Utjecaj parabena na zdravlje čovjeka

Golubić, Margareta

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:003021

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Margareta Golubić

Utjecaj parabena na zdravlje čovjeka

DIPLOMSKI RAD

Zagreb 2016.

Ovaj diplomski rad je izrađen na Zavodu za zdravstvenu ekologiju i medicinu rada Škole narodnog zdravlja "Andrija Štampar" Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Jadranke Mustajbegović i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2015/2016.

Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu

CIR -Cosmetic Ingredient Review

DDE - Dichlorodiphenyldichloroethylene

DDT - dichlorodiphenyltrichloroethane

DNK - deoksiribonukleinska kiselina

EECDRG -European Environmental and Contact Dermatitis Research Group

ERE - estrogen response element

ERα - estrogenski receptor α

ERβ -estrogenski receptor β

HPLC - High performance liquid chromatography

MS/MS -masena spektroskopija

NACDG -North American Contact Dermatitis Group

PHBA -p-hydroxybenzoic acid

UV - ultraviolet

Sadržaj

1. SAŽETAK
2. SUMMARY
3. Uvod 1
4. Izloženost parabenima 2
4.1 Parabeni u prehrambenim proizvodima 2
4.2 Parabeni u kozmetičkim proizvodima 3
4.3 Parabeni u farmaceutskim pripravcima 3
4.4 Parabeni u prirodi 4
4.5 Profesionalna izloženost parabenima 4
5. Apsorpcija, metabolizam i izlučivanje parabena 5
5.1 Apsorpcija i metabolizam putem gastrointestinalnog sustava 5
5.2 Apsorpcija i metabolizam putem kože 5
5.3 Parabeni u urinu 6
6. Endogeni disruptori 7
6.1 Parabeni - endogeni disruptori 8
6.2 Svojstava estrogenskih agonista 8
6.3 Estrogenska mimikrija 10
6.4 Utjecaj na metabolizam estrogena 10
7. Utjecaj parabena na razvoj raka dojke 10
8. Utjecaj parabena na muški spolni sustav 13
8.1 Testikularna disgeneza 13
8.2 Antiandrogena svojstva parabena 14
9. Parabeni i rak kože 15
10. Alergijski kontaktni dermatitis uzrokovan parabenima 16
11. Zakonska regulativa 17
12. Zaključak 18
13. Literatura 19
14. Zahvale 23
15. Životopis 24

1. SAŽETAK

Naslov rada: Utjecaj parabena na zdravlje čovjeka

Ime i prezime autorice: Margareta Golubić

Parabeni su alkilni esteri p-hidroksibenzojeve kiseline i u širokoj su upotrebi kao konzervansi u prehrambenim, kozmetičkim i farmaceutskim proizvodima, a mogu se pronaći i u okolišu kao prirodni spojevi. Apsorbiraju se putem kože i sluznica te nakon ingestije. Metaboliziraju se pomoću esteraza u koži i jetri, a izlučuju se bubrezima. U urinu se nalaze većinom u konjugiranom obliku, a pronađeni su i u majčinu mlijeku, seminalnoj tekućini i u tkivu dojke pacijentica oboljelih od raka dojke.Parabeni imaju slabo estrogensko i antiandrogeno djelovanje zbog čega se povezuju s nastankom raka dojke i poremećajima muškog spolnog sustava. U koži također mogu imati štetan učinak povećavajući oksidativni stres stanica izloženih suncu te se povezuju s nastankom raka kože. Kroz velik broj istraživanja ispitivani su štetni učinci parabena na zdravlje i većina rezultata upućuje na moguću povezanost parabena s karcinomom dojke i testikularnom dizgenezom, ali ne dokazuje direktnu uzročno posljedičnu vezu. Kod malog broja ljudi parabeni uzrokuju kontaktni dermatitis, a u velikim koncentracijama mogu izazvati iritaciju kože. Bez obzira na moguće štetne učinke parabeni su i dalje jedni od sigurnijih konzervansa na tržištu.

Ključne riječi: parabeni, konzervansi, rak dojke, testikularna disgeneza, rak kože, kontaktni dermatitis

2. SUMMARY

Title: Human Health EffectsofParabens

Nameandsurname: Margareta Golubić

Parabens are alkyl esters of p-hydroxybenzoic acid, they have been widely used as preservatives in food, cosmetics and pharmaceutical products, but also can be found in the environment as natural compounds. They are absorbed through the skin and mucous membranes, and after ingestion. Parabens are metabolized by esterases in the skin and the liverand excreted renally. In the urine they are found mostly in conjugated form. Parabens were also detected inbreast milk, seminal fluid and inbreast tissue of patients suffering from breast cancer. They have weak estrogenic and anti-androgenic effects,what indicates they are related to the development of the breast cancer and disorders of the male reproductive system. In the skin parabens can cause increasing oxidative stress in the cells exposed to the sun, therefore are associated with the skin cancer. Through a number of studies human health effects of parabenshave been guestioned and most of the results suggested possible correlation between parabens and the breast cancer as well asthe testicular dysgenesis, but have not prove they are direct cause of it. In a small percentage of people parabens causethe contact dermatitis, and in high concentrations they can cause skin irritation. Notwithstanding the possible harmful effects of parabens they are still one of the safest preservatives onthe market.

Keywords:parabens, preservatives, brest cancer, testicular dysgenesis, skin cancer, contact dermatitis

3. Uvod

Parabeni su alkilni esteri p-hidroksibenzojeve kiseline koji se zbog svojih antimikrobnih svojstava, posebice protiv plijesni i kvasaca koriste kao konzervansi. Zbog širokog spektra djelovanja, zbog toga što su bez boje, mirisa i okusa, te razmjerno stabilni i niske cijene i toksičnosti sintetski parabeni su u širokoj upotrebi u kozmetičkoj, farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Tipični predstavnici su metilparaben, etilparaben, propilparaben, butilparaben, izobutilparaben, izopropilparaben i benzilparaben, a najčešće korišteni parabeni su metilparaben, etilparaben, propilparaben i butilparaben (Kirchhof i sur. 2013). Prosječan moderan čovjek svakodnevno je izložen parabenima kroz upotrebu predmeta široke primjene poput kozmetičkih preparata te hrane i pića. Parabeni se nalaze u 44% testiranih kozetičkih proizvoda (Yazar i sur. 2010).

U svom idealnom obliku konzervansi bi trebali biti aktivni pri niskim koncentracijama i štititi proizvod od širokog spektra mikroorganizama, uključujući bakterije, kvasce i plijesni, ne bi smjeli stupati u interakciju s drugim sastojcima proizvoda i narušavati njegovu kvalitetu, isto tako trebali bi biti netoksični za čovjeka i ne bi smjeli štetiti okolišu.

Parabeni se upotrebljavaju već 80 godina i smatraju se jednim od najsigurnijih i najmanje štetnih konzervansa (Kirchhov i sur. 2013). Smatralo se da je čovjek izložen parabenima upotrebom proizvoda koji ih sadrže prema svojoj deklaraciji, međutim postoje dokazi da se parabeni nalaze u rijekama i pitkoj vodi, poljoprivrednom tlu, otpadnim vodama, ali i u kućnoj prašini i zraku (Genuis SJ i sur. 2013.). Također ih proizvode neke jestive biljke.

Parabeni u većim koncentracijama na oštećenoj koži mogu uzrokovati iritacije ili kontaktni dermatitis. Zbog svoje slabe estrogenske aktivnosti proglašeni su jednim od endogenih disruptora. Pronađeni su u ljudskim tkivima poput tkiva dojke, isto tako u urinu u svom izvornom i konjugiranom obliku. Zbog sposobnosti da djeluju poput estrogena povezuju se s poremećajima muškog spolnog sustava i u posljednje vrijeme sve više s karcinomom dojke. S obzirom da su ta saznanja relativno nova

potrebna su daljnja istraživanja i kontinuirano praćenje utjecaja parabena na zdravlje čovjeka.

