR $\alpha$ ) in the mouse. *Reproductive Toxicology*, 27(3-4), pp.258-265.

Angrish, M., Kaiser, J., McQueen, C. and Chorley, B., 2016. Tipping the Balance: Hepatotoxicity and the 4 Apical Key Events of Hepatic Steatosis. *Toxicological Sciences*, 150(2), pp.261-268.

Apelberg, B., Goldman, L., Calafat, A., Herbstman, J., Kuklenyik, Z., Heidler, J., Needham, L., Halden, R. and Witter, F., 2007. Determinants of Fetal Exposure to Polyfluoroalkyl Compounds in Baltimore, Maryland. *Environmental Science & Technology*, 41(11), pp.3891-3897.

Armstrong, M., Asuka, E. and Fingeret, A., 1995. Access NCBI through the World Wide Web. *Molecular Biotechnology*, 3(1), pp.75-75.

Atlante, A., Calissano, P., Bobba, A., Giannattasio, S., Marra, E. and Passarella, S., 2001. Glutamate neurotoxicity, oxidative stress and mitochondria. *FEBS Letters*, 497(1), pp.1-5.

ATSDR PUBLIC HEALTH STATEMENT Perfluoroalkyl, Division of Toxicology and Human Health Sciences Atsdr.cdc.gov. 2015. *Perfluoroalkyl, Division Of Toxicology And Human Health Sciences*. [online] Available at: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp200-c1-b.pdf>> [Accessed 2 June 2020].

Benskin, J., Ahrens, L., Muir, D., Scott, B., Spencer, C., Rosenberg, B., Tomy, G., Kylin, H., Lohmann, R. and Martin, J., 2011. Manufacturing Origin of Perfluorooctanoate (PFOA) in Atlantic and Canadian Arctic Seawater. *Environmental Science & Technology*, 46(2), pp.677-685.

Biegel, L., Hurtt, M., Frame, S., O'Connor, J. and Cook, J., 2001. Mechanisms of Extrahepatic Tumor Induction by Peroxisome Proliferators in Male CD Rats. *Toxicological Sciences*, 60(1), pp.44-55.

Bizkarguenaga, E., Zabaleta, I., Mijangos, L., Iparraguirre, A., Fernández, L., Prieto, A. and Zuloaga, O., 2016. Uptake of perfluorooctanoic acid, perfluorooctane sulfonate and perfluorooctane sulfonamide by carrot and lettuce from compost amended soil. *Science of The Total Environment*, 571, pp.444-451.

Bonser, G., 1942. Malignant tumours of the interstitial cells of the testis in strong a mice treated with triphenylethylene. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 54(2), pp.149-154.

Butenhoff, J., Chang, S., Olsen, G. and Thomford, P., 2012. Chronic dietary toxicity and carcinogenicity study with potassium perfluorooctanesulfonate in Sprague Dawley rats. *Toxicology*, 293(1-3), pp.1-15.

Butenhoff, J., Kennedy, G., Chang, S. and Olsen, G., 2012. Chronic dietary toxicity and carcinogenicity study with ammonium perfluorooctanoate in Sprague–Dawley rats. *Toxicology*, 298(1-3), pp.1-13.

Butt, C., Muir, D. and Mabury, S., 2010. Elucidating the Pathways of Poly- and Perfluorinated Acid Formation in Rainbow Trout. *Environmental Science & Technology*, 44(13), pp.4973-4980.

Conder, J., Hoke, R., Wolf, W., Russell, M. and Buck, R., 2008. Are PFCAs Bioaccumulative? A Critical Review and Comparison with Regulatory Criteria and Persistent Lipophilic Compounds. *Environmental Science & Technology*, 42(4), pp.995-1003.

Coperchini, F., Pignatti, P., Lacerenza, S., Negri, S., Sideri, R., Testoni, C., de Martinis, L., Cottica, D., Magri, F., Imbriani, M., Rotondi, M. and Chiovato, L., 2014. Exposure to perfluorinated compounds: in vitro study on thyroid cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(3), pp.2287-2294.

