

PARABENOS NAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS:
SIM OU NÃO?

Ana Rita Borba Pacheco

Orientadora: Prof^a Doutora Catarina Fialho Rosado

Co-Orientadora: Prof^a Doutora Joana Filipa Portugal Faria da Mota

Lisboa

2018

Dissertação de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentada
na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias pela Escola de
Ciências e Tecnologias da Saúde

**PARABENOS NAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS:
SIM OU NÃO?**

Ana Rita Borba Pacheco

Orientadora: Prof^a Doutora Catarina Fialho Rosado

Co-Orientadora: Prof^a Doutora Joana Filipa Portugal Faria da Mota

Dissertação defendida em prova pública na Universidade Lusófona de Humanidades e
Tecnologias no dia 24/ 04/ 2018, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação
Nº 130/2018 de 29 de Março, com a seguinte composição:

Presidente: Prof^a Doutora Tânia Almeida
Arguente: Prof^a Doutora Ana Sofia Macedo
Orientador: Prof^a Doutora Catarina Fialho Rosado
Vogais: Prof^a Maria Dulce Santos
Prof^a Ana Mirco

Lisboa

2018

Resumo

Os parabenos são amplamente utilizados como conservantes em muitos alimentos, cosméticos e, produtos de higiene pessoal e medicamentos, devido ao seu perfil característico de baixa toxicidade e a uma longa história de uso seguro.

Os parabenos são ésteres de alquil do ácido p-hidroxibenzóico e tipicamente incluem metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, isobutilparabeno, isopropilparabeno e benzilparabeno. Estes compostos são conhecidos por terem um valor nulo ou fraca actividade estrogénica em ensaios *in vitro*.

Algumas pesquisas tem gerado preocupação, onde os parabenos podem estar associados ao cancro da mama. A indústria dos cosméticos tem mantido a ideia de que os parabenos são seguros na exposição humana, enquanto que o impacto dos media tem levado muitas empresas a removê-los a partir dos seus produtos.

Nos últimos anos, surgiu uma preocupação crescente a respeito de possíveis efeitos adversos das substâncias químicas nos alimentos e em cosméticos nos resultados da reprodução humana. Os parabenos podem não ser tão seguros quanto se pensava inicialmente, e uma interacção entre parabenos e a função mitocondrial nos testículos pode ser a chave para explicar a contribuição dos parabenos para uma diminuição do potencial reprodutivo.

Hoje em dia, de acordo com a pesquisa mais actualizada, tanto cientistas como a indústria regulamentar continuam a concordar que não existe estabelecido nenhum vínculo epidemiológico entre parabenos e o cancro de mama. Assim, a substituição de parabenos por outro conservante menos conhecido pode apresentar um risco para o consumidor.

Cabe, portanto, aos líderes industriais, cientistas, médicos e especialistas em cosméticos tranquilizar os consumidores e definir o registo correcto sobre a segurança e eficácia dos parabenos.

Palavras-chave:

Parabenos; conservantes; cosméticos; actividade estrogénica; cancro da mama; reprodução humana.

Abstract

Parabens are widely used as preservatives in many foods, cosmetics, toiletries, and pharmaceuticals due to their relatively low toxicity profile and to a long history of safe use.

Parabens are alkyl esters of phydroxybenzoic acid and typically include methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, isobutylparaben, isopropylparaben and benzylparaben. These compounds are knownto have a null or very weak estrogenic activity in assays *in vitro*.

Some research has raised concern that parabens may be associated to breast cancer. The cosmetics industry has maintained that parabens are safe for human exposure, while the public outcry has caused many companies to remove them from our products.

In recent years, an increasing concern has emerged regarding possible adverse effects of chemicals in food and in cosmetics on human reproduction outcomes. Parabens may not be as safe as initially thought, and suggestions that the interaction between parabens and mitochondrial function in the testis may be key in explaining the contribution of parabens in a decrease in reproductive potential.

However, according to the most updated research, both scientists and industry regulatory agencies continue to agree that there is still no clearly established epidemiologic link between parabens and breast cancer. It is the replacement of parabens by other less-known preservative systems that could present a consumer risk.

It thus up to the industry leaders, scientists, medical doctors, and cosmetic experts to reassure consumers and to set the record straight about the safety and efficacy of parabens.

Key words:

Parabens; preservatives; cosmetics; estrogenic activity; breast cancer; human reproduction.

BP – Butilparabeno

BZP - Benzilparabeno

CIR - Cosmetic Ingredient Review

CPNP - Cosmetic Products Notification Portal

FDA – Administração de Medicamentos e Alimentos

EP - Etilparabeno

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Pressão

IBP – Isobutilparabeno

IMC – Índice Massa Corporal

IP - Isopropilparabeno

MP – Metilparabeno

PCB - Bifenilos policlorados POP -

pesticidas organoclorados PP –

Propilparabeno

SCCS - Comité Científico da Segurança dos Consumidores

UE - União Europeia

Índice Geral

Índice de figuras e tabelas.....	3
I. Introdução.....	4
1. Produto cosmético.....	4
1.1. Definição.....	4
1.2. Colocação no mercado.....	4
1.3. Supervisão do mercado.....	5
2. Conservantes.....	6
3. Parabenos.....	9
3.1. Introdução.....	9
3.2. Características.....	10
3.3. Uso.....	11
3.4. Regulamentação.....	12
II. Exposição humana aos parabenos.....	15
1. Farmacocinética.....	15
2. Grupos vulneráveis.....	18
III. Parabenos e alterações na reprodução.....	20
1. Infertilidade humana causada por xenobióticos.....	20
IV. Parabenos e cancro da mama	25
1. Correlação entre parabenos e tumor mamário.....	26
2. Outros estudos.....	29
V. “Sem Parabenos” – uma questão de marketing?.....	32

VI.	Alternativas aos parabens.....	34
VII.	Conclusão.....	37
VIII.	Bibliografia.....	40

Índice de figuras e tabelas

Figura 1 – Estrutura química dos diversos parabenos: MP, EP, PP, IP, BP, IBP, BZP.....	9
Figura 2 – Frequência do uso de conservantes nas formulações cosméticas em 2005..	11
Figura 3 - Vias de metabolização dos parabenos no homem.....	17
Figura 4 – Detecção de parabenos a partir de amostras de tecido da mama por cromatografia em camada fina.....	26
Figura 5 – Picos cromatográficos relativos ao MP, EP, PP, BP e IPB em amostras de tecido de mama humana.....	27
Figura 6 – Publicidade depreciativa dos parabenos.....	33
Tabela 1 – Alteração da entrada 12 do anexo V do Regulamento N°1223/2009.....	13
Tabela 2 – Introdução da entrada 12-A no presente regulamento.....	14

I. Introdução

1. Produto cosmético

1.1 Definição

De acordo com o Regulamento Europeu de Cosméticos¹, um produto cosmético é qualquer substância ou mistura de substâncias, destinada a ser posta em contacto com as partes externas do corpo, como a epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais. Assim, o seu objectivo passa por, tendo em vista exclusiva ou principalmente, limpá-los, perfumá-los, modificar-lhes o aspecto, protegê-los, mantê-los em bom estado e também corrigir os odores corporais.²

Tal como acontece com os medicamentos, as formulações cosméticas têm que ser eficazes e seguras. Estes produtos actuam não só na higiene, mas também na protecção e estimulação, na hidratação e tonificação, sendo que a multifuncionalidade de um produto cosmético está cada vez mais em evidência.²

As formulações cosméticas são de composição complexa, contendo os ingredientes responsáveis pela actividade cutânea, bem como os que exercem funções específicas e permitem, entre muitas outras, solubilizar, suspender, espessar, conservar, emulsionar e corrigir características organolépticas.²

Os produtos cosméticos podem ser fabricados em Portugal, em território de outro Estado Membro da União Europeia (UE) ou ser provenientes de países terceiros. A importação de cosméticos para introdução em livre prática no mercado da UE carece de apresentação na Autoridade Aduaneira, como suporte da declaração aduaneira, do Documento de Conformidade emitido pelo Infarmed.²

1.2 Colocação no mercado

De acordo com o disposto no Regulamento CE n.º 1223/2009¹, todos os produtos cosméticos colocados no mercado comunitário devem ser alvo de notificação ao Cosmetic Products Notification Portal (CPNP).²

A entidade responsável pela colocação no mercado também tem que ser obrigatoriamente registada no Infarmed, sendo este processo constituído por duas fases: registo na aplicação online de cosméticos do Infarmed; registo no Sistema de Gestão de Receitas e Cobrança de Taxas.²

De acordo com Decreto-Lei n.º 312/2002, de 20 de Dezembro, alterado pelos artigos n.º 155 da Lei 3-B/2010, de 28 de Abril, e 176º da Lei 66-B/2012, de 31 de Dezembro 2013, a comercialização de produtos cosméticos implica o pagamento de uma taxa mensal de 1% sobre o volume final de vendas por parte da entidade acima mencionada.²

1.3 Supervisão do mercado

A supervisão de mercado é da responsabilidade das Autoridades Competentes, como o Infarmed, que para além de proteger o interesse dos consumidores, permite também a protecção dos operadores económicos no que respeita à concorrência desleal e contribui para a credibilidade do sistema legislativo europeu.²

A fim de supervisionar o mercado dos produtos cosméticos, o Infarmed tem ao seu dispor diferentes mecanismos: avaliação documental de notificação e de rotulagem; suspensão da comercialização e/ou retirada do mercado; cláusula de salvaguarda; monitorização de efeitos indesejáveis; cooperação com outras instituições nacionais e autoridades europeias; colheita de amostras e ensaios laboratoriais; acções inspectivas aos operadores económicos.²

O Infarmed tem como uma das suas principais missões a supervisão do mercado, assegurando que independentemente da origem dos produtos cosméticos, estes ofereçam iguais níveis de qualidade e segurança. Neste contexto, são periodicamente realizadas algumas acções de supervisão de mercado direccionadas a determinadas categorias de produtos cosméticos, seleccionados com base em processos de amostragem, tendo em conta critérios considerados relevantes para a protecção dos consumidores.²

2. Conservantes

De acordo com o Regulamento Europeu de Cosméticos, conservantes são substâncias cuja finalidade principal ou exclusiva consiste em inibir o desenvolvimento de microrganismos no produto cosmético.¹

Os conservantes estão presentes em cosméticos para reduzir o risco de contaminação microbiana do produto e garantir que o produto permaneça adequado e inalterado durante o máximo de tempo possível. Sem o uso de conservantes, os produtos cosméticos, assim como os alimentos e outros produtos manipulados directamente pelos consumidores, seriam contaminados com microorganismos, levando à deterioração do produto, perda de desempenho e, possivelmente, irritação, infecções ou outras reacções adversas ao consumidor.³