4. Izloženost parabenima

Zbog širokog antimikrobnog spektra i kemijske stabilnosti parabeni su popularni konzervansi koji se dodaju prehrambenim proizvodima, kozmetičkim preparatima i farmaceutskim pripravcima. Stoga su putevi kojima čovjek može unijeti parabene u svoj organizam: ingestijom, inhalacijom i/ili putem kože (Liao i sur. 2013.). Procjenjuje se da je prosječan dnevni unos parabena 76 mg, od toga putem kozmetičkih preparata i proizvoda široke upotrebe 50 mg, 25 mg putem farmaceutskih pripravaka i 1 mg putem prehrambenih proizvoda (Kirchhof i sur. 2013.).

4.1 Parabeni u prehrambenim proizvodima

U prehrambenoj industriji parabeni (E214-219) se koriste kao aditivi već više od pedeset godina (Soni i sur. 2005.), a s godinama je postepeno rastao i broj prehrambenih proizvoda koji sadržavaju tu vrstu konzervansa.

Parabeni se nalaze u prerađenom povrću, pekarskim proizvodima, mastima i uljima, začinima, zamjenama za šećer, ekstraktima kave, voćnim sokovima, kiselim krastavcima, umacima, bezalkoholnim pićima, mliječnim proizvodima. Najviše se koriste u sastojcima torti i kolača (0,03 -0,06%), bezalkoholnih pića (0,03 - 0,05%), krema i preljeva (0,1%), džemova i želea (0,07%), maslina i kiselih krastavaca (0,1%) te slatkih sirupa (0,07%) (Soni i sur. 2005.).

Najčešće korišteni parabeni u prehrambenoj industriji su metilparaben i propilparaben. Unos parabena u organizam oralnom ingestijom zauzima tek manji udio (0,42 - 5,5%) u ukupnom unosu (Ma i sur. 2013.)

4.2 Parabeni u kozmetičkim proizvodima

U Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnjenalazi se Lista VI, prvi dio - Konzervansi koje mogu sadržavati kozmetički proizvodi, u njoj je nabrojeno 55 dopuštenih konzervansa anorganskog i organskog podrijetla. Pod točkom 12 nalaze se p-hidroksibenzojeva kiselina, soli i esteri koje jednim imenom nazivamo parabeni.Najčešće korišteni su metilparaben, etilparaben, propilparaben i butilparaben.Kada se koristi jedan ester u formulaciji, dopuštena maksimalna koncentracija je 0,4%, dok je za smjesu estera najviša dopuštena vrijednost 0,8%.

Gotovo polovica (44%) kozmetičkih proizvoda sadrži parabene. Prema podacima američke Agencije za hranu i lijekove iz 2006. godine riječ je o 22 000 proizvoda koji sadrže parabene. Danas je taj broj još i veći jer raste ukupan broj kozmetičkih proizvoda.

Parabeni se nalaze u kremama za lice, ruke i tijelo, losionima, šamponima, bojama za kosu, pastama za zube, gelovima za tuširanje, kremama za zaštitu od sunca, dekorativnoj kozmetici itd., gotovo da nema skupine kozmetičkih proizvoda koje ne sadrže parabene. Među proizvodima testiranim u SAD-u najviša je koncentracija metilparabena, u ruževima se koncentracija metilparabena kreće između 0,15% i 1% (Kirchhof i sur. 2013.).

Kozmetički proizvodi koji sadrže parabene u kontaktu su s kožom, vaginalnom, oralnom i sluznicom oka, te kosom i noktima. S obzirom da se ti konzervansi lako apsorbiraju putem kože (Genuis i sur. 2013.) smatra se da je izloženost parabenima najveća upotrebom kozmetičkih proizvoda koji se nanose na kožu. Putem kože se apsorbira između 0,03 i 4,13 mg/kg tjelesne težine parabena dnevno (Genuis i sur. 2013.).

4.3 Parabeni u farmaceutskim pripravcima

I u farmaceutskim pripravcima parabeni se koriste kao konzervansi dugi niz godina. Jedan od najefektivnijih fungistatika je propilparaben koji se uz metilparaben najčešće koristi. Mnogi farmaceutski oblici uključujući supozitorije, anestetike, tablete, sirupe i kontraceptive sadrže parabene.

Kombinacije parabena su učinkovitije nego svaki pojedinačno. Koncentracija parabena u farmaceutskim pripravcima se kreću u velikom rasponu od 0,01% do 20% u nekim otopinama za oralnu primjenu (CIR 2008.), najčešće ipak ne prelazi 1%.

Američka Agencija za hranu i lijekove utvrdila je da metilparaben i propilparaben korišteni u djelotvornim koncentracijama mogu izazvati iritaciju očiju te stoga nisu pogodni za proizvode koji se unose u oko. U ostalim proizvodima nisu zabranjeni.

4.4 Parabeni u prirodi

Parabeni su u okolišu pronađeni u rijekama, izvorima pitke vode, otpadnim vodama i na poljoprivrednim površinama, a nalaze se i u kućnoj prašini (Kirchhof i sur. 2013.).

Industrijski korišteni parabeni sintetskog su porijekla no neki živi organizmi, u prvom redu biljke i mikroorganizmi također ih proizvode. Tako se parabeni, većinom metilparaben mogu pronaći u mrkvi, borovnici, jagodama i drugim biljkama. Morska bakterija roda Microbulbifer također proizvodi parabene (Peng i sur. 2006.)

4.5 Profesionalna izloženost parabenima

Osobe na nekim radinim mjestima češće i u većim količinama su izložene parabenima. To su radnici koji sudjeluju u proizvodnji i pakiranju hrane koja sadrži veće količine parabena, farmaceutski radnici koji su u kontaktu s pripravcima koji sadrže parabene, radnici u kozmetičkim salonima, čistačice, frizeri. Oni se od te izloženosti mogu zaštititi korištenjem zaštitne opreme poput zaštitne odjeće i rukavica.

5. Apsorpcija, metabolizam i izlučivanjeparabena

Parabeni se mogu apsorbirati putem sluznice gastrointestinalnog sustava, kože, kose, noktiju, sluznice usana i oka te vaginalne sluznice. Dominantan put apsorpcije je kroz kožu.

5.1 Apsorpcija i metabolizam putem gastrointestinalnog sustava

Prema pokusima na miševima, štakorima i psima parabeni se gotovo u potpunosti apsorbiraju iz gastrointestinalnog sustava (Soni i sur. 2001., 2002.). U jetri se hidroliziraju pomoću jetrenih esteraza. Glavni metabolit je p-hidroksibenzojeva kiselina (PHBA), ostali metaboliti uključuju p-hidroksihipurnu kiselinu i ester te konjugirane oblike PHBA s glicinom, glukuronidom i sulfatom. Metabolizam je brz što pokazuju metaboliti koji se pojavljuju u urinu 5h nakon ingestije.

U pokusima na psima nije utvrđeno nakupljanje metilparabena ili propilparabena koji su u dozi od 1.0 g/kg/dan oralno primjenjivani godinu dana (Golden i sur. 2005.).

Većina parabena prema pokusima na kunićima izlučuje se urinom u obliku konjugiranih metabolita, a tek manji dio (0,2 - 0,9%) nepromijenjeno.

