



ACADÉMIE NATIONALE DE PHARMACIE

SANTÉ PUBLIQUE - MÉDICAMENT - PRODUITS DE SANTÉ - BIOLOGIE - SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

Fondée le 3 août 1803 sous le nom de Société de Pharmacie de Paris

Reconnue d'utilité publique le 5 octobre 1877

PARABÈNES & MÉDICAMENTS : UN PROBLÈME DE SANTÉ PUBLIQUE ?

**Recommandations examinées en séance restreinte le 6 mars
et adoptées par le Conseil du 22.05.2013**

INTRODUCTION

Les parabènes, conservateurs efficaces utilisés dans divers types de produits (aliments, cosmétiques, médicaments) sont à l'origine de controverses scientifiques au même titre (ou presque) que le bisphénol A ou les phtalates.

Les inquiétudes des consommateurs alimentées par les titres « à la une » de la presse ne devraient pas entraîner une substitution hâtive par d'autres conservateurs dont on ne connaît pas les effets à long terme. Toutefois, ne doit-on rien faire pour les limiter et ceci, au détriment de la santé des nouvelles générations ? Tel est le problème posé.

RECOMMANDATIONS

Considérant que les parabènes ou esters de l'acide p-hydroxybenzoïque :

- sont utilisés depuis 1920, à juste titre, comme conservateurs alimentaires mais également dans les cosmétiques et dans certains médicaments,
- sont pour certains (méthyle, éthyle), des composés naturels ubiquitaires au même titre que l'acide leur ayant donné naissance,
- sont rapidement métabolisés par des estérases lorsqu'absorbés par voie orale mais aussi lors de leur pénétration cutanée ainsi que l'ont démontré de nombreuses études dont certaines, très récentes et, de ce fait, rarement concentrés dans l'organisme [1,2],
- présentent une faible activité œstrogénique qui est de 10 000 (pour les parabènes aux chaînes les plus longues, butyle, isobutyle) à 100 000 fois inférieure (pour les parabènes aux chaînes les plus courtes méthyle et éthyle) à celle de l'estradiol,
- n'ont démontré chez le rongeur (excepté les parabènes à chaînes longues), ni activité utéroproliférative, ni activité sur le système reproducteur mâle,
- sont présents, pour les méthyle et propyle, à des concentrations contrôlées très faibles dans les médicaments, eux-mêmes généralement absorbés sur une courte période, excepté pour certaines maladies chroniques,

Considérant également que :

- les parabènes existent aussi à l'état naturel dans certains aliments (mûres, orge, fraise, cassis, vanille, carotte ou oignon), ou dans leurs dérivés (jus de raisin, vinaigre de vin...), dans les produits fabriqués par les abeilles (propolis, gelée royale..) mais également dans le corps humain (précurseur du coenzyme Q10),
- leur présence retrouvée dans des mastectomies est plutôt imputable à l'usage de déodorants ou crèmes dermiques qu'à l'absorption de médicaments,
- même dans ce cas, aucune relation de cause à effet n'a pu être formellement mise en évidence entre leur pénétration et la survenue de cancers [3,4],
- des études récentes chez le rat juvénile avec les méthyl et propyl parabènes n'ont pas montré d'effets délétères sur son développement [5],

Considérant néanmoins que :

- les dernières études réalisées dans le domaine des perturbateurs endocriniens ont montré que ceux-ci nécessitaient une approche particulière des relations dose-effet [6]. Ainsi :
 - les parabènes sont suspectés d'agir comme les substances cancérigènes, même à très faible dose,
 - les parabènes pourraient provoquer à faible dose des effets plus importants, voire opposés, à ceux observés à fortes doses (effets non monotones).
- l'effet des mélanges des perturbateurs endocriniens qui ont souvent des mécanismes d'action différents sont moins prévisibles que lorsque les substances du mélange ont le même mécanisme d'action (action synergique),
- à certaines périodes critiques (période prénatale, périnatale, puberté), l'organisme serait plus sensible à ces substances (fenêtre d'exposition),
- les parabènes, comme d'autres perturbateurs endocriniens, pourraient avoir des effets sur la descendance.