O sistema de conservação inclui a combinação das propriedades físicas de um produto cosmético, a sua embalagem e os ingredientes conservantes utilizados nas formulações cosméticas, de forma a garantir a qualidade do produto e a segurança para o consumidor.⁴

A solubilidade em água e o pH são duas das características físicas mais importantes de um produto cosmético que constituem a base da selecção de ingredientes conservantes compatíveis. Os produtos cosméticos com elevado teor de água na formulação, tais como os cremes e as loções, o rímel ou o lápis de olhos líquido, deverão conter sistemas conservantes robustos para que se mantenham em boas condições e a sua utilização continue a ser segura.⁴

Um pH muito elevado ou muito reduzido tende a inibir, só por si, o crescimento microbiano, mas, muitas vezes, não é adequado para os ingredientes dos produtos cosméticos, ou a compatibilidade cutânea e os benefícios previstos para os consumidores. Os produtos cosméticos de pH neutro são os que proporcionam melhor compatibilidade cutânea, mas também um ambiente mais propício à sobrevivência e ao crescimento de microrganismos. Também a forma como um produto cosmético é embalado ou a utilização prevista do mesmo afectam a probabilidade de contaminação de um produto cosmético durante a utilização pelo consumidor.⁴

Os conservantes devem, então, ser submetidos a uma avaliação rigorosa, incluindo testes de segurança e de qualidade, para garantir que sejam completamente seguros na sua utilização.³

O Anexo V do Regulamento CE n.º 1223/2009 disponibiliza a lista dos conservantes autorizados nos produtos cosméticos. Os produtos cosméticos colocados no mercado na UE não podem conter conservantes que não constem desse anexo nem conservantes que constem desse anexo mas não sejam usados de acordo com as condições nele estabelecidas.¹

Por exemplo, todos os produtos acabados que contenham formaldeído ou substâncias constantes do anexo V e que libertem formaldeído devem mencionar obrigatoriamente na rotulagem a advertência «contém formaldeído» quando a concentração em formaldeído no produto acabado exceder 0,05 %.¹

A lista dos conservantes utilizados em produtos cosméticos enumerada na versão original do anexo V contém 57 substâncias, mas é periodicamente actualizada, quer nos compostos, quer nas suas condições de uso. Entre muitos outros, podem salientar-se os seguintes conservantes: ácido benzóico e seus respectivos sais e ésteres; ácidos propiónico, salicílico e sórbico e seus respectivos sais; formaldeído e paraformaldeído; diazolidinil ureia; imidazolidinil ureia; isotiazolinonas; fenoxietanol, ácido p-hidroxibenzóico, seus sais e ésteres, mais conhecidos por parabenos.¹

As isotiazolinonas são compostos orgânicos heterocíclicos que são frequentemente usadas e eficazes contra uma variedade de fungos, leveduras e bactérias. Apareceram pela primeira vez nos Estados Unidos em 1980 e 5 anos depois foram introduzidas na Europa.⁵

A cloroisotiazolinona de metilo é comumente encontrada em champôs, produtos de higiene pessoal, cremes para a pele, loções e em produtos industriais, como sistemas de refrigeração de água, tintas, colas, emulsões de látex e papelerias.⁵

Os primeiros relatos de casos de alergia cosmética deste conservante foram documentados por *Foussereau et al* em 1984 e por *Groot* em 1985 na Europa. A cloroisotiazolinona de metilo é muitas vezes combinada com outros conservantes, incluindo parabenos e raramente é utilizada sozinha, pois é um forte irritante e pode causar queimaduras químicas se usada em concentrações elevadas.⁵

Recentemente, foi implementada na UE uma alteração ao anexo V do Regulamento 1223/2009 envolvendo a metilisotiazolinona, sob a forma de Regulamento 2017/1224. Este conservante era admitido em produtos enxaguáveis até uma concentração de 0,01%. No entanto, o Comité Científico da Segurança dos Consumidores (SCCS) emitiu um parecer em 2015, considerando que só uma

concentração 0,0015% é segura para os consumidores em indução de alergia de contacto. Assim, o regulamento de cosméticos foi alterado em conformidade com este parecer.

A diazolidinil ureia foi introduzida pela primeira vez em 1982. Tem uma excelente actividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, e mais uma vez é muitas vezes combinada com outros conservantes, especialmente parabenos, para uma actividade antifúngica ideal. É encontrada em produtos de cosmética como cremes, produtos capilares, sabonetes líquidos, toalhetes para bebés, agentes de limpeza, detergentes, produtos de cuidados solares e medicamentos tópicos. Está presente em muitas formulações em concentrações variando entre 0,1% e 0,5%.⁶

A imidazolidinil ureia foi introduzida em 1970, é solúvel em água e é o segundo conservante de cosméticos mais utilizado, depois dos parabenos, estando presente em 8% a 10% dos produtos cosméticos. Embora seja eficaz contra a maioria das bactérias, é muitas vezes combinada com os parabenos por causa da sua fraca actividade fúngica.⁷

O fenoxietanol é usado como conservante em formulações cosméticas numa concentração máxima de 1%. Tem uma excelente actividade contra uma ampla gama de bactérias gram-negativas e gram-positivas, fermento e mofo. Também é utilizado como solvente e, devido a estas propriedades, é usado em muitas misturas com outros conservantes. Este tipo de conservante é rapidamente absorvido, distribuído, metabolizado e mais de 90% da dose recuperada é excretado na urina.⁸

Os ácidos orgânicos são um tipo de conservante considerado particularmente leve e tolerável. As únicas restrições ao seu uso resultam do valor do pH do produto final.⁹

O ácido sorbico é geralmente considerado como instável, não é capaz de ser armazenado e tem uma tendência à descoloração, especialmente em produtos cosméticos. Isto é então uma razão pela qual o uso de ácido benzóico é preferível, pois tem menos tendência ao amarelado. Contudo, o ácido benzóico só desenvolve a sua eficácia num valor de pH baixo. Para produtos que são ajustados a um pH médio de 5, consideravelmente maiores quantidades de ácido benzóico são, portanto, necessárias.⁹

3. Parabenos

3.1 Introdução

Os parabenos são um tipo de conservante utilizado na cosmética e produtos farmacêuticos, sendo amplamente eficientes na prevenção do crescimento de microorganismos.¹⁰

O grupo dos parabenos inclui o metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP), isopropilparabeno (IP), butilparabeno (BP), isobutilparabeno (IBP) e benzilparabeno (BZP). No entanto, em cosméticos e produtos de higiene pessoal, os mais comuns são o MP, o EP e o PP.¹¹ (Figura 1)

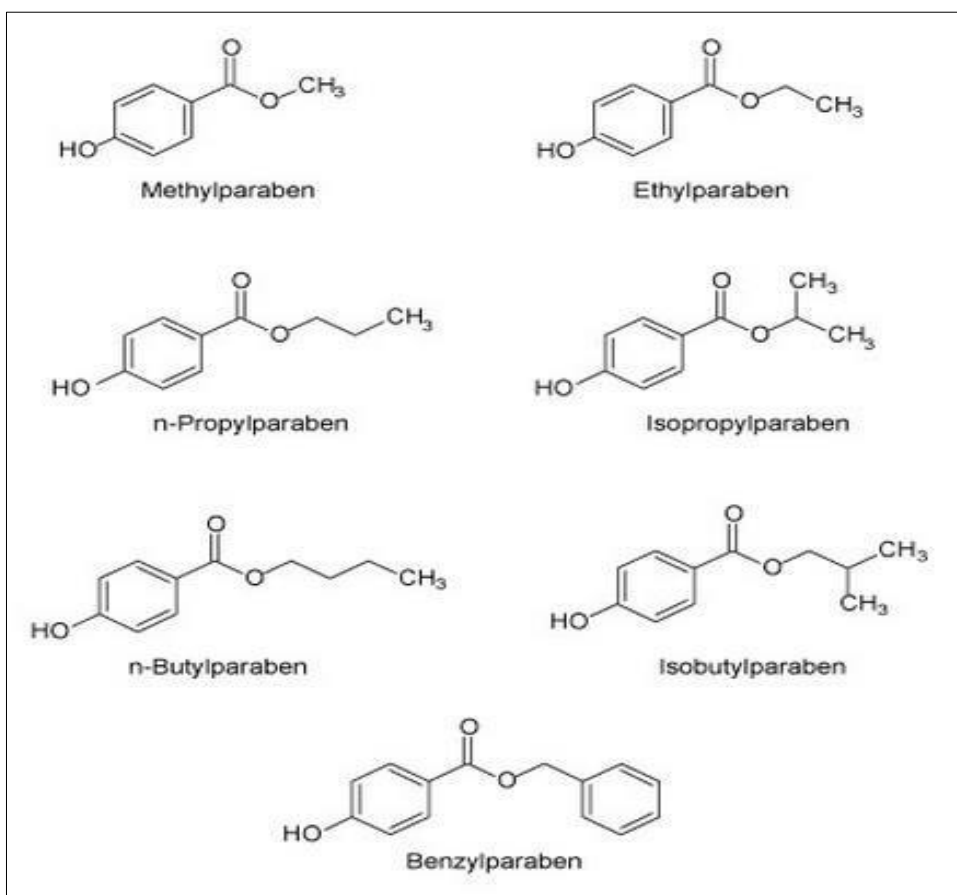


Figura 1 – Estrutura química dos diversos parabenos: MP, EP, PP, IP, BP, IBP, BZP.¹²

Também designados por ésteres de alquil do ácido p-hidroxibenzóico, os parabenos têm provado ser um grupo de agentes microbianos, onde a sua actividade antimicrobiana aumenta com o comprimento do grupo alquil do metil para o n-butil.¹³

Todos os parabenos que são usados comercialmente são produzidos sinteticamente por esterificação do ácido p-hidroxibenzóico, embora alguns destes sejam idênticos aos encontrados naturalmente em produtos de origem vegetal como os mirtilos ou a canela.¹⁴

Tipicamente, num produto cosmético é utilizado mais do que um parabeno, sendo usados frequentemente em combinação com outros tipos de conservantes químicos, no sentido de proporcionar a protecção contra uma ampla gama de microorganismos.¹⁵

Os parabenos têm sido usados na alimentação, produtos cosméticos e medicamentos desde 1920. No entanto, foi em 1984 que foram analisados pela primeira vez pelo Cosmetic Ingredient Review (CIR) como sendo um tipo de produtos seguros. Em 2003 e 2005, o CIR avaliou novamente a sua segurança nos produtos cosméticos, determinando mais uma vez que os parabenos são seguros quando utilizados em cosmética.¹⁶

3.2. Características

Numerosos estudos têm mostrado que os parabenos apresentam diversas características que o tornam os conservantes ideais, especialmente em cosmética. Assim sendo, os parabenos exercem um efeito antimicrobiano de largo espectro sobre uma ampla gama de pH e não são irritantes. Por outro lado, têm um baixo custo e um pH estável.¹¹

