

全氟辛烷磺酸盐(PFOS)、全氟己烷磺酸盐(PFHS)和全氟丁烷磺酸盐(PFBS)对非洲爪蟾胚胎的发育毒性

韦荣国, 苏红巧, 秦占芬*

中国科学院生态环境研究中心环境化学和生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085

摘要: 全氟烷基磺酸盐(PFASs)在工业生产和生活中广泛应用, 某些 PFASs 已成为环境中普遍的污染物。鉴于对动物和人类的潜在毒性, 全氟辛烷磺酸盐(PFOS)已被禁用, 由一些半衰期相对较短的短链 PFASs(如全氟丁烷磺酸盐, PFBS)替代。虽然四碳的 PFBS 和六碳的全氟己烷磺酸盐(PFHS)已经广泛使用, 但目前对其毒性及其机制的了解很少。通过检测发育毒性和致畸性的非洲爪蟾胚胎致畸试验(FETAX), 得到 PFOS、PFHS 和 PFBS 半致死浓度(LC₅₀), 半致畸浓度(EC₅₀)和最小抑制生长浓度(MCIG), 比较研究了 3 种化合物的发育毒性。结果发现, PFOS 的 LC₅₀、EC₅₀ 和 MCIG 分别为 51.46、108.20 和 35 mg·L⁻¹。PFHS 和 PFBS 的 LC₅₀ 大于 100 mg·L⁻¹, 对胚胎形态和生长没有明显影响。PFASs 暴露引起非洲爪蟾胚胎运动行为异常。FETAX 结果表明, PFOS 急性发育毒性明显大于 PFHS 和 PFBS。

关键词: 非洲爪蟾; 全氟辛烷磺酸盐(PFOS); 全氟己烷磺酸盐(PFHS); 全氟丁烷磺酸盐(PFBS); 发育毒性

文章编号: 1673-5897(2012)5-542-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Developmental Toxicity of Perfluorooctane Sulfonate, Perfluorohexane Sulfonate and Perfluorobutane Sulfonate to *Xenopus* Embryos

Wei Rongguo, Su Hongqiao, Qin Zhanfen*

State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Received 30 June 2012 accepted 19 July 2012

Abstract: Due to wide application in various products, some of the perfluoroalkyl sulfonates (PFASs) have become ubiquitous pollutants in the environment. Considering the potential toxicity in animals and humans, perfluorooctane sulfonate (PFOS) has been banned. Short perfluorohexane sulfonate uoroalkyl chain chemicals with shorter half-life in animals and human have been introduced as substitutes, such as perfluorobutane sulfonate (PFBS). Although PFBS and perfluorohexane sulfonate (PFHS) have been widely used, their toxicity and mechanism are unclear. In this paper, a rapid, simple, and cost-effective method the frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (FETAX), was used to evaluate the developmental toxicity and teratogenicity. The developmental toxicity of PFOS, PFHS and PFBS were evaluated based on lethal concentrations (LC₅₀), teratogenic concentrations (EC₅₀) and minimum concentration to inhibit growth (MCIG). LC₅₀, EC₅₀ and MCIG for PFOS were 51.46, 108.20 and 35 mg·L⁻¹, respectively. LC₅₀ of PFHS and PFBS were both higher than 100 mg·L⁻¹, however, they did not significantly affect the morphology and growth of embryos. PFASs exposure induced the abnor-

收稿日期: 2012-06-30 录用日期: 2012-07-19

基金项目 “863”计划课题(2010AA065105); 国家自然科学基金项目(21077125); 环保公益专项(201108048)

作者简介: 韦荣国(1984-), 男, 硕士, 研究方向: 毒理学; E-mail: unwrong@gmail.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: qinzhafen@rcees.ac.cn

mal swimming behavior of embryos. The results of FETAX showed that the acute embryo toxicity of PFHS and PFBS are lower than that of PFOS.