Corton, J., Cunningham, M., Hummer, B., Lau, C., Meek, B., Peters, J., Popp, J., Rhomberg, L., Seed, J. and Klaunig, J., 2013. Mode of action framework analysis for receptor-mediated toxicity: The peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ ) as a case study. *Critical Reviews in Toxicology*, 44(1), pp.1-49.

Croce, L., Coperchini, F., Tonacchera, M., Imbriani, M., Rotondi, M. and Chiovato, L., 2019. Effect of long- and short-chain perfluorinated compounds on cultured thyroid cells viability and response to TSH. *Journal of Endocrinological Investigation*, 42(11), pp.1329-1335.

Cui, L., Zhou, Q., Liao, C., Fu, J. and Jiang, G., 2008. Studies on the Toxicological Effects of PFOA and PFOS on Rats Using Histological Observation and Chemical Analysis. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56(2), pp.338-349.

Cwinn, M., Jones, S. and Kennedy, S., 2008. Exposure to perfluorooctane sulfonate or fenofibrate causes PPAR- $\alpha$  dependent transcriptional responses in chicken embryo hepatocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(2), pp.165-171.

Das, K., Wood, C., Lin, M., Starkov, A., Lau, C., Wallace, K., Corton, J. and Abbott, B., 2017. Perfluoroalkyl acids-induced liver steatosis: Effects on genes controlling lipid homeostasis. *Toxicology*, 378, pp.37-52.

Dassuncao, C., Pickard, H., Pfohl, M., Tokranov, A., Li, M., Mikkelsen, B., Slitt, A. and Sunderland, E., 2019. Phospholipid Levels Predict the Tissue Distribution of Poly- and Perfluoroalkyl Substances in a Marine Mammal. *Environmental Science & Technology Letters*, 6(3), pp.119-125.

Dassuncao, C., Pickard, H., Pfohl, M., Tokranov, A., Li, M., Mikkelsen, B., Slitt, A. and Sunderland, E., 2019. Phospholipid Levels Predict the Tissue Distribution of Poly- and Perfluoroalkyl Substances in a Marine Mammal. *Environmental Science & Technology Letters*, 6(3), pp.119-125.

de la Torre, A., Navarro, I., Sanz, P. and Martínez, M., 2019. Occurrence and human exposure assessment of perfluorinated substances in house dust from three European countries. *Science of The Total Environment*, 685, pp.308-314.

Du, G., Hu, J., Huang, H., Qin, Y., Han, X., Wu, D., Song, L., Xia, Y. and Wang, X., 2012. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) affects hormone receptor activity, steroidogenesis, and expression of endocrine-related genes in vitro and in vivo. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(2), pp.353-360.

Du, Y., Shi, X., Liu, C., Yu, K. and Zhou, B., 2009. Chronic effects of water-borne PFOS exposure on growth, survival and hepatotoxicity in zebrafish: A partial life-cycle test. *Chemosphere*, 74(5), pp.723-729.

Ericson, I., Gómez, M., Nadal, M., van Bavel, B., Lindström, G. and Domingo, J., 2007. Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: A pilot study. *Environment International*, 33(5), pp.616-623.

Eriksen, K., Raaschou-Nielsen, O., McLaughlin, J., Lipworth, L., Tjønneland, A., Overvad, K. and Sørensen, M., 2013. Association between Plasma PFOA and PFOS Levels and Total Cholesterol in a Middle-Aged Danish Population. *PLoS ONE*, 8(2), p.e56969.

Fei, C., McLaughlin, J., Lipworth, L. and Olsen, J., 2009. Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. *Human Reproduction*, 24(5), pp.1200-1205.

Florentin, A., Deblonde, T., Diguio, N., Hautemaniere, A. and Hartemann, P., 2011. Impacts of two perfluorinated compounds (PFOS and PFOA) on human hepatoma cells: Cytotoxicity but no genotoxicity?. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214(6), pp.493-499.

Foguth, R., Flynn, R., de Perre, C., Iacchetta, M., Lee, L., Sepúlveda, M. and Cannon, J., 2019. Developmental exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA)

selectively decreases brain dopamine levels in Northern leopard frogs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 377, p.114623.