5.2 Apsorpcija i metabolizam putem kože

Zbog toga što se većina proizvoda koji sadrže parabene nanosi na kožu taj put apsorpcije posebno je važan. Parabeni se brzo apsorbiraju putem neoštećene kože, a smatra se da njihovu apsorpciju pospješuju pojačivači apsorpcije koji se nalaze u kozmetičkim proizvodima. Nije jednaka penetracija kroz kožu za sve vrste parabena, a ona ovisi i o vehiklu. Npr. za butilparaben penetracija uz mast, aceton i etanol nakon 10h je 39%, 44% i 57%. Prema koeficijentu raspodjele n-oktanol/voda propusnost je metilparaben<etilparaben<propilparaben<butilparaben (Golden i sur. 2005.).

U koži se nalaze četiri esteraze koje metaboliziraju parabene. One su pronađene u kutisu, keratinocitima, supkutanom masnom tkivu i u krvi. Supkutana esteraza I ima veći afinitet za parabene kratkog lanca kao što je metilparaben, a supkutana estraza

II prema butilparabenu, esteraza III u keratinocitima ima veći afinitet za butilparaben i njen afinitet slabiji što je lanac kraći.

Zbog individualnih razlika u aktivnosti esteraza i povećane potrošnje kozmetičkih proizvoda hidroliza parabena nije potpuna.

U pokusima na koži kunića nakon osmosatne izloženosti zabilježena je apsorpcija od 60% za metilparaben, 40% za etilparaben i 20% za propilparaben (Pedersen i sur. 2007.). Kroz kožu štakora zabilježena je penetracija od 30% za propilparaben, a daljnje studije pokazale su da je hidroliza u ljudskoj koži sporija nego u koži štakora (Harville i sur. 2007.) što znači da su procjene apsorpcije temeljena na metabolizmu parabena u koži štakora podcijenile stvarnu apsorpciju u čovjeka.

U istraživanju na 26 mladih zdravih muškaraca iz 2007. godine potvrđeno je da se parabeni mogu apsorbirati sistemski jer su nakon lokalne primjene na kožu pronađeni u sistemnom krvotoku i urinu (Janjua i sur. 2007.). Iako je u istraživanju korištena puno veća koncentracija parabena (2%) nego što se koristi u kozmetičkim proizvodima (0,4% za pojedinačni paraben) zbog ponavljanog korištenja velikog broja proizvoda dulje vrijeme moguće je nakupljanje u organizmu (Darbre i Harvey 2008.)

5.3 Parabeni u urinu

Nakon apsorpcije i metabolizma parabeni i njihovi metaboliti većinom se izlučuju urinom, a mali dio može se izlučivati putem žuči i stolice (Genuis i sur. 2013.). U nekoliko neovisnih studija provedenih na životinjskim modelima utvrđeno je da izlučivanje nije jednako za sve parabene. Nakon intraduodenalne ili intravenske primjene većina parabena bude hidrolizirana i nakon toga konjugirana te u tom obliku izlučena iz organizma, tek manji dio (0,2-0,9%) ostane nepromijenjen.

Prema istraživanju na 100 ispitanika izmjereno je da se 5% apsorbiranog metilparabena izluči nepromijenjeno, 28% u glukuroniranom i 67% u sulfatiranomobliku, za propilparaben izmjerene su vrijednosti 2%, 43% i 55% (Genuis i sur. 2013.).

U istraživanju iz 2007. godine mjerena je koncentracija butilparabena u urinu nakon primjene na kožu. U istraživanju je sudjelovalo 26 mladih zdravih muškaraca kojima je na kožu cijelog tijela, svakodnevno kroz tjedan dana nanošena krema u količini od 2 mg/cm². Krema je sadržavala 2% butilparabena. Mjerenjem je utvrđeno da je 0,32% nanesenog parabena izlučeno urinom, od toga 2,1% je bilo u nekonjugiranom obliku (Janjua i sur. 2007.).

Analiza uzoraka plazme 332 žene pokazala je srednju vrijednost metilparabena 9,4 ng/ml, <3ng/ml etilparabena i <2 ng/ml propilparabena. Vrijednosti u plazmi i urinu bile su više u adolescenata i žena u usporedbi s muškarcima što je u korelaciji s češćom upotrebom kozmetičkih proizvoda kod žena (Wang i sur. 2013.).

Mjerenjem količine pojedinog parabena u urinu može se procijeniti kolikoj količini je izložen organizam. Kolika je izloženost populacije dobro prikazuje istraživanje provedeno u SAD-u u kojem su pronađene mjerljive razine metilparabena i propilparabena u više od 96% uzoraka (Ye i sur. 2006.). p-hidroksibenzojeva kiselina smatra se nespecifičnim biomarkerom za procjenu izloženosti jer je zajednički metabolit svih parabena. Zbog toga se preporučuje mjerenje slobodnih i konjugiranih oblika osnovnih spojeve.

6. Endogeni disruptori

Endogeni disruptori su sintetski ili prirodni spojevi koji mogu ulaziti u interakciju s funkcijom hormonskog sustava. Različiti su po svojem porijeklu, strukturi i funkciji. S hormonskim sustavom ulaze u interakciju oponašajući funkciju endogenih hormona, sprječavajući njihovu aktivnost, mijenjajući sintezu i funkciju hormonskih receptora, ili sintezu, transport, metabolizam i izlučivanje hormona (Ropero i sur. 2006.). Najčešći učinak je kroz interakciju s hormonskim receptorima kao njihovi agonisti, antagonisti ili oboje. Učinci endogenih disruptora povezuju se s poremećajima u reproduktivnom, neuralnom, imunološkom i drugim organskim sustavima u životinja i ljudi. Neke studije pokazuju njihovu povezanost s smanjenjem plodnosti, povećanom incidencijom pretilosti, dijabetesa i nekih karcinoma. Drugi nazivi za endogene disruptore su: endokrini modulatori, okolišni hormoni, hormonski aktivni spojevi.

Najviše su istraživani spojevi s estrogenskim učinkom, no postoje i spojevi s antiestrogenskim, androgenim, antiandrogenim, progesteronskim i tirozinskim učinkom.

Neki od endogenih disruptora su: polikloriranibifenili, ftalati, alkilfenoli, pesticidi, neki metali, perfluorirani spojevi, parabeni, spojevi koji se koriste kao filtri ultraljubičastog zračenja, i organska otapala (Faniband i sur. 2014.)

6.1 Parabeni - endogeni disruptori

Pretpostavlja se da parabeni mogu djelovati na estrogenske receptore, modulirati aktivnost gena poput estrogena i utjecati na metabolizam estrogena te djelovati antiandrogeno.

6.2 Svojstava estrogenskih agonista

Estrogen putem unutarstaničnih receptora, ERα i ERβ mijenja ekspresiju velikog broja gena i na taj način ostvaruje glavninu svog učinka.

Kod utvrđivanja ima li neka tvar estrogenski učinak bitno je utvrditi dvije stvari. Prvo ima li ta tvar sposobnost vezanja za estrogenske receptore i može li aktivirati receptor, i drugo ostvaruje li fiziološki estrogenski učinak na kulturi stanica, na životinjskom modelu i u konačnici u ljudskom organizmu.

Većina istraživanja dokazuje estrogenski agonistički učinak parabena, u jednom od 25 invitro istraživanja i u sedam od 30 estrogenska aktivnost nije dokazana (Darbre i Harvey 2008.). Razne invitro metode koriste se za procjenu estrogenske aktivnosti parabena poput kompetitivnog vezanja s tricijem obilježenim 17β-estradiolom za estrogenske receptore, ili mjerenje proliferativnog odgovora estrogen osjetljivih stanica kao što su MCF-7 stanice humanog raka dojke, od životinjskih modela koriste se glodavci pri čemu se mjeri porast mase maternice nezrele ženke. Koliki je afinitet vezanja za receptor može se utvrditi invitro metodama, i on je to slabiji što je veća koncentracija parabena potrebna za zasićenje receptora ili da se istisne s receptora radioaktivno obilježeni estradiol.