Keywords: *Xenopus laevis*, perfluorooctane sulfonate, perfluorobutane sulfonate, perfluorohexane sulfonate, developmental toxicity

全氟辛烷磺酸盐(PFOS)和全氟己烷磺酸盐(PFHS)属于全氟烷基磺酸盐(PFASs)家族,已被广泛用于各种工业和生活产品,如防水织物、食品包装和不粘炊具等^[1]。考虑到对生物体和人类潜在的毒性,目前PFOS已被禁用^[2],由一些相似的疏油、疏水和防污性能的短链PFASs替代,如四碳的全氟丁烷磺酸盐(PFBS)^[2-5]。当前短链的PFASs替代品仍在继续生产和使用,并不断地释放到环境中,同时已进入环境的长碳链PFASs也将长期存在。最近研究表明,几乎所有的环境样品和人血清都含有PFASs,且其浓度有逐年增高的趋势^[6-7]。PFHS已经是继PFOS和全氟辛烷羧酸(PFOA)后第3个在普通人群血液样品中普遍检出的全氟化合物^[8-11],PFBS也在各类环境和人体样品中检出^[12]。

一些实验动物研究表明,PFOS具有生殖毒性、免疫毒性、神经内分泌毒性、肝脏毒性和发育神经毒性^[13-14],但是关于PFHS和PFBS的毒性信息较少。啮齿类动物研究结果表明高剂量的PFOS暴露能够引发迟发性神经毒性,甚至死亡^[15-16]。Shi等^[17]对斑马鱼胚胎的研究表明,PFOS具有发育毒性,能够改变相关基因的表达。Peden-Adams等^[18]报道,PFOS暴露增加来亨鸡脑发育不对称的概率,脾重和肝重增加,鸡冠臀长变长,右翅变短。Zhang等^[19]研究发现,PFOS暴露导致斑马鱼发育畸形,包括脊柱弯曲和脑坏死等。3M公司研究表明^[20],PFBS仅在高剂量下对大鼠的生殖和发育有影响。一些鸟类的研究表明,PFBS的急性毒性比PFOS低^[21]。Slotkin等^[22]研究表明,PFBS的毒性机制与PFOS不同。但目前有关作为替代品PFBS的毒性资料还不多,PFHS的资料也很少。因此,必须对PFOS、PFHS和PFBS的毒性进行的评估。

非洲爪蟾胚胎致畸试验(frog embryo teratogenesis assay-*Xenopus*, FETAX)是一种简便、快速检测发育毒性和致畸性的方法,适用于对单一化学物质、混合物和环境样品的检测,已广泛用于检测各种化学品或环境样品^[23]。中囊胚期之后的96 h是胚胎主要器官发生的重要时期,这段时间将非洲爪蟾胚胎暴露于有毒物质,根据胚胎的生长发育、畸形和死

亡情况,通过半致死浓度(LC₅₀)、半致畸浓度(EC₅₀)和抑制生长的最小浓度(MCIG)等参数来评价物质的发育毒性和致畸性。由于动物胚胎早期发育的高度保守性,因此由FETAX获得的测试物毒性数据可外推于其他动物和人。

本研究目的是利用FETAX,通过LC₅₀, EC₅₀和MCIG 3个终点指标,比较研究PFOS、PFHS和PFBS的发育毒性,评价短链PFASs替代PFOS的合理性,并通过对早期发育过程的观察,为PFASs发育神经毒性的进一步研究提供线索。

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器:体式显微镜(COIC公司),脱色摇床TS-1型(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

试剂:全氟辛烷磺酸盐(98%, Matrix Scientific公司,美国),全氟己烷磺酸盐(>98.0%, Sigma-Aldrich公司,美国),全氟丁基磺酸盐(98%, Tokyo KaSei Industry Co., Ltd, 日本),人绒毛膜促性腺激素(HCG, 烟台北方制药有限公司),半胱氨酸(北京索莱宝科技有限公司),HEPES (Sigma公司,美国),胎牛血清血清(HyClone公司,美国),硫酸庆大霉素(Amresco公司,美国),KCl、NaCl、CaCl₂、NaHCO₃、MgSO₄·CaSO₄·2H₂O、NaOH、HCl等化学试剂购自北京化工厂。