Os parabenos de cadeia curta são os mais hidrofílicos e os de cadeia longa são mais lipofílicos. Quando o comprimento da cadeia dos parabenos aumenta, a resistência à hidrólise e a actividade antimicrobiana aumentam, mas há diminuição da solubilidade em água. Como consequência, o MP e PP, que têm cadeias mais curtas, são os mais utilizados em cosméticos.¹²

Uma vez que a replicação microbiana ocorre com maior facilidade na fase aquosa das emulsões óleo/água, a quantidade de parabenos dissolvida na fase aquosa determina, na maior parte dos casos, a eficiência do conservante. Por este motivo, no

sentido de aumentar a capacidade do sistema para suportar a contaminação microbiana, é comum encontrar combinações de dois ou mais homólogos de parabenos na fase aquosa de um único produto.¹²

3.3. Uso

Como referido acima, os parabenos foram utilizados pela primeira vez na indústria farmacêutica em 1920 e hoje em dia encontram-se não só em produtos farmacêuticos, mas também em variados produtos de consumo humano, tais como detergentes e cosméticos. Os parabenos são largamente utilizados para inibir o crescimento microbiano e aumentar o tempo de eficácia em diferentes classes de cosméticos, como protectores solares, produtos de cuidados da pele, condicionadores, champôs, sabonetes e desodorizantes.¹²

Os seres humanos estão, portanto, expostos por inalação, ingestão e absorção percutânea a uma enorme diversidade de parabenos. Mesmo que as exposições aconteçam através de diferentes produtos, a sua principal fonte de exposição são os cosméticos.¹²

Em 2005, na União Europeia, o MP e o PP foram os mais usados em cosméticos, sendo esta combinação de parabenos o sistema de conservação mais utilizado.¹⁷ (Figura 2)

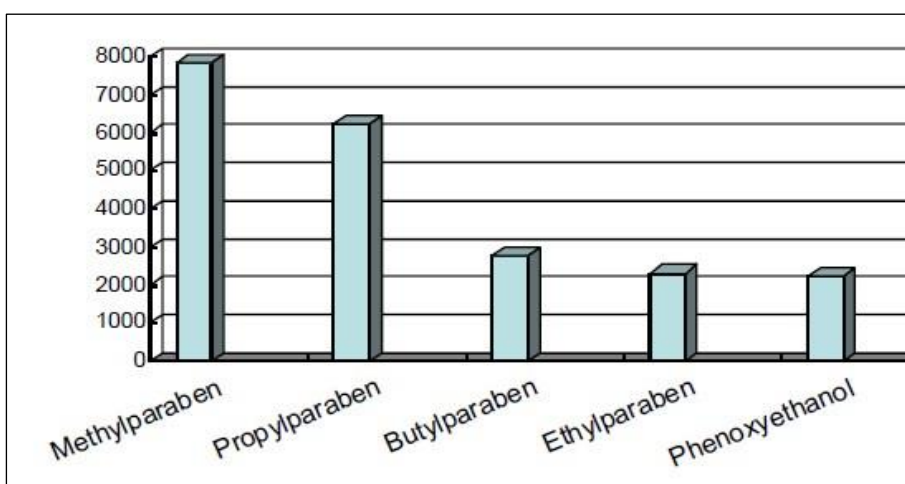


Figura 2 – Frequência do uso de conservantes nas formulações cosméticas em 2005 na UE¹⁸

3.4. Regulamentação

Como já foi afirmado anteriormente, a população humana é exposta a parabenos através de uma ampla variedade de fontes no dia-a-dia.⁶ Reconhece-se que, através da utilização de parabenos em cosméticos, a frequência e duração da aplicação é geralmente contínua e pode estender-se ao longo de um longo período de anos.¹⁷

Os parabenos são permitidos como conservantes em alimentos até 0,1 % e o seu consumo médio diário por seres humanos adultos em alimentos foi estimado em 1984 para ser de 4-6 mg/kg.¹³

A 18 de Setembro de 2014 foi elaborado um Regulamento N°1004/2014 relativo aos produtos cosméticos que entrou em vigor a 16 de Abril de 2015. Este veio alterar o anexo V do Regulamento N°1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho.¹⁶

A partir de 16 de Abril de 2015, só poderiam ser colocados no mercado da UE produtos cosméticos que cumprissem este regulamento e desde 16 de Outubro de 2015, só podem ser disponibilizados no mercado da UE produtos cosméticos que cumpram o presente regulamento.¹³ (Tabelas 1 e 2) Assim, na EU, de acordo com o Regulamento CE 1223/2009, a concentração total máxima permitida em produtos de consumo cosméticos é de 8 g de parabenos por kg de produto, com nenhum parabeno isolado a ter mais do que 4 g/kg.¹

Estas concentrações coincidem com aquelas aconselhadas num parecer de 2010 do CIR, que actualizou a sua anterior avaliação da segurança de parabenos e determinou os seguintes valores como sendo seguros: para o MP, PP, EP e BP até 0,4%, se usados individualmente; até 0,8% em misturas de parabenos.¹⁶

Atendendo às preocupações acerca da utilização de parabenos nos produtos cosméticos não enxaguados destinados a aplicação na zona coberta pelas fraldas em crianças de idade inferior a seis meses, e por razões práticas ligadas ao facto de os produtos destinados a bebés serem geralmente comercializados como destinando-se a crianças com menos de três anos, o BP e o PP foram proibidos em produtos cosméticos não enxaguados concebidos para aplicação na zona coberta pelas fraldas em crianças de idade inferior a três anos.¹⁹

Tabela 1 – Alteração da entrada 12 do anexo V do Regulamento N°1223/2009²⁰

Identificação da substância					Condições			Redacção das condições de utilização e das advertências
Número de ordem	Denominação química/DCI	Denominação no glossário comum de ingredientes	Número CAS	Número CE	Tipo de produto, zonas do corpo	Concentração máxima no produto pronto a usar	Outras	
a	b	c	d	e	f	g	h	i
12	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico, seus ésteres de metilo e etilo e respectivos sais	Ácido 4-hidroxibenzóico Metilparabeno Etilparabeno potássio Parabeno potássio Metilparabeno sódio Etilparabeno sódio Etilparabeno Parabeno sódio Metilparabeno potássio Parabeno cálcio	99-96-7 99-76-3 36457-19- 9 16782-08- 4 5026-62-0 35285-68- 8 120-47-8 114-63-6 26112-07-2 69959-44-0	202-804-9 202-785-7 253-048-1 240-830-2 225-714-1 252-487-6 204-399-4 204-051-1 247-464-2 274-235-4		0,4 % (em ácido) para um éster simples 0,8 % (em ácido) para as misturas de ésteres		

Tabela 2 – Introdução da entrada 12-A no presente regulamento²⁰

Identificação da substância					Condições			Redacção das condições de utilização e das advertências
Número de ordem	Denominação química/DCI	Denominação no glossário comum de ingredientes	Número CAS	Número CE	Tipo de produto, zonas do corpo	Concentração máxima no produto pronto a usar	Outras	
a	b	c	d	e	f	g	h	i
12-A	4-hidroxibenzoato de butilo e seus sais	Butilparabeno Propilparabeno Propilparabeno sódio Butilparabeno sódio	94-26-8 94-13-3 35285-69-9	202-318-7 202-307-7 252-488-1		0,14 % (em ácido) para a soma das concentrações individuais	Não usar em produtos não enxaguados concebidos para aplicação na zona coberta pelas fraldas em crianças de idade inferior a 3 anos	Para produtos não enxaguados concebidos para crianças com idade inferior a 3 anos: “Não utilizar na zona coberta pelas fraldas”
	4-hidroxibenzoato de propilo e seus sais	Butilparabeno potássio Propilparabeno potássio	36457-20-2 38566-94-8 84930-16-5	253-049-7 254-009-1 284-597-5		0,8 % (em ácido) para as misturas de substâncias mencionadas nas entradas 12 e 12-A, em que a soma das concentrações individuais de BP e PP e seus sais não excede 0,14 %		

II. Exposição humana aos parabenos

1. Farmacocinética

Através da realização de vários estudos *in vivo*, com recurso a diversos modelos animais, como ratos, coelhos e cães, sabe-se que os parabenos são rapidamente absorvidos por via oral e esta absorção é quase completa, sendo que posteriormente são hidrolisados por esterases do fígado. Esta metabolização tem como resultado o ácido p-hidroxibenzóico como metabolito primário, sendo que vai originar outros metabolitos que vão ser excretados na urina meia hora após ingestão.²¹

No que diz respeito à absorção tópica, esta toma uma importância acrescida quando se pensa no facto de muitos dos produtos cosméticos possuírem parabenos na sua formulação. Assim, neste caso o tipo de formulação, ou seja, se é hidrofílica ou hidrofóbica, vai influenciar a sua absorção através da pele. Verifica-se uma maior permeabilidade quando se está perante um produto com característica lipófilas, e por consequência há maior absorção percutânea dos parabenos aquando da aplicação deste tipo de produtos.²¹

Outra questão com que os investigadores se têm deparado, é o facto de esta absorção também ser diferente de acordo com o tipo de parabenos em questão. Assim estudos *in vitro* demonstraram que ocorria uma absorção crescente de EP, PP e BP comparativamente com o MP.²¹

Ao estudar a absorção tópica de parabenos, é importante considerar as diferenças de absorção entre pele saudável e danificada. Como a pele danificada é mais comum na área da fralda de bebés em comparação com a pele de um adulto, é especialmente importante que essas exposições sejam conhecidas, a fim de se realizarem avaliações de risco.¹²

Face à excreção dos parabenos e seus metabolitos, é de notar que estes são eliminados na urina quase na sua totalidade. De acordo com ensaios realizados em ratos,

2% ficam retidos em tecidos e 4% são excretados nas fezes.²²

Em mamíferos, os parabenos são principalmente hidrolisados a ácido 4-hidroxibenzóico, o qual é depois conjugado com o sulfato, com o ácido glucurónico ou com a glicina, antes de serem excretados na urina. As esterases são responsáveis pela eficiente hidrólise dos parabenos a ácido 4-hidroxibenzóico.²²

Em humanos, os parabenos podem também ser excretados como conjugados de sulfato e glicuronídeos.²²

As reacções de glicuronidação são concretizadas pelas UDP-glicuronosiltransferases (UGT). Estas catalisam a ligação do ácido glicurónico de um dador de alta energia, o ácido UDP-glicurónico, a substâncias estruturalmente não relacionadas que contêm um grupo aceitador nucleofílico, conduzindo à formação de

glicuronídeos hidrofílicos que são excretados na urina e pela bÍlis.²² (Figura 3)