Istraživanja su pokazala da imaju slabu estrogensku aktivnost koja je nekoliko redova veličine manja nego aktivnost 17β-estradiola, glavnog endogenog estrogena. Od četiri najčešće korištenih parabena najveći afinitet ima butilparaben. Njegov afinitet je 5 redova veličine manji nego afinitet dietilstilbestrola koji je usporediv s afinitetom 17β-estradiola (Routledge i sur. 1998.). Estrogenski učinak direktno je povezan s duljinom alkilnog lanca vezanog za p-hidroksibenzojevu kiselinu. Metilparaben, etilparaben, propilparaben i butilparaben pokazali su učinak koji je 2 500 000 puta, 150 000 puta, 30 000 puta i 10 000 puta slabiji nego učinak 17β-estradiola (Witorsch i Thomas 2010.). Osim duljine alkilnog lanca i njihova složenost, grananje lanaca, postranični lanci i aromatski prsten utječu na njihovu aktivnost. Što su složeniji to je njihova estrogenska aktivnost jača, no i dalje nekoliko redova veličine manja nego aktivnost 17β-estradiola (Golden i sur. 2005.). Iako hidroliza parabena do p-hidroksibenzojeve kiseline bitno smanjuje estrogenski potencijal, ne uklanja ga u potpunosti (Darbre i Harvey 2008.). Ranije se smatralo da metaboliti parabena nemaju estrogenski učinak.

Učinkovitost parabena kao liganda estrogenskih receptora ovisi o tome u kolikoj mjeri nakon vezanja za receptor aktiviraju signalni put estradiola. Aktivirani estrogenski receptor ima sposobnost vezanja Hsp nadzorne bjelančevine, dimerizacije s homodimerom ili heterodimerom, translokacije u jezgru, vezanje za ERE u DNK i promjene ekspresije gena. Iako je afinitet vezanja parabena manji nego estradiola ili nekih drugih ksenoestrogena ili fitoestrogena, u dovoljnoj koncentraciji njihova učinkovitost je jednaka učinkovitosti estradiola. To je dokazano u istraživanju na kulturi stanica humanog karcinoma dojke u kojem je zabilježen jednak porast ekspresije gena i proliferacije stanica u odgovoru na parabene kao i kod 17β-estradiola (Byford i sur. 2002., Darbre i sur. 2002., 2003.). Dobiveni rezultati ukazuju na to da parabeni nisu parcijalni već puni agonisti estrogenskih receptora.

Dokazano je da triklosan koji je parcijalni estrogenski agonist ostvaruje pojačane učinke kroz dulje vrijeme izloženosti (Gee i sur. 2008.). Također je postavljeno pitanje bi li parabeni na kulturi stanica u nižim koncentracijama, ali kroz dulje vrijeme mogli ostvariti jednak učinak. Ta mogućnost kod njih nije ispitana u nekom istraživanju do sad, a mogla bi biti od velike važnosti jer u stvarnom okolišu čovjek je izložen parabenima kroz dug period.

6.3 Estrogenska mimikrija

Parabeni ne djeluju na ekspresiju gena identično kao estrogeni. Neka istraživanja pokazala su da parabeni povećavaju ekspresiju nekoliko gena jednako kao i estradiol, međutim otkriveno je da estradiol povećava ekspresiju više stotina gena, a na još veći dio gena djeluje suprimirajuće. Istraživanja pomoću genskih mikročipova pokazala su sličan uzorak genske ekspresije parabena i estardiola (Pugazhendhi i sur. 2007.) no ne identičan. Među parabenima također postoje određene razlike, tako metilparaben utječe na više gena nego butilparaben. Pa se postavlja pitanje koji je od ta dva parabena slabiji estrogen, jer zna se da butilparaben ima veći afinitet vezanja za receptore, a metilparaben kvalitativno sličniji učinak estradiolu.

6.4 Utjecaj na metabolizam estrogena

Učinak endogenih disruptora ne iskazuje se samo kroz aktivaciju hormonskih receptora i imitaciju učinaka endogenih hormona, oni mogu utjecati i na stvaranje i metabolizam endogenaih hormona te na taj način povećavati ili smanjivati njihovu razinu. Neki ksenoestrogeni djeluju na enzime koji sudjeluju u sintezi endogenih estrogena ili na njihovu konjugaciju što mijenja njihovu slobodnu frakciju. Parbeni mogu inhibirati sulfotransferazu koja katalizira sulfatnu konjugaciju estrogena. Taj enzim u ravnoteži je s sulfatazom koja oslobađa estrogen iz njegove konjugirane inaktivne forme. Mnogi okolišni estrogenski disruptori poput hidroksiliranih polihalogeniranih aromatičnih ugljikovodika dokazano djeluju kao inhibitori sulfotransferaze i činjenica da i parabeni djeluju isto na sulfotransferazu ukazuje na to da bi i oni mogli imati indirektni estrogenski učinak povećavajući razinu slobodnog estradiola (Darbre i Harvey 2008.).

7. Utjecaj parabena na razvoj raka dojke

Epidemiološke, kliničke i eksperimentalne studije koje se provode već više od stoljeća potvrđuju da estrogen ima centralnu ulogu u razvoju, progresiji i liječenju raka dojke (Lonning 2004.). Postavlja se pitanje kakav utjecaj na razvoj progresiju i liječenje raka dojke mogu imati spojevi iz okoliša koji mogu imitirati učinke estrogena.

Postoje brojna istraživanja takvih spojeva nazvanih jednim imenom endogeni disruptori.

Dugi niz godina smatralo se da se parabeni ne nakupljaju u organizmu i da stoga nije moguće da imaju estrogenski učinak u organizmu. U istraživanjima serumske razine parabena bile su vrlo niske, čak i nakon direktne intravenske primjene razine bi brzo padale i vraćale se na vrlo niske vrijednosti. Međutim u kasnijim istraživanjima otkriveni su parabeni u majčinu mlijeku, seminalnoj tekućini i u tkivu dojke pacijentica oboljelih od raka dojke. U istraživanju Darbre i suradnika iz 2004. godine na 20 uzoraka tkiva humanog karcinoma dojke ispitivana je prisutnost parabena i to metilparabena, etilparabena, n-propilparabena, n-butilparabena, benzilparabena i izobutilparabena. Metode kojima su mjerene razine parabena su tankoslojna kromatografija (engl. thin-laye rchromatography) i tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (engl. High performance liquid chromatography - HPLC) u kombinaciji s masenom spektroskopijom (MS/MS). Prvom metodom utvrđena je razina 47,1 ng parabena po gramu tkiva, a detaljnija HPLCMS/MS metoda pokazala je razine svakog parabena posebno. U tkivima je pronađeno pet od šest ispitivanih parabena, benzilparaben nije pronađen. Razine parabena mjerene su u odnosu na probu koja nije trebala sadržavati parabene, međutim zbog kontaminacije tijekom izvedbe i sama proba sadržavala je minimalne razine parabena. Ti parabeni mogli su dospjeti u probni uzorak s ruku djelatnika ili laboratorijskog posuđa s obzirom da mnogi deterdženti i proizvodi za osobnu njegu sadrže parabena. Te razine oduzete su od izmjerenih u ispitivanim uzorcima i ispalo je da 18 od 20 uzoraka sadrži veće količine parabena od probe. Izmjerene vrijednosti kretale su se u rasponu 0 - 54,5 ng/g tkiva, s ukupnom srednjom vrijednosti od 20,6 ng/g tkiva. Najveće vrijednosti su izmjerene za metilparaben, u prosjeku 12,8 ± 2,2 ng/g tkiva. Sam metilparaben iznosi više od pola ukupne količine izmjerenih parabena (62%), tako velika razina mogla bi bit zbog toga što je metilparaben najkorišteniji od parabena u kozmetičkim proizvodima. No izrazito povećana razina u odnosu na druge parabene mogla bi ukazivati i na povećanu rezistenciju prema esterazama u koži i potkožnom masnom tkivu.