L'Académie nationale de Pharmacie recommande :

- de ne pas prendre des mesures précipitées, compte tenu du rapport bénéfice/risque en leur faveur, pour en interdire d'une façon générale, l'usage dans les médicaments qui en renferment, sous peine d'en altérer la conservation et entraîner éventuellement des effets secondaires dus aux bactéries et champignons susceptibles de se développer,
- de veiller toutefois, chaque fois que cela est envisageable, à développer des formulations alternatives, ou des formes à usage unique, afin d'éviter l'ajout de conservateurs,
- d'évaluer au cas par cas, chez les femmes enceintes, le bénéfice/risque de l'utilisation de médicaments contenant des parabènes,
- de prendre en considération le fait que les jeunes enfants étant plus sensibles à l'action éventuelle des parabènes, il est souhaitable, pour en limiter l'absorption, de favoriser la présentation des médicaments pédiatriques liquides sous forme de doses unitaires, le cas échéant stériles prêtes à l'emploi,
- de s'assurer, par des méthodes appropriées, lors du développement de tout nouveau médicament, de la nécessité de l'usage de conservateurs (et des parabènes en particulier) dans la formulation, et de les limiter à la quantité minimale efficace pour assurer au patient, qualité et sécurité du médicament pendant toute sa durée d'utilisation,

- de se conformer à l'essai d'efficacité de conservation antimicrobienne, tel que figurant dans la Pharmacopée Européenne, pour tout nouveau produit qui nécessiterait l'ajout d'un conservateur afin de déterminer sa concentration minimale et de privilégier les conservateurs ayant déjà fait la preuve de leur innocuité.

Bibliographie

- [1] Lobemeier C., Tschoetschel C., Westie S., Heymann E., Hydrolysis of parabenes by extracts from differing layers of human skin. *Biol Chem.* 1996; 377 (10): 647-51
- [2] Aubert N., Ameller T., Legrand J.-J., Systemic exposure to parabens: pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [14C]-methyl-, propyl- and butylparaben in rats after oral, topical or subcutaneous administration. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50 (3-4): 445-54
- [3] Darbre P.-D., Aljarrah A., Miller W.-R., Coldham N.-G., Sauer M.-J., Pope G.-S., Concentrations of parabens in human breast tumours. *J Appl Toxicol.* 2004; 24 (1): 5-13
- [4] Barr L., Metaxas G., Harbach C.-A.-J., Savoy L.-A., Darbre P., Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. *J Applied Toxicoly.* 2012; 32 (3): 219-32
- [5] Afssaps, Propyl paraben / 8 week postweaning juvenile toxicity study with 26-week treatment free period in male Wistar rat by the oral route (gavage). Abstract 2359 SOT Annual Meeting 2012. San Francisco
- [6] Les cahiers de la Recherche, Santé, Environnement, Travail. Décembre 2012. Anses Éditions



ACADÉMIE NATIONALE DE PHARMACIE

SANTÉ PUBLIQUE - MÉDICAMENT - PRODUITS DE SANTÉ - BIOLOGIE - SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

Fondée le 3 août 1803 sous le nom de Société de Pharmacie de Paris

Reconnue d'utilité publique le 5 octobre 1877

PARABÈNES & MÉDICAMENTS : UN PROBLÈME DE SANTÉ PUBLIQUE ?

Rapport rédigé par le Groupe de Travail « Parabènes » animé par Claude MONNERET.

Membres : François CHAST, Jean-Claude CHAUMEIL, Anne CARPENTIER, Dominique PRADEAU, Véronique PLANAS, Yves ROCHÉ.

LES DONNÉES

Les parabènes sont considérés comme des perturbateurs endocriniens au même titre que le bis-phénol A et les phtalates. Selon la Commission européenne, un perturbateur endocrinien (PE) est une substance étrangère à l'organisme qui produit des effets pathologiques sur l'organisme ou sa descendance à la suite d'une modification de la fonction hormonale. Les PEs agissent donc en imitant l'action d'hormones naturelles telles que les œstrogènes ou la testostérone, en bloquant les récepteurs des hormones mais aussi, en agissant sur la synthèse, le transport, le métabolisme et l'excrétion des hormones, modifiant ainsi les concentrations d'hormones naturelles.