1.2 实验动物

本实验室饲养的非洲爪蟾成蛙,雄雌分养于盛有去氯自来水的玻璃缸内,水温(22±2)℃,自然光照射。用猪肝:玉米粉:大豆粉按60%:30%:10%比例配置的饲料喂食。1周2次,喂食2 h后重新换水。

雄性爪蟾冰冻10~15 min后,解剖,取出精巢,放入Testes培养基(47.0 mL的1x Ringers溶液中加入2.5 mL的胎牛血清和25 mg的硫酸庆大霉素)中,4℃保存。以0.8%的生理盐水配制HCG溶液,雌性爪蟾背部淋巴囊注射300~400 IU的HCG诱导产卵,大概12 h爪蟾开始产卵,将卵收集在150 mm的培养皿中,吸去多余溶液。将米粒大小的雄蛙精巢溶解在0.3 mL的Ringers溶液(6.6 g NaCl, 0.15 g KCl, 0.15 g CaCl₂, 0.05 g NaHCO₃溶解至1 L

蒸馏水中, pH 7.2 ~ 7.4) 中, 研碎, 使精子释放出来。立即将精子和卵混合, 放置 3 ~ 5 min 后, 加入 0.1x MMR 溶液(0.5844 g NaCl, 0.0149 g KCL, 0.012 g MgSO_4 , 0.0294 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 0.1192 g Hepes 溶解至 1L 蒸馏水中, pH 7.2 ~ 7.4), 静置 30 min 左右, 受精好的胚胎将会翻转, 黑色的动物极朝上。用 2% 的半胱氨酸(2.0 g 半胱氨酸溶解至 100 mL 蒸馏水中, pH 7.8 ~ 8.0) 脱膜, 7 ~ 8 min 后, 先用自来水洗 3 次, 然后用 0.1xMMR 洗 2 次, 胚胎最后放置在 0.1xMMR 溶液里, 室温下约 1 h 开始分裂成 2 个细胞。

1.3 FETAX 流程

体式显微镜下观察胚胎, 选择发育正常的中囊胚期(NF8)至肠胚早期(NF11)的胚胎, 随机移入直径 60 mm 的培养皿中。PFOS、PFHS 和 PFBS 的暴露浓度为 35、42、50、60、72、86 和 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。最终培养皿含 10 mL 溶液。设置空白对照组, 仅加 10 mL FETAX 溶液。每个剂量组需要 2 ~ 3 个平行培养皿, 每个培养皿中放入 25 个胚胎。每 24 h 换一次水, 死的胚胎及时取出, 用 3% 的福尔马林固定, 记录胚胎死亡数。96 h 后停止暴露, 将所有胚胎在 3% 的福尔马林中固定, 体式显微镜观察形态, 记录每个暴露组胚胎的死亡数, 畸形数, 测量胚胎体长。用来自 3 对蛙的胚胎重复 3 次实验。

1.4 统计分析

详细记录每个培养皿中胚胎的死亡、畸形和生长情况。用概率分析(probit analysis)计算 LC_{50} 和 EC_{50} , 用 T-test 分析 MCIG。数据分析使用 SPSS 20.0 版本(IBM, USA)进行统计。

2 结果(Results)

本实验空白对照组的平均死亡率为 4.57%, 平均畸形率为 6.15%, 结果符合 ASTM 关于 FETAX 的标准要求(ASM, 2004)。

结果如图 1 所示, PFOS、PFHS 和 PFBS 暴露导致非洲爪蟾胚胎死亡, 其中以 PFOS 暴露组的死亡率最高。在 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PFOS 暴露组, 其死亡率是 $(97.7 \pm 4.5)\%$, 几乎达到了 100%。经统计分析, PFOS 的 LC_{50} 是 51.46 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 95% 置信区间为 47.5 ~ 55.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。PFHS 和 PFBS 暴露组的死亡率明显小于 PFOS 暴露组, 在 35 和 42 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 暴露组, 都没有观察到胚胎明显死亡。PFHS 和 PFBS 明显发生死亡是在 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 暴露组, 分别达到了 15.20% 和 13.78%。随着暴露浓度的增大, 胚胎的死