Janjua et al. investigaram durante 24 horas o nível de excreção urinária de BP total após a aplicação cutânea, observando-se uma recuperação média de apenas 0,32%. À primeira vista, poder-se-ia pensar que é uma pequena percentagem, considerando a grande dose de parabenos que foi aplicada (2%). No entanto, como os parabenos sulfatados têm demonstrado ser o principal conjugado do MP e PP, e como o PHBA tem mostrado ser o principal metabolito dos parabenos em geral, o resultado de 0,32% é provavelmente uma subestimativa da exposição, dado que nem glicuronídeos conjugados, nem PHBA, foram medidos.²³

Nem todos os estudos *in vivo* em animais experimentais detectaram parabenos excretados após a aplicação dérmica. *Aubert et al.*, por exemplo, não detectou parabenos em ratos do sexo masculino ou do sexo feminino, após administração por via dérmica de 100 mg/kg MP e PP. Devido a diferenças no metabolismo e absorção de humanos e de ratos, os resultados dos estudos com ratos não podem ser directamente adaptados para os seres humanos. A extrapolação dos resultados de estudos em ratos para humanos deve primeiro ser produzida e validada, pois tal como sugerem outros estudos, isto pode dever-se a uma hidrólise mais fácil dos parabenos em ratos do que em humanos.²³

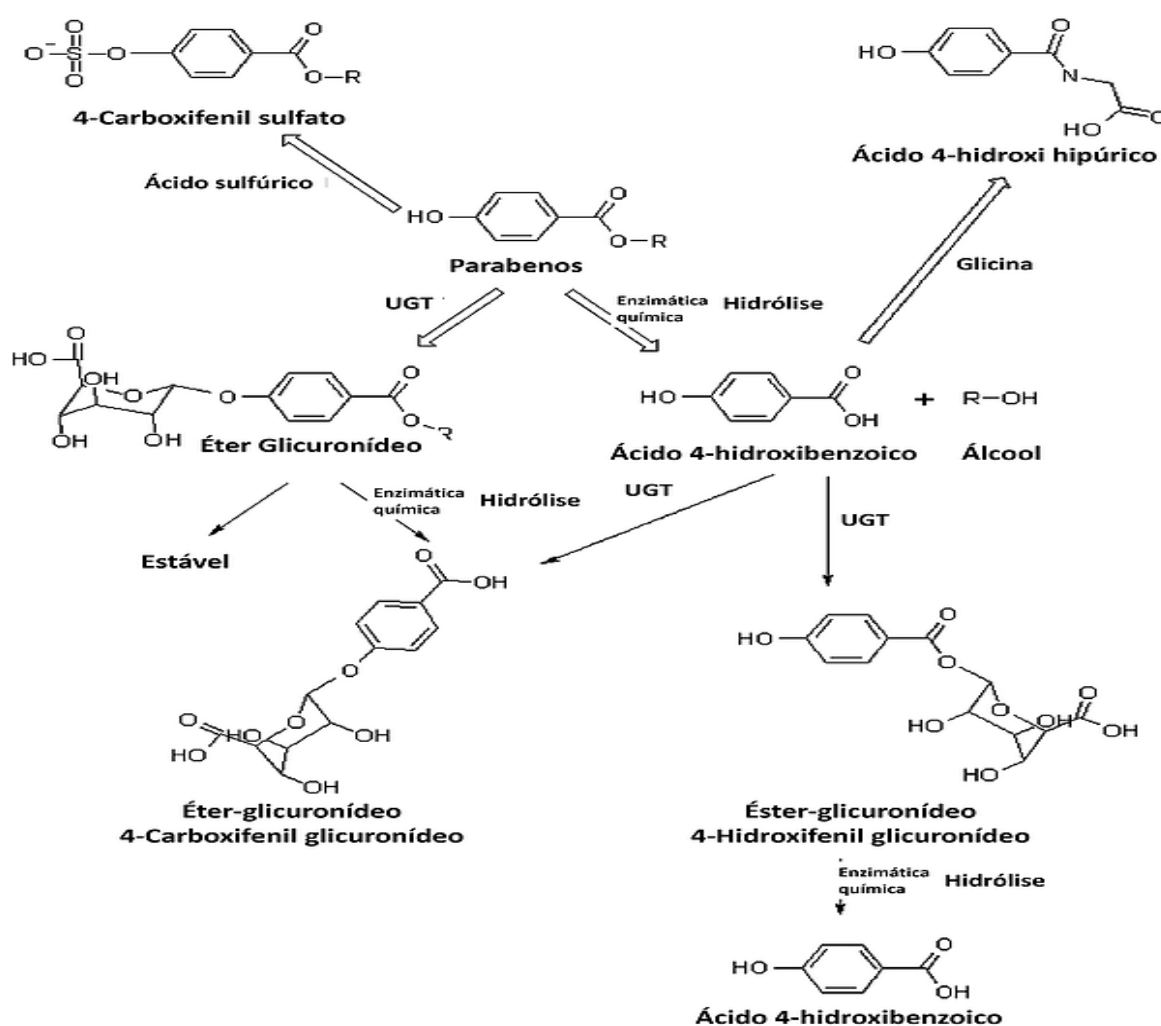


Figura 3 - Vias de metabolização dos parabenos no homem. São metabolizados através da hidrólise por esterases e por meio da glicuronidação catalisada pelas UDP glicuronosiltransferases (UGT) usando ácido UDP-glicurônico. Produzem também conjugados sulfônicos pelas sulfotransferase (ST) usando 3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato (PAPS) como substrato dador de sulfato, ou o ácido 4-hidroxihipúrico através da transferase de aminoácidos (EM) usando a glicina como substrato dador.²³

2. Grupos vulneráveis

Os parabenos têm sido detectados em amostras de sangue do cordão umbilical humano, em amostras de urina de ratos obtidas a partir de recém-nascidos e na placenta e líquido amniótico, o que demonstra que os fetos podem ser expostos aos parabenos.¹³

As grávidas são consideradas um grupo de risco, existindo a necessidade de perceber até que ponto estes compostos podem afectar o feto. Recentemente, foi publicado um estudo no qual participaram 50 grávidas, 47 das quais apresentavam concentrações de MP no sangue e também no cordão umbilical. Neste mesmo estudo analisaram a presença de BP, e este foi encontrado em 4 mães e 8 amostras do cordão umbilical.¹³

Assim, está documentado que existe a passagem transplacentária dos parabenos, contudo, mais estudos terão que ser realizados pois não se sabe que implicações isso pode trazer para o feto.²⁴

Mesmo que os estudos indiquem que os fetos podem ser expostos a parabenos através da mãe, foi discutido se os fetos estão melhor protegidos contra os parabenos do que bebés e crianças expostos por via dérmica. A sugestão surge a partir do metabolismo rápido dos parabenos e da sua possível metabolização no corpo da mãe antes de atingir o feto. Como um estudo identificou maiores concentrações de MP, EP e PP na urina da mãe do que nos recém-nascidos, esta hipótese pode ser levada em atenção. No entanto, não há nenhum outro estudo comparando os níveis de parabenos por via dérmica aplicadas em recém-nascidos ou em crianças.¹²

Uma outra investigação revelou que em crianças com menos de 6 meses, não se exclui um risco de exposição aos parabenos quando os cosméticos são aplicados na zona da fralda, pois a pele nesta área pode tornar-se facilmente irritável, tendo por isso uma barreira comprometida. É também possível que a capacidade metabólica de crianças tão pequenas pode ainda não ser madura o suficiente para, rapidamente e efectivamente, excretar os parabenos que permeiam através da pele. Sendo assim, mais uma vez fica reforçada a ideia de que são necessárias mais pesquisas, a fim de reduzir incertezas e avaliar mais precisamente o potencial risco de parabenos em crianças aos diferentes produtos cosméticos.¹⁹

Tem-se verificado que ao longo da gravidez há um decréscimo das concentrações de parabenos na mulher. Isto pode dever-se a mudanças na frequência de

uso de cosméticos, mas também a mudanças nos factores fisiológicos, como um aumento do índice de massa corporal (IMC), a expansão do volume plasmático e a mobilização óssea. Estas alterações podem também estar relacionadas com a utilização de produtos especialmente destinados à gravidez ou à maternidade, como cremes contra as estrias, ou pode ser causada por uma redução geral no uso de cosméticos.¹²

Outro dos grupos vulneráveis aos parabenos são os obesos. Existem estudos que demonstram que os parabenos são promotores da adipogénese, uma vez que aumentam o número de adipócitos e activam determinados receptores como o receptor activado por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ) e o receptor activado por proliferadores de peroxissoma alfa (PPAR α). O primeiro possui um papel importante na diferenciação dos adipócitos e está amplamente expresso no tecido adiposo, sendo que o PPAR α , embora esteja em menor quantidade, também se destaca pela sua importância no catabolismo dos ácidos gordos.²⁵

Num estudo realizado em células 3T3-L1 de ratinho, foi demonstrado que os parabenos causam um aumento na acumulação de lípidos, o que traduz a sua influência na diferenciação do adipócito. No entanto, mais uma vez, nem todos os parabenos exercem o mesmo efeito, pelo que o tamanho da cadeia alquila apresenta-se relacionado com o aumento da diferenciação do adipócito. Assim, existe uma influência crescente do MP, EP, PP e BP na adipogénese. É de referir que este estudo limitou-se apenas a demonstrar uma relação entre os parabenos e a adipogénese *in vitro*. Sendo assim, conclui-se que mais estudos serão necessários para prever um efeito *in vivo* e estabelecer uma directa ligação dos parabenos com a obesidade.²⁶

III. Parabenos e alterações na reprodução

Outra das áreas de estudo neste âmbito tem sido o efeito dos parabenos no sistema reprodutor masculino, onde as descobertas têm sido controversas.²⁷

Ao longo dos últimos 50 anos, distúrbios reprodutivos do sexo masculino têm sido documentados, havendo um aumento da incidência na população humana de quatro problemas de saúde reprodutiva masculina, como: criptorquidia, hipospadia, redução da qualidade do sêmen e cancro testicular. No entanto, se a causalidade deste problema envolve a exposição a produtos químicos estrogénicos neste período de tempo sensível, essas fontes de tal exposição permanecem ainda incertas.²⁷

A interacção entre os parabenos e a função mitocondrial nos testículos pode ser a chave para explicar a contribuição destes compostos numa diminuição do potencial reprodutivo.²⁷

O metabolismo energético é o processo fundamental que suporta todas as funções celulares e é de importância crucial no esperma, sendo constituído por células móveis que têm de se deslocar rapidamente para encontrar e fertilizar o óvulo. Para essas células, o consumo de ATP é muito mais elevado.²⁷

1. Infertilidade humana causada por xenobióticos

Apesar do aumento dos conhecimentos sobre a fisiologia da infertilidade, as razões para este problema permanecem não diagnosticadas na maior parte dos casos.¹⁷

Devido à irresponsável actividade humana, os poluentes ambientais podem ser parcialmente responsáveis por alguns destes casos. De fato, a evidência epidemiológica suporta uma associação entre a exposição a tóxicos ambientais e resultados reprodutivos, inclusive em seres humanos.¹⁷