Mais tout d'abord que sont et où sont les parabènes ?

Les esters de l'acide p-hydroxybenzoïque, plus connus sous le nom de parabènes, sont, tout au moins pour les plus simples, les méthyl et éthyl parabènes, des produits naturels que l'on trouve à l'état naturel dans divers fruits (cassis, fraises, pêche..) et légumes. Ils sont utilisés comme conservateurs pour les aliments, leur emploi (méthyl, éthyl et propyl) comme additif alimentaire étant autorisé en Europe par la directive 95/2/EC.

Les parabènes sont également présents dans la plupart des produits cosmétiques (shampoings, mousses à raser, lotions hydratantes, gels..) mais le méthyl et le propyl parabènes se retrouvent aussi dans environ 400 médicaments en raison de leur efficacité antimicrobienne et de leur relative innocuité, notamment de leur très faible toxicité vis-à-vis des effets sensibilisants. Les parabènes ont un large spectre d'activité sur les bactéries, les moisissures, les levures et les champignons. Ils sont efficaces à faible concentration et les mélanges de parabènes ont un effet synergique. L'activité antifongique croît avec l'allongement de la chaîne alkyle.

Ainsi dans les cosmétiques, leur emploi (méthyl-, éthyl-, propyl-, butyl-, benzyl-, isobutyl- et isopropyl-) est autorisé jusqu'à une concentration de 0,8 % lorsqu'il s'agit d'un mélange et 0,4 % pour un parabène seul. Selon le rapport d'un groupe d'experts [1], compte tenu de la faible activité œstrogénique (facteur 240 à 330 000) de la plupart des parabènes, ceux-ci ne représentent pas un réel risque lorsqu'utilisés dans les cosmétiques. Quant à leur effet sensibilisant, ce panel d'experts estime qu'aux concentrations généralement utilisées, celui-ci se manifeste essentiellement sur un épiderme déjà lésé.

Selon la FDA, la consommation quotidienne **alimentaire** de méthyl parabène est de 0,6 mg par jour (0,01 mg/kg/j) et celle de propyl parabène de 0,78 mg par jour (0,013 mg/kg/j) pour une personne de 60 kg.

En plus des produits alimentaires, les parabènes sont aussi consommés via les cosmétiques et les produits d'hygiène et les médicaments. La **consommation totale de parabènes** est ainsi estimée à 75,78 mg/j ou 1,26 mg/kg/j pour une personne pesant 60 kg. La quantité supposée apportée par les aliments serait de l'ordre de 1 mg/j, celle des cosmétiques de 50 mg/j et, celle des médicaments de l'ordre de 25 mg/j. Dans le rapport INSERM 2011, l'exposition moyenne d'un adulte est également estimée à environ 78 mg/jour pour une personne de 60 kg.

Élimination des parabènes

Les parabènes sont facilement détruits par l'organisme ce qui explique la faible exposition systémique du consommateur. Les métabolites majoritairement excrétés dans l'urine sont l'acide para-hydroxybenzoïque (39 %), et les glucurono- et sulfo-conjugués de cet acide [2-4], les parabènes étant rapidement hydrolysés par les estérases présentes dans le foie mais aussi dans le derme [5].

L'élimination rapide des parabènes de l'organisme a été confirmée par une récente étude [6] consistant à exposer, de façon systématique, des rats aux parabènes, que ce soit par voie orale, dermique ou sous-cutanée. Des doses de 100 mg/kg de [¹⁴C]-méthyl, propyl et butyl parabènes leur ont été administrées de façon à déterminer pour chacun, la concentration plasmatique maximale et l'aire sous la courbe. Les données cinétiques ont montré que de telles petites molécules sont bien absorbées par voie orale, le méthyl surtout, suivi du propyl puis du butyl, et ne le sont que partiellement par voie dermique. Dans ce dernier cas l'ordre de pénétration est le même, ce qui est en contradiction avec le fait que la pénétration dermique serait fonction de la longueur de la chaîne.