亡率逐渐增加, PFHS 暴露组最高死亡率是在 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组, 为 25.60%。PFBS 暴露组最高死亡率发生在 86 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 为 20%。由于所有的 PFHS 和 PFBS 暴露组, 死亡率都没有超过 50%, 因此根据半限度实验, 可认为 PFHS 和 PFBS 的 LC_{50} 大于 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

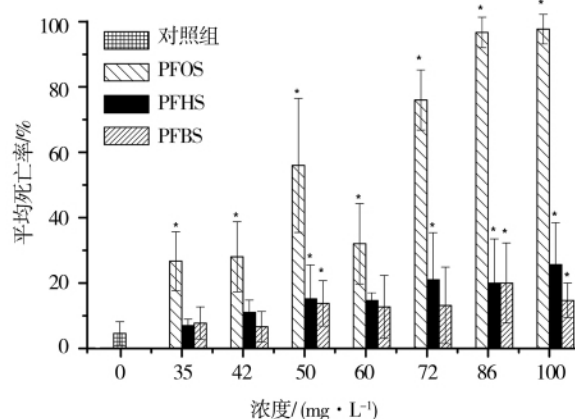


图1 PFOS、PFHS 和 PFBS 暴露对非洲爪蟾胚胎死亡率的影响(与对照组相比, * 有显著差异, $p < 0.05$)

Fig. 1 Lethal effects of PFOS, PFHS and PFBS on *X. laevis* embryo

PFOS、PFHS 和 PFBS 暴露导致非洲爪蟾胚胎出现各种畸形, PFOS 暴露组最为明显, 畸形种类包括脊柱畸形、尾部弯曲、背腹鳍畸形、腹部畸形和头部肿大等(图 2)。其中尾部和腹部对暴露最为敏感。

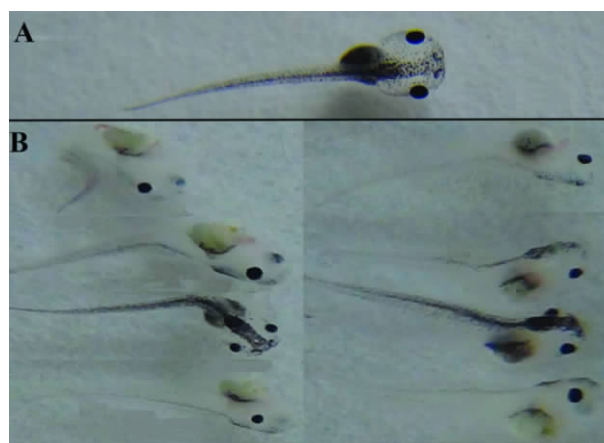


图2 PFOS、PFHS 和 PFBS 暴露导致的各种畸形(A: 对照组, B: 处理组)

Fig. 2 Malformations caused by PFOS, PFHS and PFBS exposure

如图 3 所示, PFOS 的最低观察无效应剂量是

72 mg·L⁻¹。PFOS在低剂量引起的畸形不明显,在86 mg·L⁻¹剂量下才引起明显畸形,最高浓度(100 mg·L⁻¹)下畸形率达到了90.48% (±17.48%),几乎达到了100%的畸形。PFOS的EC₅₀为108.20 mg·L⁻¹,95%置信区间为85.16 ~ 193.33 mg·L⁻¹。PFOS在72 mg·L⁻¹时畸形率为15.44%,但是86 mg·L⁻¹的时候高达73.73%,突然上升的畸形率可能与相应剂量下胚胎死亡率上升较快有关。

PFHS和PFBS引起畸形的毒性比PFOS小,它们的最低观察无效应剂量分别是60和86 mg·L⁻¹。在PFHS和PFBS暴露组,最高的畸形率都发生在100 mg·L⁻¹,分别为21.71%和17.60%。和对照组相比,72和100 mg·L⁻¹的PFHS暴露组有明显的畸形,100 mg·L⁻¹ PFBS暴露组的畸形也有显著性。由于在所有的暴露组,PFHS和PFBS的畸形率都没用达到50%,因此不能计算出它们的EC₅₀。