Fraser, A., Webster, T., Watkins, D., Nelson, J., Stapleton, H., Calafat, A., Kato, K., Shoeib, M., Vieira, V. and McClean, M., 2011. Polyfluorinated Compounds in Serum Linked to Indoor Air in Office Environments. *Environmental Science & Technology*, 46(2), pp.1209-1215.

Gao, W., Bohl, C. and Dalton, J., 2005. Chemistry and Structural Biology of Androgen Receptor. *Chemical Reviews*, 105(9), pp.3352-3370.

Gareri, P., Mattace, R., Nava, F. and De Sarro, G., 1995. Role of calcium in brain aging. *General Pharmacology: The Vascular System*, 26(8), pp.1651-1657.

Gewurtz, S., Backus, S., De Silva, A., Ahrens, L., Armellin, A., Evans, M., Fraser, S., Gledhill, M., Guerra, P., Harner, T., Helm, P., Hung, H., Khera, N., Kim, M., King, M., Lee, S., Letcher, R., Martin, P., Marvin, C., McGoldrick, D., Myers, A., Pelletier, M., Pomeroy, J., Reiner, E., Rondeau, M., Sauve, M., Sekela, M., Shoeib, M., Smith, D., Smyth, S., Struger, J., Spry, D., Syrgiannis, J. and Waltho, J., 2013. Perfluoroalkyl acids in the Canadian environment: Multi-media assessment of current status and trends. *Environment International*, 59, pp.183-200.

Ghisi, R., Vamerali, T. and Manzetti, S., 2019. Accumulation of perfluorinated alkyl substances (PFAS) in agricultural plants: A review. *Environmental Research*, 169, pp.326-341.

Giesy, J. and Kannan, K., 2001. Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environmental Science & Technology*, 35(7), pp.1339-1342.

Glynn, A., Berger, U., Bignert, A., Ullah, S., Aune, M., Lignell, S. and Darnerud, P., 2012. Perfluorinated Alkyl Acids in Blood Serum from Primiparous Women in Sweden: Serial Sampling during Pregnancy and Nursing, And Temporal Trends 1996–2010. *Environmental Science & Technology*, 46(16), pp.9071-9079.

Guo, H., Wang, J., Yao, J., Sun, S., Sheng, N., Zhang, X., Guo, X., Guo, Y., Sun, Y. and Dai, J., 2019. Comparative Hepatotoxicity of Novel PFOA Alternatives (Perfluoropolyether Carboxylic Acids) on Male Mice. *Environmental Science & Technology*, 53(7), pp.3929-3937.

H. Van Gossum, B. Audenaert, L. De Bruyn, 2010, Perfluorooctane Sulfonic Acid Contamination Reduced Fitness in *Drosophila hydei* (Diptera: Drosophilidae), *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2) pp-247–251.

Hagenaars, A., Vergauwen, L., Benoot, D., Laukens, K. and Knapen, D., 2013. Mechanistic toxicity study of perfluorooctanoic acid in zebrafish suggests mitochondrial dysfunction to play a key role in PFOA toxicity. *Chemosphere*, 91(6), pp.844-856.

Han, R., Hu, M., Zhong, Q., Wan, C., Liu, L., Li, F., Zhang, F. and Ding, W., 2018. Perfluorooctane sulphonate induces oxidative hepatic damage via mitochondria-dependent and NF- $\kappa$ B/TNF- $\alpha$ -mediated pathway. *Chemosphere*, 191, pp.1056-1064.

Hemann, M. and Lowe, S., 2006. The p53–Bcl-2 connection. *Cell Death & Differentiation*, 13(8), pp.1256-1259.

Heuvel, J., Kuslikis, B., Van Rafelghem, M. and Peterson, R., 1991. Tissue Distribution, Metabolism, And Elimination Of Perfluorooctanoic Acid In Male And Female Rats. *Journal of Biochemical Toxicology* 6(2), pp.83-92

Houde, M., Czub, G., Small, J., Backus, S., Wang, X., Alae, M. and Muir, D., 2008. Fractionation and Bioaccumulation of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Isomers in a Lake Ontario Food Web. *Environmental Science & Technology*, 42(24), pp.9397-9403.