Noms scientifiques et numéros de code CE des principaux parabènes

Parabènes	Nom scientifique	Code (ester/sel)
Éthylparabène	4-hydroxybenzoate d'éthyle	E214 / E215
Propylparabène	4-hydroxybenzoate de propyle	E216 / E217
Méthylparabène	4-hydroxybenzoate de méthyle	E218 / E219
Isobutylparabène	4-hydroxybenzoate d'isobutyle	
Isopropylparabène	4-hydroxybenzoate d'isopropyle	

De façon générale, les auteurs de cette étude font remarquer que, quelle que soit la voie d'administration, les organismes mammifères ne sont pas systématiquement exposés à de fortes concentrations en parabènes par accumulation, ce qu'avait souligné (*vide supra*) un rapport antérieur de l'Afssaps.

Néanmoins et de façon *a priori* contradictoire, plusieurs études antérieures avaient montré la présence de parabènes dans le sang après l'application de cosmétiques contenant ceux-ci, comme les antidéodorants [7,8]. Comme le font remarquer AUBERT *et al.* [6] l'expérience menée par les auteurs de cette précédente étude consistait à appliquer sur tout le corps, une crème renfermant 2 % de butyl parabène soit une dose totale de 34 g à 48 g de crème. Dans de telles conditions, [concentration très élevée de parabène (10 fois le taux maximal autorisée aux EU) à laquelle il faut ajouter la présence de 2 % de dibutyl- et de 2 % de diethylphtalates], il est probable que les systèmes de métabolisation/détoxification enzymatique aient été saturés d'autant que les estérases de la peau sont moins actives que celles du foie [9].

Activité œstrogénique et utérotrrophique des parabènes

En ce qui concerne l'activité œstrogénique des parabènes, plusieurs études menées *in vitro* concluent que ces effets sont faibles surtout en ce qui concerne le méthyl et l'éthyl parabène. [10-13]. Ainsi lors de divers essais d'affinité de liaison relative avec le récepteur aux œstrogènes [11], soit dans des cultures de cellules MCF-7, soit chez le rat, les quatre parabènes les plus utilisés (méthyl, éthyl, propyl et butyl parabène) se sont avérés être de faibles œstrogéniques, le plus actif étant le butyl, toutefois 10 000 fois moins puissant que le 17β-œstradiol. Il en est de même pour l'affinité de liaison aux récepteurs ER alpha et beta *in vitro*, les parabènes aux chaînes les plus longues montrant la plus grande affinité [12]. Cette plus grande affinité des parabènes aux chaînes les plus longues comme le n-butyl puis de l'isobutyl a été démontrée par plusieurs études d'inhibition compétitive par rapport à l'œstradiol vis-à-vis du récepteur aux œstrogènes [13-15].

Ce sont des résultats sensiblement identiques qui ont été observés lors d'études *in vivo* chez le rat immature [10] ou la souris immature [17-19].

Plusieurs études menées chez le rat Wistar immature ont montré que, lors de ces essais utéro-trophiques, seuls les butyl, isobutyl et benzyl parabène provoquent une augmentation du poids de l'utérus confirmant que seuls les parabènes à chaîne longue présentent un effet œstrogénique. De leur côté les méthyl et éthyl parabènes et l'acide p-hydroxybenzoïque n'ont aucun effet sur le poids de cet organe.

Parabènes et cancer ?

Grande interrogation lorsqu'une première étude menée en 2004 par P. DARBRE [20] avait mis en évidence la présence de cinq parabènes les plus utilisés dans la graisse de carcinomes mammaires provenant de mastectomies. Cette étude devait provoquer un vif débat scientifique, la question étant de savoir si ces parabènes étaient à l'origine des cancers examinés, comme provenant d'usage répété de déodorants renfermant des parabènes. Du fait que cette étude comportait peu d'échantillons et pas de témoins, nombreuses furent les critiques.

Début 2012, la même équipe [21] rapportait une seconde étude consistant à mesurer les concentrations de cinq parabènes différents dans des tissus de cancer du sein provenant de 40 mastectomies. Tous ont été retrouvés à des concentrations de 16,8 ng pour le n-propyl-, 5,8 ng pour le n-butyl-, 3,4 ng pour l'éthyl- et 2,1 ng pour l'isobutyl-parabène. Le rôle de ces parabènes n'a toutefois pas pu être démontré et, comme le soulignent les auteurs, sept patientes sur les 40 n'avaient jamais utilisé de déodorants corporels. De même, aucune corrélation n'a pu être établie entre les concentrations en parabènes et l'âge des patientes, la localisation de la tumeur ou encore la nature ER+ ou ER- des cancers examinés.