Apesar de haver uma maior preocupação sobre os efeitos dos parabenos num possível papel no aumento da incidência de cancro de mama, alguns xenobióticos como os poluentes orgânicos ou os parabenos, actuam interferindo com o eixo hipotálamo-pituitário-adrenal normal, mimetizando hormonas, bloqueando efeitos hormonais ou desencadeando inadequadas actividades hormonais. Assim, e uma vez que eles tendem

a mimetizar hormonas femininas, estes compostos vão afectar especialmente a função reprodutora masculina.¹⁷

Existe ainda pouca informação sobre os efeitos de parabenos na função produtora de esperma humano, embora um certo número de estudos com modelos animais já tenham sido realizados.¹⁷

Repetidas dosagens orais de PP e BP na dieta de roedores juvenis resultaram em alterações nas funções do sistema reprodutor masculino, incluindo a espermatogénese, a secreção de testosterona e peso do epidídimo, assumindo-se que resultam da actividade estrogénica dos parabenos. A evidência foi documentada numa exposição a produtos químicos estrogénicos, causando desregulação endócrina em espécies aquáticas e também numa exposição aos ftalatos, produtores de anomalias reprodutivas masculinas em roedores de laboratório com modelos semelhantes aos observados em humanos.²⁷

Sabe-se então que a exposição de roedores a BP e a PP afectou a síntese de testosterona e a normal função reprodutiva masculina. Por outro lado, um recente estudo realizado pelo mesmo autor exibiu resultados contrários para o MP e EP.²⁷

Apesar dos parabenos terem uma fraca actividade estrogénica, estes resultados estão de acordo com estudos que indicam que os ésteres de metil e de etil têm menos potencial *in vitro* e em *in vivo* de actividade estrogénica do que o PP ou a mais potente forma, o BP.¹⁰ Na verdade, um outro estudo realizado em peixes demonstrou que o EP é aproximadamente sessenta vezes menos potente que PP e o BP.¹⁷

Um outro estudo sobre os efeitos da exposição materna ao BP durante os períodos de gestação e lactação demonstrou que esta exposição pode afectar adversamente o desenvolvimento do órgão reprodutor masculino.¹⁷

Esses efeitos podem resultar do BP atravessar a placenta durante a gestação ou passar para o leite durante a amamentação, ou uma combinação de ambos, e por isso, continuam a ser investigados. No entanto, a sensibilidade de roedores do sexo masculino no início do pós-natal para o desenvolvimento de distúrbios reprodutivos quando expostos a BP por via alimentar tem sido confirmada em estudos subsequentes.²⁷

A proporção de crias que nascem vivas e a percentagem de filhotes sobreviventes foram significativamente menores após exposição ao BP. Além disso, o peso dos órgãos do aparelho reprodutor masculino (testículos, vesículas seminais e

glândulas da próstata), a contagem de espermatozoides e a mobilidade do espermatozoide foram negativamente afectados.¹⁷

Dado que os parabenos são reconhecidos por poderem penetrar na pele, permanece a questão de saber se as consequências da aplicação tópica de parabenos serão semelhantes em roedores machos no período pós-natal e em humanos. Esta é uma questão importante porque os parabenos são usados em uma ampla gama de toalhetes e cremes, que são aplicados sobre a pele da área genital de bebés, permitindo absorção e acumulação (especialmente na sequência de assaduras) em tecidos subjacentes dos órgãos reprodutivos durante todo este tempo.²⁷

Um estudo realizado por *Fisher et al.* demonstrou que num conjunto de ratos neonatais masculinos injectados com 2 mg / kg de BP, entre os 2 e os 18 dias, não foi detectável nenhuma alteração em qualquer parâmetro reprodutor.¹⁷

Pelo contrário, *Oishi* não reportou nenhum efeito relacionado com tratamentos que contenham PP nos órgãos reprodutivos, mas houve uma diminuição do peso das vesículas seminais após ingestão de BP. Além disso, um significativo declínio da escala de reservas de espermatozoides foi descrito aquando do consumo de MP e BP. No entanto, o mesmo autor constatou que nem as funções reprodutivas masculinas nem as concentrações hormonais séricas, incluindo a testosterona, LH e FSH, foram afectadas por MP e EP a um nível de dose de cerca de 1000 mg / kg de peso corporal / dia.²⁸

Estes resultados estão de acordo com dados anteriores onde não foram observados efeitos adversos histopatológicos nos órgãos reprodutores masculinos em roedores alimentados com 0,6-10%, 2% e 0,15-0,6% de BP, 6, 8 e 102 semanas, respectivamente. No entanto, esses estudos não determinam parâmetros do espermatozoide ou dos níveis hormonais reprodutivos.²⁸

Um estudo recente realizado por *Hoberman et al.* tentou reproduzir as mesmas condições que foram relatadas por *Oishi*. Mesmo assim, ratos machos expostos por via oral a 0,1, 1 ou 10 ppm de MP ou BP durante 8 semanas não apresentaram qualquer mudanças significativas no peso dos órgãos reprodutivos, na motilidade do espermatozoide e na contagem do espermatozoide. Além disso, não houve modificações nos níveis hormonais em animais tratados com BP. Portanto, o estudo sugere que um rápido metabolismo de parabenos por esterases pode ser a razão por que esses componentes não induzem

efeitos *in vivo* quando administrados por via oral.²⁹

Os parabenos são estruturalmente semelhantes a alguns estrogénios ambientais

como os inibidores sulfotransferases, por isso, é possível que os parabenos interajam com outros processos no ciclo de estrogénio da pele.²⁹

Na verdade, um estudo realizado por *Prusakiewicz et al.* mostrou que os parabenos inibem o estrogénio e a sulfatação de estradiol através da inibição da actividade da sulfotransferase na pele, sugerindo que a aplicação tópica de parabenos pode levar a efeitos estrogénicos prolongados na pele.³⁰

Em uma série de estudos *in vitro*, os parabenos foram capazes de se ligar ao receptor de estrogénio, activando os genes controlados por esses receptores, e estimulando o crescimento celular e aumentando o nível de estrogénio reactivo.³⁰

A administração subcutânea de BP também tem demonstrado que há um aumento de peso uterino *in vivo* em ratinhos e ratos imaturos e adultos, confirmando a sua actividade estrogénica.³⁰

Embora os efeitos dos parabenos pareçam afectar negativamente a reprodução do sexo masculino, mais estudos são necessários para entender melhor a toxicidade e também estabelecer limiares fiáveis que possam indicar com precisão quando a reprodução pode ser seriamente comprometida. Até agora, não há relatos publicados sobre os efeitos dos parabenos em gâmetas femininos.³⁰

Como referido anteriormente, o MP e PP, os dois parabenos mais vulgarmente encontrados, são também inibidores potentes da função mitocondrial. Este efeito sobre a função mitocondrial tem sido proposto como um mecanismo para o seu possível papel na infertilidade masculina. Essa acção por si só pode torná-los xenobióticos indesejáveis, especialmente para qualquer pessoa com problemas de saúde relacionados com a disfunção mitocondrial.¹⁰

Em geral, os estudos *in vivo* sugerem que, nos níveis atuais de exposição, o impacto dos parabenos na reprodução, no desenvolvimento e na homeostase parece ser de importância marginal.³¹

No entanto, alguns estudos envolvendo populações humanas conseguiram encontrar fraca, mas significativa relação entre a concentração de parabenos na urina com os bio marcadores de stresse oxidativo, com a lesão no DNA dos espermatozóides e com as hormonas da tiróide presentes no soro.³²

Embora as correlações possam ser coincidência, não parece razoável excluir a possibilidade de que os parabenos, mesmo em muito baixas concentrações, tenham influência na homeostase do organismo.³²

Mais pesquisas são necessárias, incluindo estudos que comportem maior número de amostras envolvendo os seres humanos, para avaliar os possíveis efeitos adversos dos parabenos. Além disso, a influência dos parabenos noutros tecidos sensíveis aos esteróides, em particular aqueles que fazem parte do sistema imunológico e do sistema nervoso central, devem ser testados.²²

IV. Parabenos e cancro da mama

No final de 1990, vários estudos já sugeriam que os parabenos tinham uma actividade estrogénica. Routledge, em 1998, foi o primeiro a propor que os parabenos teriam uma actividade estrogénica intrínseca e a capacidade para activar *in vitro* receptores de estrogénio. A controvérsia por si gerada no final dos anos 90, intensificou-se em 2004 quando Darbre encontrou vestígios de parabenos em 18 das 20 amostras de tecido mamário.³³

Surge então o artigo intitulado “Concentrations of parabens in human breast tumours”, publicado no *Journal of Applied Toxicology*, que veio mudar drasticamente o modo como os parabenos são encarados pela sociedade em geral e pelas grandes marcas mundiais de cosméticos.³³ Neste trabalho, que foi amplamente difundido pela comunicação social, os autores expressavam que os parabenos utilizados em cosméticos, principalmente em desodorizantes, poderiam causar cancro de mama. Na sequência disto, e sob pressão dos consumidores que estavam mal informados, inúmeras empresas de cosméticos terão alterado as suas fórmulas, substituindo os parabenos por sistemas conservantes alternativos.¹¹

Os dados epidemiológicos indicam que a incidência de cancro de mama, que é o cancro mais comum entre as mulheres nos países industrializados, tem vindo a aumentar exponencialmente. O facto mais alarmante é a crescente incidência deste tipo de cancro, não apenas em mulheres pós-menopausa, mas também em mulheres jovens (menores de 35 anos). Isto pode ser explicado não apenas por uma predisposição genética, mas também por factores ambientais, que perturbam o metabolismo hormonal e induzem instabilidade no gene humano.³⁴

Os resultados controversos de vários estudos sugerem que certos ingredientes nos cosméticos podem estar ligados ao cancro de mama.³⁴

Um dos mecanismos apontados que justifique a elevada incidência do cancro da mama, bem como a quantidade de parabenos encontrada neste tecido é o facto dos parabenos apresentarem afinidade para o receptor dos estrogénios, embora esta seja baixa. Para além disto, foi mostrado que os parabenos apresentam um efeito potenciador dos estrogénios, uma vez que participam na inibição de enzimas sulfotransferases, traduzindo-se num aumento de estradiol livre e da actividade da aromatase, que por sua vez desempenham um papel importante na estimulação do crescimento das células

epiteliais da mama. Um outro mecanismo que poderá estar envolvido nesta associação dos parabenos com o aparecimento do cancro da mama passa pelas lesões que podem causar no DNA.³⁴

Contudo, é necessário mais evidências que comprovem esta associação, assim como o desenvolvimento de mais estudos sobre os mecanismos envolvidos.³⁴

1. Correlação entre parabenos e tumor mamário

Como já foi indicado anteriormente, uma das primeiras investigações nesta área foi realizada por Darbre et al em 2004. Este estudo teve como objectivo investigar se os parabenos podem ser detectados no tecido da mama humana, recorrendo a amostras de tumor da mama.¹³

Numa fase inicial do trabalho foi demonstrado que este composto pode ser extraído a partir desses tecidos e detectado por cromatografia em camada fina (figura 4).