Houde, M., De Silva, A., Muir, D. and Letcher, R., 2011. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environmental Science & Technology*, 45(19), pp.7962-7973.

Hu, C., Rusin, C., Tan, Z., Guagliardo, N. and Barrett, P., 2012. Zona glomerulosa cells of the mouse adrenal cortex are intrinsic electrical oscillators. *Journal of Clinical Investigation*, 122(6), pp.2046-2053.

Hu, X. and Hu, D., 2009. Effects of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate exposure on hepatoma Hep G2 cells. *Archives of Toxicology*, 83(9), pp.851-861.

Huang, S. and Jaffé, P., 2019. Defluorination of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) by Acidimicrobium sp. Strain A6. *Environmental Science & Technology*, 53(19), pp.11410-11419.

Hurley, J. and Tsujishita, Y., 2000. Structure and lipid transport mechanism of a StAR-related domain. *Nature Structural Biology*, 7(5), pp.408-414.

Chen, J., Wang, X., Ge, X., Wang, D., Wang, T., Zhang, L., Tanguay, R., Simonich, M., Huang, C. and Dong, Q., 2016. Chronic perfluorooctanesulphonic acid (PFOS) exposure produces estrogenic effects in zebrafish. *Environmental Pollution*, 218, pp.702-708.

Chen, J., Zheng, L., Tian, L., Wang, N., Lei, L., Wang, Y., Dong, Q., Huang, C. and Yang, D., 2018. Chronic PFOS Exposure Disrupts Thyroid Structure and Function in Zebrafish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101(1), pp.75-79.

Chen, Y., McMillan-Ward, E., Kong, J., Israels, S. and Gibson, S., 2007. Mitochondrial electron-transport-chain inhibitors of complexes I and II induce autophagic cell death mediated by reactive oxygen species. *Journal of Cell Science*, 120(23), pp.4155-4166.

Chinetti, G., Lestavel, S., Bocher, V., Remaley, A., Neve, B., Torra, I., Teissier, E., Minnich, A., Jaye, M., Duverger, N., Brewer, H., Fruchart, J., Clavey, V. and Staels, B., 2001. PPAR- $\alpha$  and PPAR- $\gamma$  activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nature Medicine*, 7(1), pp.53-58.

Jain, R., 2019. Synergistic impact of co-exposures to toxic metals cadmium, lead, and mercury along with perfluoroalkyl substances on the healthy kidney function. *Environmental Research*, 169, pp.342-347.

Jin, Y., Liu, W., Sato, I., Nakayama, S., Sasaki, K., Saito, N. and Tsuda, S., 2009. PFOS and PFOA in environmental and tap water in China. *Chemosphere*, 77(5), pp.605-611.

Johansson, N., Fredriksson, A. and Eriksson, P., 2008. Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioural defects in adult mice. *NeuroToxicology*, 29(1), pp.160-169.

Kang, J., Choi, J. and Park, J., 2016. Transcriptional changes in steroidogenesis by perfluoroalkyl acids (PFOA and PFOS) regulate the synthesis of sex hormones in H295R cells. *Chemosphere*, 155, pp.436-443.

Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Fillmann, G., Kumar, K., Loganathan, B., Mohd, M., Olivero, J., Wouwe, N., Yang, J. and Aldous, K., 2004. Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Human Blood from Several Countries. *Environmental Science & Technology*, 38(17), pp.4489-4495.

Kärman, A., van Bavel, B., Järnberg, U., Hardell, L. and Lindström, G., 2006. Perfluorinated chemicals in relation to other persistent organic pollutants in human blood. *Chemosphere*, 64(9), pp.1582-1591.

Kataria, A., Trasande, L. and Trachtman, H., 2015. The effects of environmental chemicals on renal function. *Nature Reviews Nephrology*, 11(10), pp.610-625.

Kawamoto, K., Nishikawa, Y., Oami, K., Jin, Y., Sato, I., Saito, N. and Tsuda, S., 2008. Effects of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on swimming behavior and membrane potential of paramecium caudatum. *The Journal of Toxicological Sciences*, 33(2), pp.155-161.