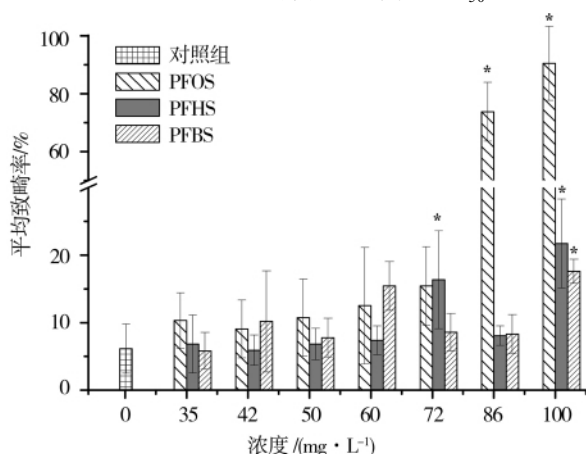


图3 PFOS、PFHS和PFBS暴露诱导非洲爪蟾胚胎产生畸形(与对照组相比,*有显著差异, $p < 0.05$)

Fig. 3 Malformation rates in PFOS-, PFHS- and PFBS-exposed groups compared to control

如图4,在所有的暴露组,PFOS对非洲爪蟾的生长抑制都很明显,MCIG为35 mg·L⁻¹。PFHS和PFBS暴露对胚胎的生长没有显著影响。

除了对胚胎的死亡、畸形以及生长有影响外,本实验还观察到暴露PFASs引起非洲爪蟾胚胎运动行为异常。和对照组相比,从受精后第3天,开始观察到PFASs暴露组的蝌蚪自发运动更加活跃,持续时间更长。4 d后,正常的蝌蚪能自由游动和转弯,然而,暴露组的一些蝌蚪不停地做转圈运动,而不是直线运动。随着暴露浓度和暴露时间的增加,异常的运动行为更加明显。本研究没有对这些异常的运动行为进行定量分析,相应工作将在下一步研究中进行。

动行为进行定量分析,相应工作将在下一步研究中进行。

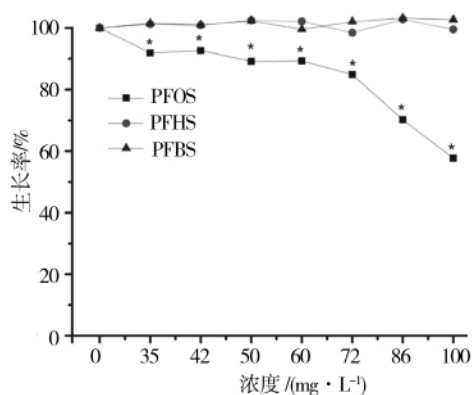


图4 PFOS、PFHS和PFBS暴露对胚胎生长的影响(与对照组相比,*有显著差异, $p < 0.05$)

Fig. 4 Effects of PFOS, PFHS and PFBS exposure on *Xenopus laevis* larval growth

胚胎死亡率、畸形率以及抑制生长的最小浓度结果表明,PFOS急性发育毒性明显大于PFHS和PFBS,而PFHS的急性发育毒性略大于PFBS。

3 讨论 (Discussion)

以前有文献报道,PFOS暴露非洲爪蟾胚胎的LC₅₀为15.6 mg·L⁻¹,EC₅₀范围为12.1 ~ 17.6 mg·L⁻¹ [24]。而本研究中PFOS暴露非洲爪蟾胚胎的LC₅₀和EC₅₀分别为51.46和108.20 mg·L⁻¹。我们的研究与文献报道的不同可能主要源于实验室间非洲爪蟾敏感性的差异。我们的工作中发现,来自不同实验室的非洲爪蟾胚胎的孵化率和对污染物的敏感性确实存在差异,这可能与种蛙的饲养条件及卵和胚胎的质量有关。事实上,不同实验室间实验动物的差异及实验结果的差异是困扰动物实验研究者的一大问题 [25-26]。