Estudos posteriores, nesta mesma investigação, permitiram a identificação e a medição da média das concentrações de parabenos individuais em amostras de 20 tumores da mama humanos, por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) seguida por espectrometria de massa.¹³

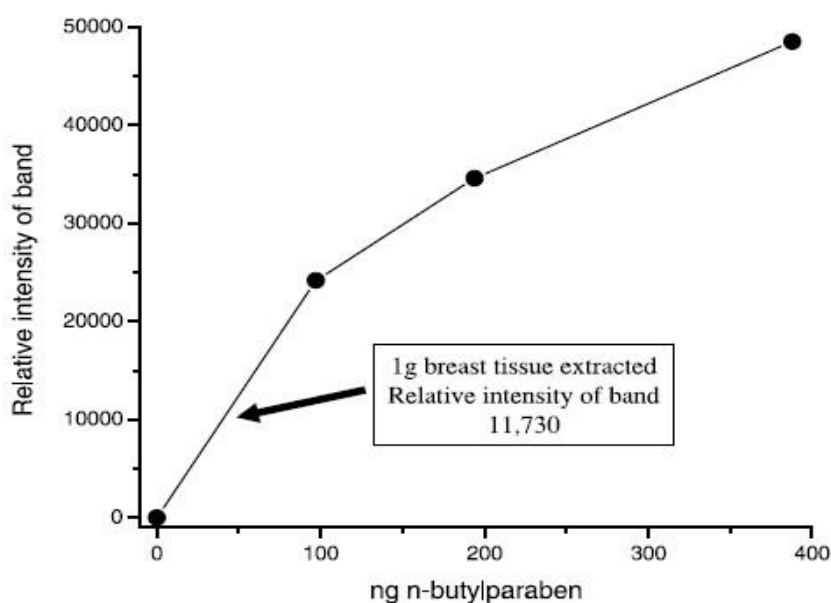


Figura 4 – Detecção de parabenos a partir de amostras de tecido da mama por cromatografia em camada fina.¹³

A concentração média de parabenos nestes 20 tumores da mama humanos foi de $20,6 \pm 4,2$ ng/g de tecidos. Uma análise qualitativa e quantitativa mostrou que o MP estava presente ao nível mais elevado (com um valor médio de $12,8 \pm 2,2$ ng/g de tecido), representando 62% do total recuperado de parabenos nas extracções.¹³

Os picos cromatográficos devido ao MP, EP, PP, BP e IPB foram detectados nos extractos de tumores mamários em análise. Não foi detectado BZP em qualquer um dos extractos de tumores (figura 5).¹³

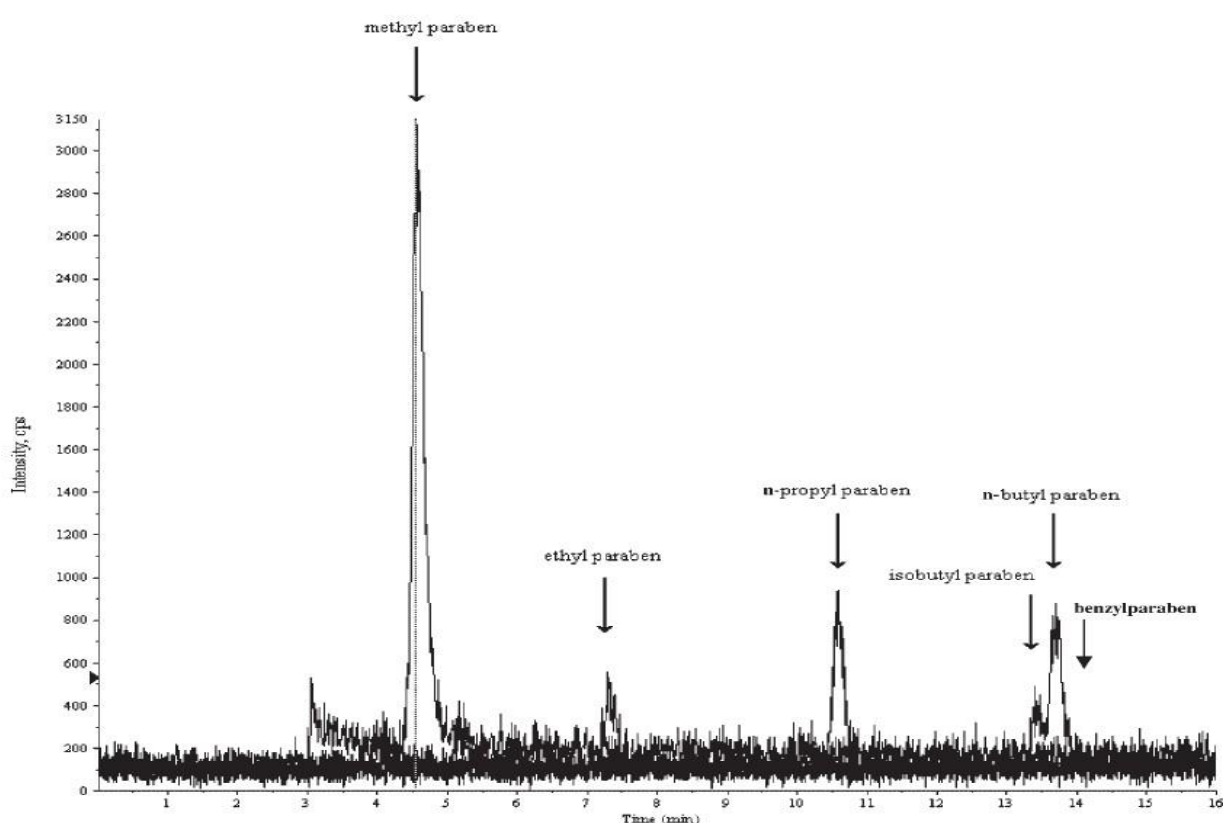


Figura 5 - Picos cromatográficos relativos ao MP, EP, PP, BP e IPB em amostras de tecido de mama humana.¹³

Os valores para o total de parabenos presente nas 20 amostras de tumor mamário situaram-se entre 0-54,5 ng/g de tecido, com uma média geral de 20,6 ng/g.¹³

Estes estudos demonstraram que os parabenos podem ser detectados em tecido de mama humana, abrindo o caminho para trabalhos mais aprofundados.¹³

Uma das questões controversas deste trabalho foi a presença de parabenos nas amostras de controlo, o que provavelmente está relacionado com o uso de parabenos

como conservantes em detergentes de laboratório e nos produtos de cuidados pessoais dos investigadores. Trabalhos mais recentes feitos pelo mesmo grupo de investigação revelaram que a imersão de todo o material de vidro em 1,0 M de hidróxido de sódio aquoso, seguida por uma lavagem com água destilada, antes da utilização deste material de vidro na extracção de tecido, reduzem significativamente os valores de parabenos detectados nos controlos.¹³

Como indicado acima, o nível total de parabenos foi, então, na ordem de 20 ng/g de tecido. Este valor adiciona então os parabenos à lista de estrogénios químicos ambientais que podem ser encontrados no tecido mamário humano, que já inclui também bifenilos policlorados (PCBs) e pesticidas organoclorados. (POPs). No entanto, a maioria dos estudos de bioacumulação de poluentes químicos são realizados usando amostras de soro ou urina, e os estudos usando tecido adiposo da mama são poucos. Além disso, em relação aos parabenos, são apenas seis as formas industrialmente usadas, enquanto que para os PCB existem 209 congêneres, o que torna a sua detecção um processo mais complicado.¹³

É interessante notar que o parabeno detectado em maior quantidade foi o MP. Isso pode reflectir o seu uso mais generalizado em produtos de consumo, mas pode também indicar uma maior capacidade do MP para absorvido e para resistir à hidrólise pelas esterases da pele humana e do tecido adiposo subcutâneo. Por contraste, o facto de o BZP não ter sido encontrado em qualquer um dos 20 tumores da mama pode igualmente ser atribuído ao seu menor uso em produtos de consumo.¹³

Uma das principais questões apontadas durante esta investigação está relacionada com as amostras de tumor usadas e a variação na infiltração do tumor com o tecido adiposo e no sangue. Será, então, importante em trabalhos futuros ter informações histológicas mais precisas sobre os tumores, para ser possível relacionar os resultados obtidos em tecido adiposo e não adiposo.¹³

Também deverá ser importante estudar se existe alguma diferença entre os níveis detectáveis nos tumores da mama em comparação com material não-tumoral adjacente, a fim de determinar se os níveis mais elevados de acumulação se encontram efectivamente nos tumores.¹³

2. Outros estudos

Após a divulgação do estudo de Darbre, foram vários os autores que levantaram críticas à sua investigação.

A maioria dos investigadores pensa que não foi estabelecida uma associação inequívoca entre os parabenos e o cancro da mama. Alguns até recomendam o uso preferencial de MP por causa da sua actividade estrogénica e da sua absorção reduzida através da pele.¹³

Ao estudo de Darbre são, então, apontadas várias falhas. Em primeiro lugar, é baseado num pequeno número de amostras em que todas elas são tecidos de tumor mamário, não tendo sido feita uma comparação com tecido mamário obtido de mulheres saudáveis.¹¹ Além disso, é importante frisar que o estudo não demonstrou que os parabenos causam cancro de mama, mas apenas mostrou que estes foram encontrados em tecido tumoral mamário.¹⁶

Em segundo lugar, e como já foi referido, as amostras de controlo estavam contaminadas por parabenos de origem desconhecida. É plausível, então, supor que os parabenos quantificados nas amostras de tumor poderiam, assim, vir de uma contaminação externa em vez de a partir do tecido do tumor da mama.¹¹

Uma via óbvia de entrada para o tecido da mama é por absorção percutânea local a partir da axila e as fontes poderiam, portanto, ser os cosméticos aplicados nesta zona. No entanto, esta hipótese deveria ser confirmada, e o próprio Darbre deixou claro que o seu estudo não identifica a rota de entrada dos produtos no tecido mamário nem demonstra os possíveis efeitos sobre a mama.¹¹

Por outro lado, embora os dados possam ser compatíveis com outros locais de absorção, seria importante determinar os níveis de parabenos noutras amostras, como o sangue, tecido adiposo e também aqueles mais sensíveis ao estrogénio (gónadas, por exemplo). Ainda pode ser mencionado que neste estudo Darbre analisou os parabenos devido ao seu uso em desodorizantes e antitranspirantes cosméticos, porém, uma grande variedade de outros produtos químicos também podem ter parabenos em níveis que podem ter actividade estrogénica no organismo humano.¹¹