- Kennedy, G., Butenhoff, J., Olsen, G., O'Connor, J., Seacat, A., Perkins, R., Biegel, L., Murphy, S. and Farrar, D., 2004. The Toxicology of Perfluorooctanoate. *Critical Reviews in Toxicology*, 34(4), pp.351-384.
- Kim, S., Heo, S., Lee, D., Hwang, I., Lee, Y. and Cho, H., 2016. Gender differences in pharmacokinetics and tissue distribution of 3 perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 97, pp.243-255.
- Kjeldsen, L. and Bonefeld-Jørgensen, E., 2013. Perfluorinated compounds affect the function of sex hormone receptors. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(11), pp.8031-8044.
- Kowalczyk, J., Ehlers, S., Oberhausen, A., Tischer, M., Fürst, P., Schafft, H. and Lahrssen-Wiederholt, M., 2013. Absorption, Distribution, and Milk Secretion of the Perfluoroalkyl Acids PFBS, PFHxS, PFOS, and PFOA by Dairy Cows Fed Naturally Contaminated Feed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(12), pp.2903-2912.
- Kranthi Kumar, K., Uma Devi, B. and Neeraja, P., 2017. Integration of in silico approaches to determination of endocrine-disrupting perfluorinated chemicals binding potency with steroidogenic acute regulatory protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 491(4), pp.1007-1014.
- Kraugerud, M., Zimmer, K., Ropstad, E. and Verhaegen, S., 2011. Perfluorinated compounds differentially affect steroidogenesis and viability in the human adrenocortical carcinoma (H295R) in vitro cell assay. *Toxicology Letters*, 205(1), pp.62-68.
- Kunacheva, C., Fujii, S., Tanaka, S., Seneviratne, S., Lien, N., Nozoe, M., Kimura, K., Shivakoti, B. and Harada, H., 2012. Worldwide surveys of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in water environment in recent years. *Water Science and Technology*, 66(12), pp.2764-2771.
- Lehmler, H., 2005. Synthesis of environmentally relevant fluorinated surfactants—a review. *Chemosphere*, 58(11), pp.1471-1496.
- Lechner, M. and Knapp, H., 2011. Carryover of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) from Soil to Plant and Distribution to the Different Plant Compartments Studied in Cultures of Carrots (*Daucus carotasp.Sativus*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), and Cucumbers (*Cucumis Sativus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(20), pp.11011-11018.
- Li, K., Gao, P., Xiang, P., Zhang, X., Cui, X. and Ma, L., 2017. Molecular mechanisms of PFOA-induced toxicity in animals and humans: Implications for health risks. *Environment International*, 99, pp.43-54.

- Li, M., 2009. Toxicity of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid to plants and aquatic invertebrates. *Environmental Toxicology*, 24(1), pp.95-101.
- Li, Y., Gal, G., Makler-Pick, V., Waite, A., Bruce, L. and Hipsey, M., 2014. Examination of the role of the microbial loop in regulating lake nutrient stoichiometry and phytoplankton dynamics. *Biogeosciences*, 11(11), pp.2939-2960.
- Liao, C., Li, X., Wu, B., Duan, S. and Jiang, G., 2008. Acute Enhancement of Synaptic Transmission and Chronic Inhibition of Synaptogenesis Induced by Perfluorooctane Sulfonate through Mediation of Voltage-Dependent Calcium Channel. *Environmental Science & Technology*, 42(14), pp.5335-5341.
- Liu, G., Dhana, K., Furtado, J., Rood, J., Zong, G., Liang, L., Qi, L., Bray, G., DeJonge, L., Coull, B., Grandjean, P. and Sun, Q., 2018. Perfluoroalkyl substances and changes in body weight and resting metabolic rate in response to weight-loss diets: A prospective study. *PLOS Medicine*, 15(2), p.e1002502.
- Liu, G., Zhang, S., Yang, K., Zhu, L. and Lin, D., 2016. Toxicity of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid to *Escherichia coli*: Membrane disruption, oxidative stress, and DNA damage induced cell inactivation and/or death. *Environmental Pollution*, 214, pp.806-815.
- Liu, X., Jin, Y., Liu, W., Wang, F. and Hao, S., 2011. Possible mechanism of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate on the release of calcium ion from calcium stores in primary cultures of rat hippocampal neurons. *Toxicology in Vitro*, 25(7), pp.1294-1301.
- Long, Y., Wang, Y., Ji, G., Yan, L., Hu, F. and Gu, A., 2013. Neurotoxicity of Perfluorooctane Sulfonate to Hippocampal Cells in Adult Mice. *PLoS ONE*, 8(1), p.e54176.
- Luebker, D., Case, M., York, R., Moore, J., Hansen, K. and Butenhoff, J., 2005. Two-generation reproduction and cross-foster studies of perfluorooctanesulfonate (PFOS) in rats. *Toxicology*, 215(1-2), pp.126-148.
- Martin, J., Mabury, S. and O'Brien, P., 2005. Metabolic products and pathways of fluorotelomer alcohols in isolated rat hepatocytes. *Chemico-Biological Interactions*, 155(3), pp.165-180.
- Mhadhbi, L., Rial, D., Pérez, S. and Beiras, R., 2012. Ecological risk assessment of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) in marine environment using *Isochrysis galbana*, *Paracentrotus lividus*, *Siriella armata* and *Psetta maxima*. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(5), p.1375.