通过对LC₅₀、EC₅₀以及MCIG的统计分析,得出PFOS的发育毒性明显高于PFHS和PFBS,PFHS的发育毒性略大于PFBS。PFASs的急性毒性和碳链的链长有关,随着碳链的增长,PFASs的毒性及稳定性增大 [27-28]。水蚤、鱼和细菌的几个急性毒性研究表明,PFBS的LC₅₀比PFOS高出2~3个数量级 [24,29-30]。体外实验表明,相对于PFBS,PFOS对PC12细胞分化的影响更明显 [22]。本实验得出的结果和这些文献中的结果一致,都表明PFOS的急性毒性高于PFHS和PFBS。因此,从急性毒性的角度,可认为PFBS替代PFOS是合理的。

本实验还观察到暴露 PFASs 引起胚胎运动行为异常,Palmer 等^[24]之前用 FETAX 研究 PFOS 对非洲爪蟾胚胎的急性毒性,但是并没有报道 PFOS 能引起运动行为异常,也许是由于在 Palmer 等的研究过程中,非洲爪蟾胚胎对 PFOS 很敏感,在能引起行为异常以前就已经死亡。最近鱼类的研究也表明,PFOS 引起行为异常,导致鱼过度的游动^[31-32]。Huang 等^[31]以 $0 \sim 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PFOS 暴露受精后 6 h 的斑马鱼胚胎至 120 h,对斑马鱼的运动行为进行分析。结果发现,暴露 4 d 后斑马鱼游泳的基础率提高,受精后 6 h 的斑马鱼幼体暴露 PFOS ($0.25 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 仅 1 h,其游动就随着浓度的增加而加快。Wang 等^[32]用 0.5 、 50 和 $250 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PFOS 暴露受精后 8 h 的斑马鱼胚胎 5 个月,在子代发现斑马鱼游泳速度极度活跃。Butenhoff 等^[33]研究发现,PFOS 使大鼠的运动活性增强,习惯化能力降低。我们实验表明,PFASs 促进蝌蚪的运动行为,和以前一些斑马鱼以及啮齿类研究结果一致。

根据我们目前所了解,这是首次在两栖类发现 PFASs 导致运动行为异常。事实上,非洲爪蟾是研究神经发育和感觉-运动系统相互作用的理想实验模型^[34-35]。非洲爪蟾作为发育生物学经典的模式动物,可随时进行人工诱导排卵,繁殖量大,体外发育,易于观察胚胎发育各个阶段的变化,发育迅速。因此,可以通过暴露污染物,能快速观察其对非洲爪蟾蝌蚪运动行为的影响。观察到运动行为有影响之后,更重要的是对污染物导致运动行为异常的机制进行研究。非洲爪蟾胚胎期神经系统和行为特别简单,其脊髓仅仅由 10 种神经元组成,而且功能都已明确^[36]。关于感觉和运动系统发育功能的很多研究,如视-前庭神经网络和脊髓运动神经环路研究,都表明非洲爪蟾是研究感觉-运动的一个非常优秀模型。非洲爪蟾胚胎期简单的神经系统,使其成为研究脊髓神经回路调控节律性运动行为的理想模型,生物学领域在这方面已经积累了大量的背景资料,可以很好地用于研究中枢神经网络、感觉-运动回路功能以及生物应对复杂环境产生有效反应^[37-39]。因此,此模型可以用于研究污染物对运动行为的影响,特别是对机制的研究。

通讯作者简介: 秦占芬(1971—),女,环境科学博士,副研究员,主要研究方向为毒理学。

参考文献:

- [1] Paul A G, Jones K C, Sweetman A J. A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(2): 386 - 392
- [2] Kannan K, Choi J W, Iseki N, et al. Concentrations of perfluorinated acids in livers of birds from Japan and Korea [J]. *Chemosphere*, 2002, 49(3): 225 - 231
- [3] Ostertag S K, Chan H M, Moisey J, et al. Historic dietary exposure to perfluorooctane sulfonate, perfluorinated carboxylates, and fluorotelomer unsaturated carboxylates from the consumption of store-bought and restaurant foods for the Canadian population [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57 (18): 8534 - 8544
- [4] Martin J W, Asher B J, Beesoon S, et al. PFOS or Pre-FOS? Are perfluorooctane sulfonate precursors (Pre-FOS) important determinants of human and environmental perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure? [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2010, 12 (11): 1979 - 2004
- [5] Renner R. The long and the short of perfluorinated replacements [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(1): 12 - 13
- [6] Wilhelm M, Bergmann S, Dieter H H. Occurrence of perfluorinated compounds (PFCs) in drinking water of North Rhine - Westphalia, Germany and new approach to assess drinking water contamination by shorter-chained C4-C7 PFCs [J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2010, 213(3): 224 - 232
- [7] Cassone C G, Viengtha V, Suzanne Chiu, et al. In ovo effects of perfluorohexane sulfonate and perfluorohexanoate on pipping success, development, mRNA expression, and thyroid hormone levels in chicken embryos [J]. *Toxicological Sciences*, 2012, 127(1): 216 - 224
- [8] Calafat A M, Wong L Y, Kuklanyik Z, et al. Polyfluoroalkyl chemicals in the U.S. population: Data from the national health and nutrition examination survey (NHANES) 2003-2004 and comparisons with NHANES 1999-2000 [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2007, 115(11): 1596 - 1602
- [9] Olsen G W, Mair D C, Church T R, et al. Decline in perfluorooctanesulfonate and other polyfluoroalkyl chemicals in American Red Cross adult blood donors, 2000-2006 [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(13): 4989 - 4995
- [10] Haug L S, Thomsen C, Becher G. Time trends and the influence of age and gender on serum concentrations of

- perfluorinated compounds in archived human samples [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43 (6): 2131 – 2136
- [11] Spliethoff H M, Tao L, Shaver S M, et al. Use of new-born screening program blood spots for exposure assessment: Declining levels of perfluorinated compounds in New York state infants [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(14): 5361 – 5367
- [12] European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts [J]. *The EFSA Journal*, 2008, 653: 1 – 131
- [13] Lau C, Anitole K, Hodes C, et al. Perfluoroalkyl acids: A review of monitoring and toxicological findings [J]. *Toxicological Sciences*, 2007, 99(2): 366 – 394
- [14] Johansson N, Eriksson P, Viberg H. Neonatal exposure to PFOS and PFOA in mice results in changes in proteins which are important for neuronal growth and synaptogenesis in the developing brain [J]. *Toxicological Sciences*, 2009, 108(2): 412 – 418
- [15] Luebker D J, Case M T, York R G, et al. Two - generation reproduction and cross-foster studies of perfluorooctanesulfonate (PFOS) in rats [J]. *Toxicology*, 2005, 215(1 - 2): 126 – 148
- [16] Luebker D J, York, R G, Hansen K J, et al. Neonatal mortality from in utero exposure to perfluorooctane-sulfonate (PFOS) in Sprague-Dawley rats: Dose-response, and biochemical and pharmacokinetic parameters [J]. *Toxicology*, 2005, 215(1-2): 149 – 169
- [17] Shi X, Du Y, Lam P K, et al. Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2008, 230(1): 23 – 32
- [18] Peden-Adams M M, Stuckey J E, Gaworecki K M, et al. Developmental toxicity in white leghorn chickens following in ovo exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) [J]. *Reproductive Toxicology*, 2009, 27(3 - 4): 307 – 318
- [19] Zhang L, Li Y Y, Chen T, et al. Abnormal development of motor neurons in perfluorooctane sulphonate exposed zebrafish embryos [J]. *Ecotoxicology*. 2011, 20(4): 643 – 652
- [20] Lieder P H, Chang S C, York R G, et al. Toxicological evaluation of potassium perfluorobutanesulfonate in a 90-day oral gavage study with Sprague-Dawley rats [J]. *Toxicology*, 2009, 255(1 - 2): 45 – 52
- [21] Newsted J L, Beach S A, Gallagher S P, et al. Acute and chronic effects of perfluorobutane sulfonate (PFBS) on the mallard and northern bobwhite quail [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 54(3): 535 – 545
- [22] Slotkin T A, MacKillop E A, Melnick R L, et al. Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled in vitro [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2008, 116(6): 716 – 722
- [23] Fort D J, McLaughlin D W, Rogers R L, et al. Evaluation of the developmental toxicities of ethanol, acetaldehyde, and thioacetamide using FETAX [J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 2003, 26(1): 23 – 34
- [24] Palmer S J, Krueger H O. PFOS: A frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (FETAX) [M]. Project No. 454A-116. EPA Docket AR226-1030a057, Wildlife International, Ltd., Easton, MD, 2001
- [25] Stokes W S. Selecting appropriate animal models and experimental designs for endocrine disruptor research and testing studies [J]. *ILAR Journal*, 2004, 45(4): 387 – 393
- [26] Lutz I, Kloas W, Springer T A, et al. Development, standardization and refinement of procedures for evaluating effects of endocrine active compounds on development and sexual differentiation of *Xenopus laevis* [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008, 390 (8): 2031 – 2048
- [27] Hu W Y, Jones P D, Upham B L, et al. Inhibition of gap junctional intercellular communication by perfluorinated compounds in rat liver and dolphin kidney epithelial cell lines in vitro and sprague - dawley rats in vivo [J]. *Toxicological Sciences*, 2002, 68(2): 429 – 436
- [28] U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). Proposal for Perfluorinated Compounds Class Study [M]. Washington DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Chemical Nomination and Selection, 20460, 2003
- [29] Ji K, Kim Y, Oh S, et al. Toxicity of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid on freshwater macroinvertebrates (*Daphnia magna* and *Moina macrocopa*) and fish (*Oryzias latipes*) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(10): 2159 – 2168
- [30] Rosal R, Rodea-Palomares I, Boltes K, et al. Ecotoxicological assessment of surfactants in the aquatic environment: Combined toxicity of docusate sodium with chlorinated pollutants [J]. *Chemosphere*, 2010, 81 (2): 288 – 293
- [31] Huang H H, Huang C J, Wang L J, et al. Toxicity, uptake kinetics and behavior assessment in zebrafish em-