Em conclusão, os resultados do artigo de Darbre, por si só, não sugerem que estes produtos químicos causaram os tumores nestes pacientes em estudo. Antes pelo

contrário, esses resultados convidam a questões: Como é que os parabenos entraram na mama? Eles são persistentes e podem ser nocivos? As respostas exigem a realização de novas pesquisas.⁶ Estas pesquisas também devem considerar a população sensível e subgrupos, especialmente adolescentes e parentes em primeiro grau de pacientes com cancro de mama, e requer protocolos com sensibilidade para elucidar os efeitos a longo prazo.¹¹

Num artigo publicado também em 2004 são tiradas conclusões muito diferentes e é enfatizada a segurança dos parabenos, sendo inclusivamente afirmado que estes não se acumulam no corpo humano. O mesmo artigo mostrou que os parabenos não produzem anomalias fetais em estudos realizados com animais.³⁵

As agências reguladoras têm também produzido estudos e pareceres com resultados favoráveis à utilização de parabenos. O CIR publicou um relatório em Dezembro de 2005 declarando que, depois de analisar cuidadosamente os dados existentes sobre os parabenos, não foram encontradas evidências de suporte à sua proibição.¹¹

Investigadores do Centro de Prevenção do Cancro da Mama do Hospital Universitário de Manchester do Sul realizaram um estudo para entender melhor a presença dos parabenos no tecido mamário e sua distribuição na mama em relação ao local dos tumores mamários. No estudo, amostras de tecido mamário foram retiradas de 40 pacientes após a mastectomia por cancro de mama primário. As amostras foram recolhidas em quatro localizações diferentes na zona da axila.³⁶

Os investigadores detectaram parabenos em 99% (158 de 160) das amostras. E encontraram uma diferença significativa entre os níveis de PP na região da axila versus o que foi encontrado na região média e na região mediana. No entanto, a sua análise não mostrou uma correlação significativa entre a percentagem de parabenos totais numa região e se o tumor estava ou não localizado nessa região.³⁶

Este estudo mostrou ainda que os parabenos eram amplamente distribuídos entre e dentro da mama. A distribuição de parabenos não foi homogênea e as concentrações de ésteres de parabenos individuais variaram. Resumindo, uma alta concentração de um éster não significava necessariamente que haveria níveis elevados dos outros ésteres. Da mesma forma, pacientes com níveis elevados numa área da mama não têm necessariamente níveis elevados noutras áreas da mama.³⁶

Infelizmente, o estudo não tirou nenhuma conclusão quanto às fontes dos parabenos ou mesmo se a quantidade de parabenos detectadas resulta de exposição a longo prazo, exposição actual ou uma combinação de ambos os factores.³⁶

No entanto, os seus autores identificaram 7 participantes no estudo que nunca usaram produtos cosméticos antitranspirantes/desodorantes em qualquer momento da sua vida. Este dado dissipa fortemente a noção de uma ligação directa entre a exposição aos parabenos nas axilas e o cancro de mama.³⁶

Por fim, de acordo com as Scientific Opinions of the Independent European Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS), de 14 de Dezembro de 2010 e revisto a 22 de Março de 2011, não há dados suficientes para estabelecer uma ligação entre o uso de cosméticos nas axilas e o cancro de mama. Esta relação foi reivindicada em várias publicações científicas.³⁷

V. “Sem parabenos” – uma questão de marketing?

A rotulagem de produtos cosméticos contendo a menção “sem parabenos” é cada vez mais comum. No entanto, esta é uma questão bastante polêmica, e enquanto esses produtos químicos estão a causar bastante alvoroço entre os naturalistas, ecologistas e consumidores de produtos biológicos, há uma luta dos dermatologistas em afirmar que a situação está a ficar fora de controle por razões erradas.¹¹

A composição química dos cosméticos está regularmente sob controvérsia. Alguns ingredientes presentes na maquilhagem, champôs e outros produtos de higiene pessoal podem causar preocupação nos consumidores, sobretudo sobre as consequências de colocar produtos entendidos como ‘sintéticos’ sobre a pele. Isto levou a uma pressão no desenvolvimento e marketing de cosméticos, havendo cada vez mais a indicação de recorrer a materiais conservantes de origem natural, tradicional, que são percebidos pelo público como seguros.¹⁹

Assim, a pressão pública combinada com interesses comerciais levou à formulação de produtos “paraben-free” (Figura 6). Deve ser salientado que os estudos e as preocupações sobre os parabenos, basearam-se nos estudos referidos anteriormente, que têm resultados discutíveis, e foram difundidos através de campanhas e notícias em sites de interesse popular, enfatizando sobretudo os produtos para uso infantil. Estas campanhas de marketing social assustam os consumidores e não têm em conta os aspectos ligados à qualidade das investigações que são citadas - o tamanho do estudo, se os efeitos são dose-dependente, a reprodutibilidade, entre outras coisas. Pode notar-se que o mesmo fenómeno foi observado na polémica em torno da vacinação infantil.¹⁹

Nestas matérias é interessante pesquisar as tendências do *Google* e ver o tipo de pesquisas que as pessoas têm feito ao longo do tempo. Em relação a pesquisas com o termo “Parabenos”, parece ter havido um aumento desde 2004. Actualmente é um dos termos com maior ponto de interesse nos motores de busca, encontrando-se definitivamente em ascensão em comparação com outros termos associados a tipos de ingredientes de cosméticos.¹¹

Por outro lado, num estudo publicado pela *Datamonitor* é referido que nos EUA cerca de um terço dos consumidores estavam preocupados com os parabenos nos seus produtos cosméticos.¹¹

Os ingredientes cosméticos estão sujeitos a regulamentação bastante apertada, suportada em pesquisas científicas. No entanto, quanta preocupação por parte dos consumidores, e quanta pressão é necessária para justificar uma proibição? O papel da ciência na percepção de risco e, especialmente, nas decisões de política, está longe de ser simples, e às vezes as decisões políticas acabam por se basear apenas na percepção e opinião pública.¹⁹



Figura 6 - Publicidade depreciativa dos parabenos³⁸

Por último, é importante frisar que os fabricantes que coloquem a menção “não contém parabenos” na rotulagem dos seus produtos não estão a respeitar a legislação actualmente em vigor, o Regulamento 655/2013 que estabelece critérios comuns para justificação das alegações relativas a produtos cosméticos. Neste está estipulado que deve ser seguido o princípio da imparcialidade e que as alegações relativas a produtos cosméticos não devem depreciar os concorrentes, nem depreciar os ingredientes utilizados de forma legal.

VI. Alternativas aos parabenos

Os constituintes utilizados na conservação de produtos de cuidado e higiene requerem níveis elevados de segurança e compatibilidade. Assim, apenas os ingredientes que foram adequadamente estudados em termos toxicológicos são permitidos para utilização em produtos cosméticos e de higiene corporal.⁴⁰

As alternativas aos parabenos são limitadas, no entanto, tendo em vista o aumento da atenção dada aos possíveis riscos de saúde associados aos parabenos, algumas empresas já produzem cosméticos e produtos de higiene pessoal - especialmente desodorizantes – com outros conservantes.¹⁴ As várias propriedades que predisõem o uso dos parabenos como conservantes têm contribuído consideravelmente para a sua popularidade. A combinação destas propriedades torna relativamente difícil encontrar um conservante, que seja um substituto satisfatório.²²

No entanto, a substituição dos parabenos por outros sistemas de conservação menos conhecidos pode levar a um maior risco para o consumidor por não serem tão bem tolerados por via tópica e pela sua segurança não ser confirmada por estudos adequados.¹¹

Em relação aos novos conservantes alternativos, é inegável que ainda não existem dados toxicológicos a longo prazo, podendo mais tarde vir a ser identificadas acções sensibilizantes, ou outras. Também se sabe que foram apontadas algumas falhas nos testes de segurança e eficácia de alguns dos novos conservantes, o que faz pensar que ainda há muito trabalho pela frente para encontrar os conservantes ideais.¹¹

Uma das alternativas com perfil mais favorável é provavelmente o fenoxietanol, que pode ser usado na UE até 1,0% em todas as categorias de produtos. A sua segurança foi novamente estudada recentemente e nenhuma incerteza regulatória foi identificada a médio e longo prazos. O pH ideal das formulações contendo fenoxietanol é entre 4 e 9, o que se adequa à maioria dos produtos cosméticos, e, como os parabenos, este ingrediente tem a vantagem de ser barato. Tal como acontece com os parabenos, é activo contra um amplo espectro de microorganismos, mas a sua actividade contra bactérias Gram+, leveduras e fungos nem sempre é totalmente eficaz. A Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA) dos EUA aprovou o composto como aditivo alimentar, bem como para aplicação cosmética. Por outro lado, e tal como indicado anteriormente, este consta no Anexo V do Regulamento CE 1223/2009.⁴¹

O benzoato de sódio, em combinação com sorbato de potássio, também é considerada uma alternativa aceitável, tendo também um custo relativamente baixo. É encontrado em produtos que não sejam para cuidados pessoais, sendo um ingrediente presente em molhos de salada, geleias ou bebidas carbonatadas. O benzoato de sódio existe naturalmente em frutos e raízes de plantas. No entanto, o pH ideal para formulações com este ingrediente sozinho ou em combinação com sorbato de potássio é entre 3 a 5, o que pode ser uma limitação, já que muitos produtos são formulados fora desse intervalo. Por outro lado, este conservante tem uma eficácia baixa quando usado isoladamente. Além disso, o benzoato de sódio não é um conservante de amplo espectro.⁴²

Uma alternativa interessante aos parabenos poderia basear-se numa ou mais moléculas antimicrobianas efectivas dissolvidas numa matriz hidrofílica que ajudará a reter o sistema activo na fase aquosa.⁴³

Os ácidos orgânicos têm-se tornado num popular modo de conservação de cosméticos. Em valores de pH mais elevados, a maior parte do ácido é transformado num sal. A forma de sal destes ácidos, quando é usada isoladamente, não possui eficácia antimicrobiana. Assim, com a combinação de um ácido orgânico com outro qualquer constituinte conservante, há a possibilidade de conservação de um produto até a um valor de pH neutro. Isto é importante para o fabricante, visto que a maioria dos produtos são formulados dentro de uma gama de pH 5-7. No entanto, a falta de eficácia de conservação em valores de pH acima de 6 conduz a uma limitação na utilização destes sistemas.⁴³

Soluções de sorbato de potássio e ácido sórbico são geralmente consideradas instáveis e sem a possibilidade de serem armazenadas. O ácido sórbico também tem uma tendência geral para a descoloração em produtos cosméticos e esta é uma das razões pela qual o ácido benzóico é preferido pelos formuladores, pela sua menor propensão para tornar os produtos amarelados.⁴¹

Esta mistura de conservantes é uma alternativa razoável para combinações clássicas que contêm parabenos e solventes.⁴¹

Uma outra alternativa possível aos parabenos é o extracto de semente de uva, um extracto concentrado das sementes e polpa de uva com propriedades antimicrobianas e antivirais.¹¹ Infelizmente, este extracto pode interagir com

medicamentos, devido à sua capacidade de inibir o CYP3A4 , uma enzima importante envolvida no metabolismo de princípios activos.⁴⁴

Outros conservantes de origem natural incluem o timol, o ácido cítrico, ácido ascórbico e extracto de rosmaninho. Estes conservantes inibem o crescimento microbiano *in vitro*, mas os poucos estudos que testam a actividade antimicrobiana nos produtos alimentares têm fornecido resultados equívocos. Portanto, mais estudos para determinar a sua eficácia, segurança e toxicologia são necessários antes do seu uso generalizado.³¹

VII. Conclusão

Esta dissertação teve como objectivo avaliar as vantagens e desvantagens e os possíveis riscos para a saúde pública dos parabenos utilizados em formulações cosméticas.