La question qui se pose est donc de comprendre pourquoi de tels parabènes se retrouvent dans une tumeur mammaire, surtout chez les sept femmes n'ayant jamais utilisé de déodorants ? Selon Harvey et Everett [22] une telle présence ne peut pourtant provenir que d'une absorption cutanée, les parabènes étant rapidement hydrolysés par les estérases intestinale et hépatique, lorsque absorbés par voie orale. D'autres sources comme des crèmes de beauté, des lotions utilisées fréquemment pourraient en être la cause. Selon ces mêmes auteurs, à ce stade, on ne peut incriminer les parabènes en tant que carcinogéniques, sans autre preuve.

Des éléments de réponse semblent avoir été rapportés dans deux publications récentes. L'une émane d'un groupe libanais [23] dont l'objectif était de déterminer le métabolisme des parabènes dans des cultures de cellules de cancer du sein, MCF7. Ni le méthyl, ni le butyl ni le benzyl parabène ne sont métabolisés dans ces cultures, cette stabilité pouvant expliquer leur accumulation dans le cancer du sein. L'autre élément de réponse émane du groupe de P. DARBRE [24] qui a examiné s'il existait un lien entre les parabènes et d'éventuelles propriétés carcinogéniques. Si ces parabènes ne semblent pas susceptibles de transformer des cellules épithéliales normales du sein en cellules tumorales, en revanche, ils provoquent, à de très faibles concentrations, du même ordre que dans les tumeurs précédemment observées, une forte augmentation du nombre de colonies au sein de culture de cellules non tumorigènes MCF-10A immortalisées. La capacité de cellules ancrage-dépendantes que sont ces dernières à se multiplier dans des conditions ancrage-indépendantes représente un bon facteur prédictif de la formation de tumeurs *in vivo* et puisque les cellules MCF610A ne se multiplient pas dans de telles conditions, les auteurs en concluent que les parabènes ont la capacité de modifier leur phénotype. Un tel lien entre parabènes et carcinogénèse mammaire est nouveau et mérite d'être confirmé.

Comme le soulignent les auteurs, bien que les parabènes se soient antérieurement révélés négatifs lors du test classique d'Ames, certaines publications [25] font toutefois état, soit de survenue de fibroadénome mammaire chez le rat lorsque celui-ci est en contact pendant plus de 52 semaines avec du méthyl parabène, soit de dommages de l'ADN [26, 27] liés aux parabènes.

Les parabènes sont-ils cancérigènes ou non ? La question semble sans réponse formelle à ce jour.

Substitution des parabènes

Les possibilités de substitution des parabènes par d'autres conservateurs sont actuellement limitées, car de nombreux autres conservateurs ne sont pas aussi efficaces et ne présentent pas une aussi bonne tolérance et autant de données de sécurité. Ceux-ci ont d'ailleurs remplacé d'autres conservateurs comme le sucre, source de caries dentaires, ou l'alcool dont les effets toxiques sont bien connus.

Qu'en est-il d'autres conservateurs comme le phénoxyéthanol ?

Selon l'ANSM (saisine 2009BCT0058bis) le phénoxyéthanol qui est un agent conservateur utilisé en cosmétologie à la concentration maximale autorisée de 1 % ne doit pas être employé chez les enfants de moins de trois ans dans les produits destinés au siège. Pour tous les autres types de produits cosmétiques pédiatriques la concentration ne doit pas dépasser 0,4 % car le phénoxyéthanol semblerait légèrement reprotoxique et pourrait avoir des effets systémiques comme une hématotoxicité et une hépatotoxicité.