Prema rezultatima istraživanja parabeni bi se mogli svrstati na listu spojeva koji djeluju kao okolišni estrogeni poput polikloriranih bifenila, i organokloridnih pesticida. To ipak ne dokazuje da parabeni uzrokuju rak dojke već samo ukazuje na to da dio apsorbiranih parabena ne podliježe metabolizmu do p-hidroksibenzojeve kiseline i

izlučivanju iz organizma putem urina već se nakuplja u tkivima. Prema tom istraživanju u 4 uzorka nađena je razina i više nego dvostruko veća od prosjeka. Ta razina usporediva je s razinama n-propilparabena, n-butilparabena i izobutilparabena koje u invitro uvjetima na kulturi MCF7 stanica humanog karcinoma izazivaju proliferaciju. Sva saznanja ukazuju na potrebu dodatnih istraživanja na većem uzorku te usporedbu tkiva karcinoma dojke i tkiva zdrave dojke da se otkrije postoje li razlike u razini parabena kod zdravog i karcinomskog tkiva. Korisno bi bilo i provesti istraživanja u kojima bi se utvrdilo postoji li gradijent nakupljanja parabena od smjera aksile prema sternumu što bi ukazalo na porijeklo parabena iz kozmetičkih proizvoda koji se topički primjenjuju na tom području. Naime postoje teorije da je nesrazmjerno veći broj karcinoma u gornjem vanjskom kvadrantu dojke povezan s primjenom kozmetičkih proizvoda u području aksile, ali to nikad nije potkrijepljeno dokazima.

Osim istraživanja Darbre i suradnika i mnoga druga se bave pitanjem: mogu li parabeni biti povezani s pojavom karcinoma dojke? I ne daju sva iste rezultate. Postoji nekoliko zamjerki opisanom istraživanju, poput nedostatka kontrolne skupine zdravih tkiva, ili kontaminacije probnog uzorka zbog čega se sumnja na moguću kontaminaciju ispitivanih karcinomskih tkiva. Isto tako u istraživanju kod pacijenata čije tkivo je ispitivano nisu isključeni drugi mogući rizični čimbenici koji su mogli uzrokovati razvoj karcinoma. Problem kod mjerenja spojeva u karcinomskom tkivu dojke je taj što se ne može dokazati da je određeni spoj i doveo do razvoja karcinoma.

Američki Nacionalni institut za rak proveo je istraživanje tipa slučaj-kontrola na 813 slučajeva karcinoma dojke s ciljem da utvrdi povezanost korištenja dezodoransa i povećane incidencije karcinoma dojke, međutim nije utvrđena značajna povezanost korištenja antiperspiranata i dezodoransa s pojavnošću karcinoma dojke (Mirick i sur. 2002.).

Još jedna činjenica govori protiv tvrdnje da parabeni mogu uzrokovati karcinom dojke, kod uspoređivanja učinka estrogena i parabena uzimaju se u obzir njihovo djelovanje putem receptora no nedvojbeni utjecaj estrogena na nastanak karcinoma dojke ne potječe samo od receptorske aktivacije. U metabolizmu estrogena, odnosno 17β-estardiola nastaju reaktivni metaboliti kao što su 16α-hidroksiestrogen, 2-hidroksiestrogen, 4-hidroksiestrogen koji se mogu vezati za DNK i uzrokovati

oksidativni stres stanice (Golden i sur. 2005.). Za razliku od metabolita 17β-estradiola koji mogu uzrokovati oštećenje DNK, metaboliti parabena nemaju takvih učinaka.

8. Utjecaj parabena na muški spolni sustav

8.1 Testikularnadisgeneza

Proteklih 50 godina zabilježen je porast u broju poremećaja muškog reproduktivnog sustava. Muškarci imaju sve više problema s reproduktivnim zdravljem. Pojava kriptorhidizma, hipospadije, smanjene kvalitete i kvantitete sjemena i rak testisa indikatori su koju ukazuju na sindrom testikularne disgeneze. Smatra se da je uzrok tome poremećaj u ravnoteži hormona nastao za vrijeme fetalnog ili ranog postnatalnog života. Izloženost endogenim disruptorima tijekom fetalnog života mogla bi imati trajne posljedice na muški spolni sustav. U promatranju životinjskog svijeta nakon slučajnih katastrofa vidi se utjecaj nekih spojeva na reproduktivnost životinja te se može pretpostaviti sličan utjecaj na čovjeka. Nakon slučajnog prolijevanja DDT-a u jezero Apopka na Floridi zapažena je demaskulinizacija i smanjena plodnost aligatora s tog područja, poznato je da DDT ima slabi estrogenski učinak, a njegov razgradni produkt DDE je antiandrogen. Na istom području zapaženo je i smanjeno razmnožavanje pantera. U engleskim rijekama zagađenim estrogenskim spojevima zabilježen je veći broj riba dvospolaca, na obalama Zapadne Europe proteklih desetljeća izrazito je pao broj tuljana zbog poremećaja reprodukcije uzrokovane polikloriranim bifenilima, također endogenim disruptorima koji se nakupljaju u hranidbenom lancu.

S obzirom da se i parabeni svrstavaju među endogene disruptore moguć je i njihov utjecaj na razvoj poremećaja muškog spolnog sustava.

Iako moderna molekularna genetika otkiva velik broj gena koji bi mogli biti odgovorni za testikularnu disgenezu, značajan broj malformacija genitalija nema genetski poremećaj u podlozi.

Koliki je problem testikularna disgeneza pokazuje statistika istraživanja provedenog u Danskoj prema kojoj pojavnost bolesti reproduktivnog sustava raste. Gotovo 1% uglavnom mladih muškaraca liječi se ili se liječilo od karcinoma testisa, 5-6% dječaka

školske dobi ima nespuštene testise, gotovo 1% novorođene muške djece ima abnormalnosti penisa, više od 40% mladih muškaraca ima smanjen broj spermija po ml sperme.

8.2 Antiandrogena svojstva parabena

Utjecaj na muški spolni sustav pripisivao se spojevima koji imaju estrogenski učinak, no otkriće da neki od tih spojeva imaju i antiandrogeno djelovanje postavlja pitanje kakve posljedice to djelovanje može imati na razvoj muškog spolnog sustava.

Mnogi okolišni spojevi koji imaju estrogensku aktivnost pokazali su i antiandrogena svojstva u invitro uvjetima i na životinjskim modelima. To su neki pesticidi poput DDT-a, fungicid vinklozolin, bisfenol A, neki ftalati i triklosan.