Miller, W. and Auchus, R., 2011. The Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology of Human Steroidogenesis and Its Disorders. *Endocrine Reviews*, 32(1), pp.81-151.

Mooradian, A., Morley, J. and Korenman, S., 1987. Biological Actions of Androgens. *Endocrine Reviews*, 8(1), pp.1-28.

Nabb, D., Szostek, B., Himmelstein, M., Mawn, M., Gargas, M., Sweeney, L., Stadler, J., Buck, R. and Fasano, W., 2007. In Vitro Metabolism of 8-2 Fluorotelomer Alcohol: Interspecies Comparisons and Metabolic Pathway Refinement. *Toxicological Sciences*, 100(2), pp.333-344.

Nelson, J., Hatch, E. and Webster, T., 2010. Exposure to Polyfluoroalkyl Chemicals and Cholesterol, Body Weight, and Insulin Resistance in the General U.S. Population. *Environmental Health Perspectives*, 118(2), pp.197-202.

O'Hagan, D., 2008. Understanding organofluorine chemistry. An introduction to the C–F bond. *Chem. Soc. Rev.*, 37(2), pp.308-319.

Ojo, A., Peng, C. and Ng, J., 2020. Combined effects and toxicological interactions of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances mixtures in human liver cells (HepG2). *Environmental Pollution*, 263, p.114182.

Olsen, G., Church, T., Larson, E., van Belle, G., Lundberg, J., Hansen, K., Burris, J., Mandel, J. and Zobel, L., 2004. Serum concentrations of perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in an elderly population from Seattle, Washington. *Chemosphere*, 54(11), pp.1599-1611.

Pan, G. and You, C., 2010. Sediment–water distribution of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in Yangtze River Estuary. *Environmental Pollution*, 158(5), pp.1363-1367.

Panaretakis, T., Shabalina, I., Grandér, D., Shoshan, M. and DePierre, J., 2001. Reactive Oxygen Species and Mitochondria Mediate the Induction of Apoptosis in Human Hepatoma HepG2 Cells by the Rodent Peroxisome Proliferator and Hepatocarcinogen, Perfluorooctanoic Acid. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 173(1), pp.56-64.

Pasquini, L., Munoz, J., Pons, M., Yvon, J., Dauchy, X., France, X., Le, N., France-Lanord, C. and Görner, T., 2014. Occurrence of eight household micropollutants in urban wastewater and their fate in a wastewater treatment plant. Statistical evaluation. *Science of The Total Environment*, 481, pp.459-468.

Post, G., Gleason, J. and Cooper, K., 2017. Key scientific issues in developing drinking water guidelines for perfluoroalkyl acids: Contaminants of emerging concern. *PLOS Biology*, 15(12), p.e2002855.

Public Health England, PFOS and PFOA Toxicological overview, Toxicology Department, CRCE, PHE, 2009, version 1.