On le voit, remplacer les parabènes dans certaines formulations par d'autres conservateurs dépourvus d'effets PE, même dans le domaine de la cosmétique, est certes possible mais reste une tâche délicate. Ceci vient d'ailleurs d'être indirectement confirmé avec l'utilisation de la méthylisothiazolidinone - bien que déjà connue pour ses propriétés allergéniques et cytotoxiques - dans certains cosmétiques comme des savons, des bains moussants, des crèmes de mains au karité ou encore des crèmes de jour ou antirides, provoquant une explosion du nombre d'allergies avec des poussées d'eczéma.

L'autre alternative serait, soit de combiner divers parabènes pour en diminuer la concentration finale par effet synergique, soit de les associer à d'autres conservateurs. Pour ce qui est de l'association de divers parabènes, cela a déjà été rapporté [28] voici quelques années. Les auteurs de cette étude ont combiné les méthyl, éthyl, propyl et butyl parabènes dans diverses proportions et examiné leur activité vis-à-vis de microbes *in vitro* et *in situ* dans des préparations ophtalmiques et topiques, sachant que la concentration totale de parabène était la même. Ils concluaient que les mélanges comprenant, soit 47 % M, 23,5 % E, 6,0 % P, 23,5 % B, soit 44,5 % M, 44,5 % P, 11,0 % B à 0,05-0,1 % w/v représentent une amélioration par rapport au mélange habituellement utilisé de 50 % M, 35 % E, 10 % P, 5 % B.

Quant à l'association avec d'autres conservateurs, une étude déjà assez ancienne [29] avait montré que de faibles concentrations de propylène glycol avaient un effet potentialisateur sur celui des parabènes.

Références

- [1] Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products. *Int J Toxicol.* 2008 ; 27 Suppl : 1-82 [No authors listed]
- [2] Tsukamoto H., Terada S., Metabolism of drugs. XLVII. Metabolic fate of Hydroxybenzoic acid and its derivatives in rabbit. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1964; 12 (7): 765-9
- [3] Kiwada H., Awazu S., Hanano M., The study on the biological fate of paraben at the dose of practical usage in rat. II. The pharmacokinetic study on the blood concentration after the administration of ethyl paraben or p-hydroxybenzoic acid. *J Pharmacobiodyn.* 1980; 3 (7): 353-63
- [4] Kim D.-H., Kim B., Kim H.-S., Sohng I.-S., Kobashi K., Sulfation of parabens and tyrosylpeptides by bacterial arylsulfate sulfotransferases. *Biol Pharm Bull.* 1994; 17 (10): 1326-8
- [5] Lobemeier C., Tschoetschel C., Westie S., Heymann E., Hydrolysis of parabenes by extracts from differing layers of human skin. *Biol Chem.* 1996; 377 (10): 647-51
- [6] Aubert N., Ameller T., Legrand J.-J., Systemic exposure to parabens: pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [14C]-methyl-, propyl- and butylparaben in rats after oral, topical or subcutaneous administration. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50 (3-4): 445-54
- [7] Janjua N.-R., Mortensen G.-K., Andersson A.-M., Kongshoj B., Skakkebaek N.-E., Wulf H.-C., Systemic uptake of diethylphthalate, dibutyl phthalates and butyl paraben following whole-body topical application and reproductive and thyroid hormone levels in human. *Envir Sci Technol.* 2007; 41 (15): 5564-70
- [8] Janjua N.-R., Frederiksen H., Skakkebaek N.-E., Wulf H.-C., Andersson A.-M., Urinary excretion of phthalates and paraben after repeated whole topical application in humans. *Int J Androl.* 2008; 31 (2): 118-30