U nekoliko istraživanja dokazana je sposobnost i nekih parabena da antagoniziraju učinak testosterona (Satoh i sur. 2005., Chen i sur. 2007.). Kod mladih nezrelih glodavaca koji su oralno dobivali ponavljane doze propilparabena i butilparabena ustanovljene su promjene u reproduktivnom sustavu u vidu smanjene spermatogeneze, sekrecije testosterona i epididimalne mase. Ti učinci prvotno su se pripisivali estrogenskim svojstvima parabena no moguće je da oni potječu i od antiandrogenih svojstava parabena ili kombinacije ta dva svojstva. U drugom istraživanju na gravidnim ženkama koje su tijekom gestacije i dojenja bile izložene djelovanju butilparabena također su zabilježene anomalije reproduktivnog sustava muških potomaka ispitivane 49 dana nakon okota. Nije sigurno jesu li poremećaji rezultat djelovanja parabena koji je preko placente dospio u tkivo fetusa ili putem mlijeka postnatalno. A moguće je da je do poremećaja dovela kombinacija ta dva načina ulaska. S obzirom da je poznato kako parabeni u organizam mogu dospjeti apsorpcijom putem kože, dapače taj put se smatra vodećim mjestom ulaska parabena u ljudski organizam ostaje otvoreno pitanje mogu li parabeni koji budu postnatalno apsorbirani imati učinak na mušku djecu. To je važno pitanje jer mnogi preparati namijenjeni njezi novorođenčadi poput vlažnih maramica, dječjih krema, dječjih pudera sadrže parabene. Većina tih preparata nanosi se na delikatnu i povremeno oštećenu i iritiranu kožu pelenskog područja što bi u kombinaciji s nezrelim metabolizmom novorođenčadi moglo povećati apsorpciju izvornog oblika

parabena. Reproduktivni sustav je u neposrednoj blizini tog područja i to ga čini mogućim mjestom djelovanja apsorbiranih parabena.

Bez obzira što je utvrđena, invitro te na životinjskim modelima antiandrogena i estrogenska aktivnost parabena u visokim razinama, nije dokazano da parabeni u razinama kojima je prosječan odrasli čovjek odnosno dijete izložen mogu izazvati neželjeni učinak.

Prema istraživanju Mayo klinike iz Minnesote u SAD-u u kojem je ispitivana estrogenska aktivnost parabena i njihov učinak na razvoj reproduktivnog sustava muških glodavaca utvrđeno je da je maksimalna procijenjena izloženost butilparabenu (0,12-0,41 mg/kg/dan) još uvijek 15 000-50 000 puta manja nego ekvivalentna doza dietilstilbestrola koji izaziva učinak na reproduktivni sustav.

9. Parabeni i rak kože

Estrogeni imaju važnu ulogu u stanicama kože, keratinocitima i utječu na njezin razvoj i starenje. Smanjenje razine estrogena nakon menopauze povezuje se s ubrzanim starenjem kože. To starenje može se usporiti upotrebom krema koje sadrže estrogene. Iz toga bi se moglo zaključiti i da parabeni koji se nalaze u većini krema za ruke i tijelo svojim slabim estrogenskim djelovanjem imaju povoljan učinak na kožu. Međutim neka istraživanja pokazuju da metilparaben i etilparaben u laboratorijskim uvjetima mogu izazvati oksidativni stres u keratinocitima u reakciji sa siglet kisikom, te da metilparaben može potencirati učinak UV zračenja na keratinocite (Handa i sur. 2006.). Paradoksalno je da većina krema za sunčanje sadrži parabene i pitanje je ima li takva krema osim zaštitnog i štetno djelovanje na kožu izloženu suncu.

U pigmentnim stanicama kože melanocitima iz kojih se razvija melanom pronađeni su estrogenski β receptori i pokazuju pojačanu aktivnost u displastičnim madežima i lentigo maligna melanomima, a smanjenu aktivnost u melanomima koji zahvaćaju dublje slojeve dermisa.

Ako se u obzir uzme sposobnost metilparabena da pojača štetni učinak UV zračenja i sposobnost parabena da aktiviraju estrogenski β receptor moguće je da u kombinaciji

sa drugim spojevima u kozmetičkim preparatima koji također imaju estrogensku aktivnost parabeni igraju određenu ulogu u nastanku malignog melanoma.

10. Alergijski kontaktni dermatitis uzrokovan parabenima

Pitanje parabena kao mogućih alergena postavlja se još 1968. godine kada Schorr i Epstein provode prva ispitivanja u SAD-u. Ispitivanje je provedeno pomoću patch testa na 273 kronična pacijenata oboljela od kontaktnog dermatitisa. Test je napravljen pripravkom 5% parabena u vazelinu. Utvrđena je senzitizacija 0,8% pacijenata i ukrižana senzitizacija metilparabena, etilparabena, propilparabena i butilparabena. Schorr, Epstein i drugi tadašnji znanstvenici smatrali su da je opasnost od parabena podcijenjena jer u ono vrijeme kozmetički proizvodi i bezreceptni lijekovi nisu trebali imati naznačenu deklaraciju sa sastojcima.

Nedugo nakon toga provedeno je ispitivanje na 397 zdravih dobrovoljaca bez ikakvih dermatoloških problema i utvrđena je senzitizacija od 0,3%. Ti rezultati upućivali su na to da je puno manje od 1% opće populacije preosjetljivo na parabene.

Još jedno ispitivanje 1973. godine na pacijentima koji imaju kontaktni dermatitis na topičke lijekove/kreme i losione pokazalo je nisku senzitizaciju na parabene. U testiranju je korišten miks tri parabena i rezultat je 3% preosjetljivih.

Iste godine donesena je regulativa da proizvođači moraju istaknuti potpuni sastav proizvoda, i aktivnu tvar i sve ostale neaktivne tvari zbog čega je bilo lakše pratiti izloženost parabenima.

U odnosu na druge alergene parabeni su se pokazali slabo alergenima. U istraživanju NACDG (North American Contact Dermatitis Group) na 1200 ispitanika oko 3% njih preosjetljivo je na parabene, što je manje u odnosu prema 15 drugih ispitivanih spojeva, jedini koji je pokazao manji postotak preosjetljivosti je ciklometikon, silikonski ciklički spoj (2%).

Nakon svih tih istraživanja sa sličnim ishodima zaključeno je da parabeni ne predstavljaju veću opasnost po zdravlje opće populacije i da su jedni od sigurnijih spojeva u lijekovima i kozmetičkim proizvodima.

U novijim istraživanjima nakon 2000. godine prema podacima NACDG i EECDRG (European Environmental and Contact Dermatitis Research Group) u populaciji osoba s ekcematoznim bolestima patch test bio je pozitivan na parabene u 0,6% slučajeva u NACDG grupi i 1,2% u EECDRG grupi (Hafeez i Maibach 2013.).

U usporedbi s drugim konzervansima koji se rutinski testiraju u Europi miksparabena pokazuje najmanji alergenski potencijal, zauzima tek 0,5-1% uzroka kontaktnog dermatitisa. Ostali: imidazolidinyl urea, diazolidinyl urea, formaldehid, metildibromoglutaronitril, metilkloroizotiazolinon, metilizotiazolinon u više slučajeva uzrokuju kontaktni dermatitis.

Kod nekih pacijenata s kontaktnim dermatitisom moguće je da patch test daje negativne rezultate, a da pacijent ipak pokazuje preosjetljivost prema parabenima. Taj fenomen zove se "parabenski paradoks". Radi se o tome da parabeni ako su naneseni na oštećenu kožu mogu izazvati dermatitis, ali ako su kod iste osobe naneseni na neoštećenu kožu neće izazvati nikakvu reakciju i patch test koji se izvodi na neoštećenoj koži bit će negativan. Kod takvih osoba preporuča se izbjegavati korištenje preparata koji sadrže parabene na oštećenoj koži dok je upotreba istih sigurna na zdravoj koži.

Istraživanja koja su se bavila ispitivanjem mogu li sami parabeni uzrokovati iritaciju kože pokazala su da od četiri ispitivana, metilparabena, etilparabena, propilparabena i butilparabena samo propilparaben može izazvati iritaciju i to tek pri koncentracijama većim od 15%. S obzirom da se parabeni u kozmetici nalaze u manjim koncentracijama to znači da ne uzrokuju iritaciju kože.