Qu, J., Lu, C., Xu, C., Chen, G., Qiu, L., Jiang, J., Ben, S., Wang, Y., Gu, A. and Wang, X., 2016. Perfluorooctane sulfonate-induced testicular toxicity and differential testicular expression of estrogen receptor in male mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 45, pp.150-157.

Quinete, N., Wu, Q., Zhang, T., Yun, S., Moreira, I. and Kannan, K., 2009. Specific profiles of perfluorinated compounds in surface and drinking waters and accumulation in mussels, fish, and dolphins from southeastern Brazil. *Chemosphere*, 77(6), pp.863-869.

Rahman, M., Peldszus, S. and Anderson, W., 2014. Behaviour and fate of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in drinking water treatment: A review. *Water Research*, 50, pp.318-340.

Rebholz, S., Jones, T., Herrick, R., Xie, C., Calafat, A., Pinney, S. and Woollett, L., 2016. Hypercholesterolemia with consumption of PFOA-laced Western diets is dependent on strain and sex of mice. *Toxicology Reports*, 3, pp.46-54.

Reed, J., 2000. Mechanisms of Apoptosis. *The American Journal of Pathology*, 157(5), pp.1415-1430.

Ren, X., Zhang, Y., Guo, L., Qin, Z., Lv, Q. and Zhang, L., 2014. Structure–activity relations in binding of perfluoroalkyl compounds to human thyroid hormone T3 receptor. *Archives of Toxicology*, 89(2), pp.233-242.

Seacat, A., 2002. Subchronic Toxicity Studies on Perfluorooctanesulfonate Potassium Salt in Cynomolgus Monkeys. *Toxicological Sciences*, 68(1), pp.249-264.

Shan, G., Ye, M., Zhu, B. and Zhu, L., 2013. Enhanced cytotoxicity of pentachlorophenol by perfluorooctane sulfonate or perfluorooctanoic acid in HepG2 cells. *Chemosphere*, 93(9), pp.2101-2107.

Shankar, A., Xiao, J. and Ducatman, A., 2011. Perfluoroalkyl Chemicals and Chronic Kidney Disease in US Adults. *American Journal of Epidemiology*, 174(8), pp.893-900.

Sies, H., Berndt, C. and Jones, D., 2017. Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86(1), pp.715-748.

Son, H., Kim, S., Shin, H., Bae, H. and Yang, J., 2007. Perfluorooctanoic acid-induced hepatic toxicity following 21-day oral exposure in mice. *Archives of Toxicology*, 82(4), pp.239-246.

Squadrone, S., Ciccotelli, V., Favaro, L., Scanzio, T., Prearo, M. and Abete, M., 2014. Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Italy: Analysis of two edible fish from Lake Maggiore. *Chemosphere*, 114, pp.181-186.

Takacs, M. and Abbott, B., 2006. Activation of Mouse and Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptors ( $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ ) by Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctane Sulfonate. *Toxicological Sciences*, 95(1), pp.108-117.

Tominaga, N., Kohra, S., Iguchi, T. and Arizono, K., 2004. Effects of Perfluoro Organic Compound Toxicity on Nematode *Caenorhabditis elegans* Fecundity. *JOURNAL OF HEALTH SCIENCE*, 50(5), pp.545-550.

Tomy, G., Pleskach, K., Ferguson, S., Hare, J., Stern, G., MacInnis, G., Marvin, C. and Loseto, L., 2009. Trophodynamics of Some PFCs and BFRs in a Western Canadian Arctic Marine Food Web. *Environmental Science & Technology*, 43(11), pp.4076-4081.

Vanden Heuvel, J., Thompson, J., Frame, S. and Gillies, P., 2006. 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- $\alpha$ . *Toxicological Sciences*, 92(2), pp.476-489.

Wan, H., Zhao, Y., Wei, X., Hui, K., Giesy, J. and Wong, C., 2012. PFOS-induced hepatic steatosis, the mechanistic actions on  $\beta$ -oxidation and lipid transport. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1820(7), pp.1092-1101.