- bryos following exposure to perfluorooctanesulphonic acid (PFOS) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 98(2): 139 – 147
- [32] Wang M, Chen J, Lin K, et al. Chronic zebrafish PFOS exposure alters sex ratio and maternal related effects in F1 offspring [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(9): 2073 – 2080
- [33] Butenhoff J L, Ehresman D J, Chang S C, et al. Gestational and lactational exposure to potassium perfluorooctanesulfonate (K^+ PFOS) in rats: Developmental neurotoxicity [J]. *Reproductive Toxicology*, 2009, 27 (3-4): 319 – 330
- [34] Sillar K T, Reith C A, McDearmid J R. Development and aminergic neuromodulation of a spinal locomotor network controlling swimming in *Xenopus* larvae [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1998, 860(1): 318 – 332
- [35] Straka H, Simmers J. *Xenopus laevis*: An ideal experimental model for studying the developmental dynamics of neural network assembly and sensory-motor computations [J]. *Developmental Neurobiology*, 2012, 72(4): 649 – 663
- [36] Roberts A, Li W C, Soffe S R. A functional scaffold of CNS neurons for the vertebrates: The developing *Xenopus laevis* spinal cord [J]. *Developmental Neurobiology*, 2012, 72(4): 575 – 584
- [37] Li Y, Jin YH. Effects of perfluorooctanesulfonylsulfonate on glutamate concentration of central nervous system in rats [J]. *Journal of Health Toxicology*, 2004, 18 (4): 232 – 234
- [38] Li W C, Soffe S R, Wolf E, et al. Persistent responses to brief stimuli: Feedback excitation among brainstem neurons [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2006, 26 (15): 4026 – 4035
- [39] Sautois B, Soffe S R, Li W C, et al. Role of type - specific neuron properties in a spinal cord motor network [J]. *Journal of Computational Neuroscience*, 2007, 23 (1): 59 – 77 ◆