11. Zakonska regulativa

Na tržištu Europske unije prema pravilniku Europske komisije maksimalne dopuštene koncentracije pojedinačnih parabena u kozmetičkim proizvodima su 0,4% ako se nalaze pojedinačno, a ako se nalaze u kombinaciji 0,8%. Te koncentracije vrijede za esterske oblike. Iznimka su butilparaben i propilparaben čija je maksimalna pojedinačna koncentracija prema dopuni pravilnika iz 2014. godine smanjena s dotadašnjih 0,19% na 0,14%. Prema istoj dopuni upotreba izopropilparabena, izobutilparabena, fenilparabena, benzilparabena i pentilparabena zabranjena je.

Također butilparaben i propilparaben zabranjeni su u proizodima za djecu mlađu od tri godine, a koji su namijenjeni nanošenju na kožu pelenskog područja. Razlog tome je visoka sistemska apsorpcija parabena zbog nezrelog metabolizma i oštećenja kože tog područja u djece mlađe od šest mjeseci (Boberg i sur. 2010.), zabrana vrijedi za proizvode za djecu mlađu od tri godine jer ne postoji posebna kategorija koja obuhvaća samo djecu do šest mjeseci.

Što se tiče prehrambenih proizvoda postoji samo preporuka maksimalnog dnevnog unosa 0-10 mg/kg tjelesne težine.

U SAD-u maksimalne koncentracije procjenjuje CIR (Cosmetic Ingredient Review), s tim preporukama se slaže američka Agencija za hranu i lijekove. Preporuke se ne razlikuju od onih u Europskoj uniji, a zanimljivo je da ne postoji zakonski određena razina parabene već samo preporuke kojih se proizvođači ne moraju pridržavati.

12. Zaključak

Neupitna je izloženost parabenima gotovo svakog čovjeka u svijetu, ako već ne korištenjem proizvoda koji ih sadrže kao konzervanse onda iz okoliša, vode, tla, voća, povrća itd. Kao konzervansi upotrebljavaju se dug niz godina, gotovo cijelo stoljeće, i u tom periodu nijezabilježen velik broj bolesti i stanja koja su dokazano uzrokovana parabenima. Provedeni su desetci, ako ne i stotine istraživanja na temu parabena i njihovih potencijalnih štetnih učinaka pa ipak može se reći da nisu dovoljno istraženi njihovi štetni učinci na zdravlje čovjeka. Nedostaje istraživanja na ljudima i dugogodišnjeg praćenja ispitanika. Štetan učinak koji definitivno mogu izazvati je kontaktni dermatitis, pogotovo na oštećenoj koži. U strogo kontroliranim laboratorijskim uvjetima uz mogućnost manipulacije koncentracijama spojeva dokazana su i svojstva parabena kao endogenih disruptora, te njihov utjecaj na količinu oksidacijskog stresa keratinocita izloženih UV zračenju.

Veći dio istraživanja te njihove učinke dovodi u svezu s bolestima poput raka dojke, testikularne disgeneze, melanoma kože, ali postoje i istraživanja koja te tvrdnje odbacuju. No i dalje su mnoga pitanja učinaka parabena ostala otvorenim.

13. Literatura

Aubert, N., Ameller, T., & Legrand, J. (2012). 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 and Chemical Toxicology, 50(3-4), 445-454. doi:10.1016/j.fct.2011.12.045

Bay, K., Asklund, C., Skakkebaek, N. E., & Andersson, A. (2006). Testicular dysgenesis syndrome: Possible role of endocrine disrupters. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 20(1), 77-90. doi:10.1016/j.beem.2005.09.004

Boberg, J., Taxvig, C., Christiansen, S., & Hass, U. (2010). Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. Reproductive Toxicology, 30(2), 301-312. doi:10.1016/j.reprotox.2010.03.011

Byford, J., Shaw, L., Drew, M., Pope, G., Sauer, M., & Darbre, P. (2002). Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 80(1), 49-60. doi:10.1016/s0960-0760(01)00174-1

Chen, J., Ahn, K. C., Gee, N. A., Gee, S. J., Hammock, B. D., & Lasley, B. L. (2007). Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. Toxicology and Applied Pharmacology, 221(3), 278-284. doi:10.1016/j.taap.2007.03.015

Commission Regulation (EU) No 1004/2014 of 18 September 2014 amending Annex V to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products Text with EEA relevance (http://data.europa.eu/eli/reg/2014/1004/oj

Darbre, P. D. (2004). Underarm cosmetics and breast cancer. European Journal of Cancer Prevention, 13(2), 153. doi:10.1097/00008469-200404000-00013

Darbre, P. D. (2003). Underarm cosmetics and breast cancer. J. Appl. Toxicol. Journal of Applied Toxicology, 23(2), 89-95. doi:10.1002/jat.899

Darbre, P. D., Aljarrah, A., Miller, W. R., Coldham, N. G., Sauer, M. J., & Pope, G. S. (2004). Concentrations of parabens in human breast tumours. J. Appl. Toxicol. Journal of Applied Toxicology, 24(1), 5-13. doi:10.1002/jat.958

Darbre, P. D., & Harvey, P. W. (2008). Paraben esters: Review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. J. Appl. Toxicol. Journal of Applied Toxicology, 28(5), 561-578. doi:10.1002/jat.1358

Darbre, P. D. (2009). Underarm antiperspirants/deodorants and breast cancer. Breast Cancer Research Breast Cancer Res, 11(Suppl 3). doi:10.1186/bcr2424

Dodge, L. E., Williams, P. L., Williams, M. A., Missmer, S. A., Toth, T. L., Calafat, A. M., & Hauser, R. (2015). Paternal Urinary Concentrations of Parabens and Other Phenols in Relation to Reproductive Outcomes among Couples from a Fertility Clinic. Environ Health Perspect Environmental Health Perspectives. doi:10.1289/ehp.1408605

Gee, R. H., Charles, A., Taylor, N., & Darbre, P. D. (2007). Oestrogenic and androgenic activity of triclosan in breast cancer cells. J. Appl. Toxicol. Journal of Applied Toxicology, 28(1), 78-91. doi:10.1002/jat.1316

Golden, R., Gandy, J., & Vollmer, G. (2005). A Review of the Endocrine Activity of Parabens and Implications for Potential Risks to Human Health. Critical Reviews in Toxicology, 35(5), 435-458. doi:10.1080/10408440490920104

Gomez, E., Pillon, A., Fenet, H., Rosain, D., Duchesne, M. J., Nicolas, J. C., . . . Casellas, C. (2005). Estrogenic Activity of Cosmetic Components in Reporter Cell Lines: Parabens, UV Screens, and Musks. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 68(4), 239-251. doi:10.1080/15287390590895054

Hall, G., & Phillips, T. J. (2005). Estrogen and skin: The effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. Journal of the American Academy of Dermatology, 53(4), 555-568. doi:10.1016/j.jaad.2004.08.039

Handa, O., Kokura, S., Adachi, S., Takagi, T., Naito, Y., Tanigawa, T., Yoshikawa, T. (2006). Methylparaben potentiates UV-induced damage of skin keratinocytes. Toxicology, 227(1-2), 62-72. doi:10.1016/j.tox.2006.07.018

Harville, H., Voorman, R., & Prusakiewicz, J. (2007). Comparison of Paraben Stability in Human and Rat Skin. Drug Metabolism Letters DML, 1(1), 17-21. doi:10.2174/187231207779814300

Janjua, N. R., Mortensen, G. K., Andersson, A., Kongshoj, B., & Wulf, H. C. (2007). Systemic Uptake of Diethyl Phthalate, Dibutyl Phthalate, and Butyl Paraben Following Whole-Body Topical Application and Reproductive and Thyroid Hormone Levels in Humans. Environmental Science & Technology Environ. Sci. Technol., 41(15), 5564-5570. doi:10.1021/es0628755