Wang, F., Liu, W., Jin, Y., Dai, J., Yu, W., Liu, X. and Liu, L., 2010. Transcriptional Effects of Prenatal and Neonatal Exposure to PFOS in Developing Rat Brain. *Environmental Science & Technology*, 44(5), pp.1847-1853.

Wang, N., Szostek, B., Buck, R., Folsom, P., Sulecki, L. and Gannon, J., 2009. 8-2 Fluorotelomer alcohol aerobic soil biodegradation: Pathways, metabolites, and metabolite yields. *Chemosphere*, 75(8), pp.1089-1096.

Watkins, D., Jossion, J., Elston, B., Bartell, S., Shin, H., Vieira, V., Savitz, D., Fletcher, T. and Wellenius, G., 2013. Exposure to Perfluoroalkyl Acids and Markers of Kidney Function among Children and Adolescents Living near a Chemical Plant. *Environmental Health Perspectives*, 121(5), pp.625-630.

- Wen, B., Li, L., Liu, Y., Zhang, H., Hu, X., Shan, X. and Zhang, S., 2013. Mechanistic studies of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoic acid uptake by maize (*Zea mays* L. cv. TY2). *Plant and Soil*, 370(1-2), pp.345-354.
- Wielsøe, M., Long, M., Ghisari, M. and Bonefeld-Jørgensen, E., 2015. Perfluoroalkylated substances (PFAS) affect oxidative stress biomarkers in vitro. *Chemosphere*, 129, pp.239-245.
- Wu, P., Ding, C., Yan, M., Qian, B., Wang, W., Sun, P. and Zhao, J., 2019. Perfluorooctane sulfonate induces apoptosis via activation of FoxO3a and upregulation of proapoptotic Bcl-2 proteins in PC12 cells. *The Journal of Toxicological Sciences*, 44(10), pp.657-666.
- Xu, L., Krenitsky, D., Seacat, A., Butenhoff, J. and Anders, M., 2004. Biotransformation of N-Ethyl-N-(2-hydroxyethyl)perfluorooctanesulfonamide by Rat Liver Microsomes, Cytosol, and Slices and by Expressed Rat and Human Cytochromes P450. *Chemical Research in Toxicology*, 17(6), pp.767-775.
- Xu, M., Zhang, T., Lv, C., Niu, Q., Zong, W., Tang, J. and Liu, R., 2019. Perfluorodecanoic acid-induced oxidative stress and DNA damage investigated at the cellular and molecular levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 185, p.109699.
- Yang, X., Ye, C., Liu, Y. and Zhao, F., 2015. Accumulation and phytotoxicity of perfluorooctanoic acid in the model plant species *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Pollution*, 206, pp.560-566.
- Zeng, Z., Song, B., Xiao, R., Zeng, G., Gong, J., Chen, M., Xu, P., Zhang, P., Shen, M. and Yi, H., 2019. Assessing the human health risks of perfluorooctane sulfonate by in vivo and in vitro studies. *Environment International*, 126, pp.598-610.
- Zhang, L., Niu, J., Li, Y., Wang, Y. and Sun, D., 2013. Evaluating the sub-lethal toxicity of PFOS and PFOA using rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environmental Pollution*, 180, pp.34-40.
- Zhang, L., Niu, J., Wang, Y., Shi, J. and Huang, Q., 2014. Chronic effects of PFOA and PFOS on sexual reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Chemosphere*, 114, pp.114-120.
- Zhang, W., Zhang, D., Zagorevski, D. and Liang, Y., 2019. Exposure of *Juncus effusus* to seven perfluoroalkyl acids: Uptake, accumulation and phytotoxicity. *Chemosphere*, 233, pp.300-308.
- Zhao, H., Chen, C., Zhang, X., Chen, J. and Quan, X., 2011. Phytotoxicity of PFOS and PFOA to *Brassica chinensis* in different Chinese soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(5), pp.1343-1347.

Zhou QX, Hu XG. Huan Jing Ke Xue. 2007; Researching progresses in environmental pollution behavior, toxic effects and mechanisms of PFOS/PFOA 28(10), pp.2153-2162.

Zhou, L., Xia, M., Wang, L. and Mao, H., 2016. Toxic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA) on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Chemosphere*, 159, pp.420-425.