- [9] Oesch F., Fabian E., Oesch-Bartlomowicz B., Werner C., Landsiedel R., Drug metabolizing enzymes in the skin of man, rat and pig. *Drug Metab Rev.* 2007; 39 (4): 659-98
- [10] Routledge E.-J., Parker J., Odum J., Ashby J., Sumpter J.-P., Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1998; 153 (1): 12-9
- [11] Blair R.-M., Fang H., Branham W.-S., Hass B.-S., Dial S.-L., Moland C.-L., Tong W., Shi L., Perkins R., Sheehan D.-M., The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: structural diversity of ligands. *Toxicol Sci.* 2000; 54 (1): 138-53
- [12] Okubo T., Yokoyama Y., Kano K., Kano I., ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER alpha and PR. *Food Chem Toxicol.* 2001; 39 (12): 1225-32
- [13] Darbre P.-D., Byford J.-R., Shaw L.-E., Hall S., Coldham N.-G., Pope G.-S., Sauer M.-J., Oestrogenic activity of benzylparaben. *J Appl Toxicol.* 2003; 23 (1): 43-51
- [14] Byford J.-R., Shaw L.-E., Drew M.-G.-B., Pope G.-S., Sauer M.-J., Darbre P.-D., Oestrogenic activity of parabens in MCF-7 human breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2002; 80 (1): 49-60
- [15] Darbre P.-D., Byford J.-R., Shaw L.-E., Horton R.-A., Pope G.-S., Sauer M.-J., Oestrogenic activity of isobutylparaben *in vitro* and *in vivo*. *J Appl Toxicol.* 2002; 22 (4): 219-26
- [16] Lemini C., Jaimez R., Avila M.-E., Franco Y., Larrea F., Lemus A.-E., *In vivo* and *in vitro* estrogen bioactivities of alkylparabens. *Toxicol Ind Health.* 2003; 19 (2-6): 69-79
- [17] Lemini C., Hernández A., Jaimez R., Franco Y., Avila M.-E., Castell A., Morphometric analysis of mice uteri treated with the preservatives methyl, ethyl, propyl and butylparaben. *Toxicol Ind Health.* 2004; 20 (6-10): 123-32
- [18] Lemini C., Hernández A., Jaimez R., Franco Y., Avila M.-E., Castell A., Estrogenic effects of p-hydroxybenzoic acid in CD1 mice. *Environ Res.* 1997; 75 (2): 130-4
- [19] Hossini A., Larsen J.-J., Larsen J.-C., Lack of oestrogenic effects of food preservatives (parabens) in uterotrophic assays. *Food Chem Toxicol.* 2000; 38 (4): 319-23
- [20] Darbre P.-D., Aljarrah A, Miller W.-R., Coldham N.-G., Sauer M.-J., Pope G.-S., Concentrations of parabens in human breast tumours. *J Appl Toxicol.* 2004; 24 (1): 5-13
- [21] Barr L., Metaxas G., Harbach C.-A., Savoy L.-A., Darbre P.-D., Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. *J Applied Toxicology.* 2012; 32 (3): 219-32
- [22] Harvey P.-W., Everett D.-J., Parabens detection in different zones of the human breast: consideration of source and implication of findings. *J. Applied Toxicol.* 2012; 32 (5): 305-9
- [23] Dagher Z., Borgie M., Magdalou J., Chahine R., Greige-Gerges H., p-Hydroxybenzoate esters metabolism in MCF7 breast cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50 (11):4109-14
- [24] Khanna S., Darbre P.-D., Parabens enable suspension growth of MCF-10A immortalized, non-transformed human breast epithelial cells. *J Appl Toxicol.* 2013; 33 (5): 378-82
- [25] Andersen F.-A., Final amended report on the safety assessment of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, isobutylparaben and benzyl paraben as used in cosmetic products. *Int J Toxicol.* 2008; 27 (suppl.4): 1-82
- [26] Martin J.-M.-P., Peropadre A., Herrero O., Freire F., Labrador V., Hazen M.-J., Oxidative DNA damage contributes to the toxic activity of propylparaben in mammalian cells. *Mut Res* 2010; 702 (1): 86-91
- [27] Meeker J.-D., Yang T., Ye X., Calafat A.-M., Hauser R. Urinary concentrations of parabens and serum hormone levels; semen quality parameters, and sperm damage. *Environ. Health Perspect.* 2011; 119 (2): 252-7
- [28] Charnock C., Finsrud T., Combining esters of para-hydroxy benzoic acid (parabens) to achieve increased antimicrobial activity. *J Clin Pharm Ther.* 2007; 32 (6):567-72
- [29] Prickett P.-S., Yang T., Ye X., Calafat A.-M., Hauser R., Potentiation of preservatives (parabens) in pharmaceutical formulations by low concentrations of propylene glycol. *J Pharm Sci* ; 1961; 50 : 316-20