Janjua, N. R., Frederiksen, H., Skakkebæk, N. E., Wulf, H. C., & Andersson, A. (2008). Urinary excretion of phthalates and paraben after repeated whole-body topical application in humans. International Journal of Andrology Int J Androl, 31(2), 118-130. doi:10.1111/j.1365-2605.2007.00841.x

Jönsson, B., Faniband, M., & Lindh, C. (2014). Human biological monitoring of suspected endocrine-disrupting compounds. Asian Journal of Andrology Asian J Androl, 16(1), 5. doi:10.4103/1008-682x.122197

Kang, K., Che, J., Ryu, D., Kim, T., Li, G., & Lee, Y. (2002). Decreased Sperm Number and Motile Activity on the F1 Offspring Maternally Exposed to Butyl p-

Hydroxybenzoic Acid (Butyl Paraben). Journal of Veterinary Medical Science, 64(3), 227-235. doi:10.1292/jvms.64.227

Karpuzoglu, E., Holladay, S. D., & Gogal, R. M. (2013). Parabens: Potential impact of Low-Affinity Estrogen receptor Binding chemicals on Human health. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, 16(5), 321-335. doi:10.1080/10937404.2013.809252

Liao, C., Liu, F., & Kannan, K. (2013). Occurrence of and Dietary Exposure to Parabens in Foodstuffs from the United States. Environmental Science & Technology Environ. Sci. Technol., 47(8), 3918-3925. doi:10.1021/es400724s

Ma, W., Wang, L., Guo, Y., Liu, L., Qi, H., Zhu, N., . . . Kannan, K. (2013). Urinary Concentrations of Parabens in Chinese Young Adults: Implications for Human Exposure. Arch Environ Contam Toxicol Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 65(3), 611-618. doi:10.1007/s00244-013-9924-2

Meeuwen, J. V., Son, O. V., Piersma, A., Jong, P. D., & Berg, M. V. (2008). Aromatase inhibiting and combined estrogenic effects of parabens and estrogenic effects of other additives in cosmetics. Toxicology and Applied Pharmacology, 230(3), 372-382. doi:10.1016/j.taap.2008.03.002

Mirick, D. K. (2002). Antiperspirant Use and the Risk of Breast Cancer. CancerSpectrum Knowledge Environment, 94(20), 1578-1580. doi:10.1093/jnci/94.20.1578

Pedersen, S., Marra, F., Nicoli, S., & Santi, P. (2007). In vitro skin permeation and retention of parabens from cosmetic formulations. International Journal of Cosmetic Science Int J Cosmet Sci, 29(5), 361-367. doi:10.1111/j.1468-2494.2007.00388.x

Peng, X., Adachi, K., Chen, C., Kasai, H., Kanoh, K., Shizuri, Y., & Misawa, N. (2006). Discovery of a Marine Bacterium Producing 4-Hydroxybenzoate and Its Alkyl Esters, Parabens. Applied and Environmental Microbiology, 72(8), 5556-5561. doi:10.1128/aem.00494-06

Pugazhendhi, D., Sadler, A. J., & Darbre, P. D. (2006). Comparison of the global gene expression profiles produced by methylparaben,n-butylparaben and 17β-oestradiol in MCF7 human breast cancer cells. J. Appl. Toxicol. Journal of Applied Toxicology, 27(1), 67-77. doi:10.1002/jat.1200

Ropero, A. B., Alonso-Magdalena, P., Ripoll, C., Fuentes, E., & Nadal, A. (2006). Rapid endocrine disruption: Environmental estrogen actions triggered outside the nucleus. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 102(1-5), 163-169. doi:10.1016/j.jsbmb.2006.09.019

Ross, G. (2006). A Perspective on the Safety of Cosmetic Products: A Position Paper of The American Council on Science and Health. International Journal of Toxicology, 25(4), 269-277. doi:10.1080/10915810600746049

Routledge, E. J., Parker, J., Odum, J., Ashby, J., & Sumpter, J. P. (1998). Some Alkyl Hydroxy Benzoate Preservatives (Parabens) Are Estrogenic. Toxicology and Applied Pharmacology, 153(1), 12-19. doi:10.1006/taap.1998.8544

Satoh, K., Nonaka, R., Ohyama, K., & Nagai, F. (2005). Androgenic and Antiandrogenic Effects of Alkylphenols and Parabens Assessed Using the Reporter Gene Assay with Stably Transfected CHO-K1 Cells (AR-EcoScreen System). Journal of Health Science J. Health Sci., 51(5), 557-568. doi:10.1248/jhs.51.557

Schantz, M. M., Benner, B. A., Heckert, N. A., Sander, L. C., Sharpless, K. E., Pol, S. S., Sjödin, A. (2015). Development of urine standard reference materials for metabolites of organic chemicals including polycyclic aromatic hydrocarbons, phthalates, phenols, parabens, and volatile organic compounds. Anal Bioanal Chem Analytical and Bioanalytical Chemistry, 407(11), 2945-2954. doi:10.1007/s00216-014-8441-0

Schnuch, A., Lessmann, H., Geier, J., Uter, W. (2011). Contact allergy to preservatives. Analysis of IVDK data 1996-2009. British Journal of Dermatology, 1646(6), 1326-25.

Soni, M., Carabin, I., & Burdock, G. (2005). Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). Food and Chemical Toxicology, 43(7), 985-1015. doi:10.1016/j.fct.2005.01.020

Wang, L., Wu, Y., Zhang, W., & Kannan, K. (2013). Characteristic Profiles of Urinary p -Hydroxybenzoic Acid and its Esters (Parabens) in Children and Adults from the United States and China. Environmental Science & Technology Environ. Sci. Technol., 47(4), 2069-2076. doi:10.1021/es304659r

Witorsch, R. J., & Thomas, J. A. (2010). Personal care products and endocrine disruption: A critical review of the literature. Critical Reviews in Toxicology, 40(Sup3), 1-30. doi:10.3109/10408444.2010.515563

Yazar, K., Johnsson, S., Lind, M., Boman, A., & Lidén, C. (2010). Preservatives and fragrances in selected consumer-available cosmetics and detergents. Contact Dermatitis, 64(5), 265-272. doi:10.1111/j.1600-0536.2010.01828.x

Ye, X., Bishop, A. M., Reidy, J. A., Needham, L. L., & Calafat, A. M. (2006). Parabens as Urinary Biomarkers of Exposure in Humans. Environ. Health Perspect. Environmental Health Perspectives. doi:10.1289/ehp.9413

Kirchhof, M. G., de Gannes, G. C. (2013). The health controversis of parabens. Skin Therapy Lett., 18(2):5-7

14. Zahvale

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Jadranki Mustajbegović na svim savjetima, uloženom trudu i vremenu, velikom strpljenju i dostupnosti prilikom pisanja ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji, baki, mami, tati, braći i sestri na svakom obliku potpore koju mi oduvijek pružaju, a naročito tijekom studija.

Veliko hvala svim mojim dobročiniteljima koji su mi pružili financijsku i moralnu podršku tijekom cijelog studija i na taj način učinili moje studiranje lakšim.

Hvala i mojim prijateljima, cimericama i kolegama koji su ovaj težak studij učinili zabavnim.

15. **Životopis**

Rođena sam 2.8.1991. godine u Koprivnici, odrasla sam u malom mjestu Lemešu blizu Križevaca u kojima sam završila osnovnu školu i prirodoslovno-matematičku gimnaziju. Upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu 2010.godine. Tijekom studija aktivno sam sudjelovanje na kongresu NeuRi 2016.g.