Os parabenos são conservantes largamente utilizados na indústria cosmética, em produtos farmacêuticos e também como aditivos alimentares. Em termos de estrutura química, os parabenos são ésteres do ácido p-hidroxibenzóico, com os substituintes alquila variando entre os grupos metilo e butilo ou benzilo. Ou seja, pode-se distinguir metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, isopropilparabeno, butilparabeno, isobutilparabeno e benzilparabeno. Entre eles, o metilparabeno e o propilparabeno são os mais vulgarmente utilizados e, muitas vezes estão presentes concomitantemente nos produtos.

As várias propriedades que predispõem o uso dos parabenos como conservantes têm contribuído consideravelmente para a sua popularidade. O amplo espectro de actividade contra leveduras, fungos e bactérias, a estabilidade química, o baixo grau de toxicidade sistémica e os baixos custos de síntese, não terem nenhum odor perceptível ou gosto, e não causarem mudanças na consistência ou coloração dos produtos são algumas das principais características dos parabenos que os tornam tão úteis em inúmeras formulações cosméticas. Sendo assim, a combinação destas propriedades torna relativamente difícil encontrar um conservante que seja um substituto satisfatório destes compostos.

Durante muito tempo, os parabenos foram considerados inócuos e, por conseguinte foram largamente utilizados como conservantes, principalmente em produtos de higiene pessoal. No entanto, ao longo das últimas décadas, uma discussão viva sobre a sua segurança tem estado em curso, e os consumidores ficaram receosos da utilização de produtos com este ingrediente, pelo que muitas empresas têm optado por substituir os parabenos nas suas formulações, chegando mesmo a usar este propósito como slogan atractivo nos seus rótulos.

A principal preocupação no uso de parabenos nos cosméticos remete para o seu potencial em inibir o sistema endócrino. Os efeitos na desregulação endócrina incluem

alterações na acção hormonal, bem como modificações na síntese, metabolismo e transporte de hormonas.

O sistema reprodutivo é vulnerável e, portanto, é altamente afectado por compostos que interferem com o sistema endócrino. Além disso, os parabenos podem também influenciar outros tecidos sensíveis aos esteróides, perturbando assim o funcionamento do sistema nervoso central, do sistema imunitário, da homeostase de lípidos, dos níveis de glicose, da função da tiróide e agem ainda como moduladores epigenéticos causando efeitos transgeracionais.

Um estudo publicado em 2004 por *Darbre et al.* mostrou que os parabenos são detectados em amostras de tecido tumoral mamário em concentrações elevadas. Esta informação veio contribuir para o debate sobre a segurança dos parabenos, a sua utilização como conservantes antimicrobianos e os riscos potenciais à saúde, particularmente em relação à sua actividade estrogénica, que pode contribuir para o risco de cancro da mama.

Outro estudo relacionou as concentrações de parabenos encontradas nas diferentes zonas da mama, sendo que o tecido mais próximo da axila foi o que apresentou valores mais elevados. Este facto veio corroborar a hipótese de que a aplicação de produtos de higiene corporal contendo parabenos pode ser prejudicial, nomeadamente os desodorizantes. No entanto, algumas das mulheres que participaram no estudo afirmaram nunca ter usado este tipo de produtos, o que alerta para uma outra possível fonte de contaminação no decorrer do estudo.

Um dos mecanismos apontados para justificar a elevada incidência do cancro da mama e a quantidade de parabenos encontrada neste tecido é o facto de os parabenos apresentarem afinidade para o receptor dos estrogénios, embora esta seja muito baixa. Um outro mecanismo que poderá estar envolvido nesta associação dos parabenos com o aparecimento do cancro da mama passa pelas lesões que podem causar directamente no DNA.

Em suma, a polémica em torno dos parabenos centra-se na sua suposta actividade estrogénica e no seu suposto potencial carcinogénico, e baseia-se num único estudo publicado em 2004. O ‘medo dos parabenos’, propagado rapidamente, tem levado os consumidores a procurar produtos sem parabenos.

Hoje em dia, de acordo com a mais actualizada pesquisa, tanto cientistas como agências regulamentares continuam a concordar que não está claramente estabelecido

um vínculo epidemiológico entre parabenos e cancro de mama. Por outro lado, a substituição de parabenos por outro conservante menos conhecido e menos estudado, pode apresentar um risco elevado para o consumidor. É, então, necessário que os líderes da indústria, cientistas, médicos, farmacêuticos e especialistas em cosméticos tranquilizem os consumidores sobre a segurança e eficácia dos parabenos.

Finalmente, mais pesquisas, incluindo estudos que comportem maior número de amostras envolvendo os seres humanos, são necessárias para avaliar os possíveis efeitos adversos dos parabenos.

VIII.Bibliografia

1. Regulamento (CE) N°1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 30 de Novembro.
2. <http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/COSMETICOS>, consultado em Setembro 2014.
3. https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/products/preservatives_en, consultado em Janeiro 2018.
4. <http://ec.europa.eu/DocsRoom/documents/17203/attachments/1/translations/>, consultado em Janeiro 2018.
5. Decker RLJ. Frequency of preservative use in cosmetic formulas as disclosed to FDA - 1984. *Cosmetics Toiletries* 1985;100:65Y68.
6. Sasseville D. Hypersensitivity to preservatives. *Dermatol Ther* 2004;17(3):251Y263.
7. Maier LE, Lampel HP, Bhutani T, et al. Hand dermatitis: a focus on allergic contact dermatitis to biocides. *Dermatol Clin* 2009;27(3):251Y264 v-vi.
8. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_195.pdf, consultado em Janeiro 2018.
9. <http://www.schulkemicrosites.de/media-cosmetic-preservation/Literature/Organic-acids-a-modern-alternative-for-preservation-of-cosmetics.pdf>, consultado em Janeiro 2018.
10. <http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/29126/pre-formulacao-e-formulacao-de-produtos-farmaceuticos-e-cosmeticos>, consultado em Setembro 2014.
11. <http://www.alchimie-forever.com/img/wysiwyg/pdf/publications-Ada-Polla/04-Parabens.pdf>, consultado em Setembro 2014.
12. Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Opinion on parabens. Updated request for a scientific opinion on propyl- and butylparaben. Brussels, Belgium: The European Commission (EC). Report No.: 1514: 2013.
13. Darbre PD, Aljarrah A, Miller WR, Coldham NG, Sauer MJ Pope GS, (2004). Concentrations of parabens in human breast tumours. *J. Appl. Toxicol.* 24, p.5–13.

14. http://www.rsc.org/images/parabens_tcm18-219158.pdf, consultado em Outubro 2014.
15. <http://www.fda.gov/cosmetics/productsingredients/ingredients/ucm128042.htm>, consultado em Outubro 2014.
16. Marchese, M., (2010). Parabens and breast cancer. *Natural Medicine Journal*, p.7-8.
17. Dhooge W, van Larebeke N, Koppen G, Nelen V, Schoeters G, Vlietinck R, et al. Serum dioxin-like activity is associated with reproductive parameters in young men from the general Flemish population. *Environ Health Perspect* 2006;114:1670–6.
18. Steinberg, D.C., (2006). Preservatives Use: Frequency Report and Registration, *Cosmetics & Toiletries*, p.65-69.
19. http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/docs/citizens_parabens_en.pdf, consultado em Outubro 2014.
20. http://eurlex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=OJ:JOL_2014_282_R_0002&from=PT, consultado em Abril 2015.
21. Golden, R., Gandy, J., and Vollmer, G. (2005). A Review of the Endocrine Activity of Parabens and Implications for Potential Risks to Human Health, p.435–458.
22. Błędzka, D., Gromadzińska, J., and Wąsowicz, W. (2014). Parabens. From environmental studies to human health, p. 27–42.
23. Abbas, S., Greige-Gerges, H., Karam, N., Piet, M.-H., Netter, P., and Magdalou, J. (2010). Metabolism of parabens (4-hydroxybenzoic acid esters) by hepatic esterases and UDP-glucuronosyltransferases in man. *Drug Metab*, p.568–577.
24. Towers, C.V., Chambers, W., Lewis, D., Howard, B., Chen, J., and Terry, P. (2014). Transplacental Passage of Antimicrobial Paraben Preservatives, p.175S–176S.
25. Taxvig, C., Dreisig, K., Boberg, J., Nellemann, C., Schelde, A.B., Pedersen, D., Boergesen, M., Mandrup, S., and Vinggaard, A.M. (2012). Differential effects of environmental chemicals and food contaminants on adipogenesis, biomarker release and PPAR γ activation, p.361, 106–115.
26. Hu, P., Chen, X., Whitener, R.J., Boder, E.T., Jones, J.O., Porollo, A., Chen, J., and Zhao, L. (2013). Effects of Parabens on Adipocyte Differentiation. *Toxicol*, p.56–70.
27. Darbre, PD and Harvey, PW. (2008). Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity.

28. Oishi S. Effects of propylparaben on the male reproductive system. *Food Chem Toxicol* 2002;40:1807–13.
29. Hoberman AL, Schreur DK, Leazer T, Daston GP, Carthew P, Re T, et al. Lack of effect of butylparaben and methylparaben on the reproductive system in male rats. *Birth Def Res (Part B)* 2008;83:123–33.
30. Prusakiewicz JJ, Harville HM, Zhang Y, Ackermann C, Voorman RL. Parabens inhibit human skin estrogen sulfotransferase activity: possible link to paraben estrogenic effects. *Toxicology* 2007;232(3):248–56.
31. http://www.medscape.com/viewarticle/780590_1, consultado em Setembro 2015.
32. Crinnion, W.J. (2010). Toxic effects of the easily avoidable phthalates and parabens. *Altern. Med. Rev. J. Clin. Ther.* 15, 190–196.
33. Routledge EJ, Parker J, Odum J, Ashby J, Sumpter JP. (1998). Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicol Appl Pharmacol.* 12-9.
34. Konduracka, E., Krzemieniecki, K., and Gajos, G. (2014). Relationship between everyday use cosmetics and female breast cancer. *Pol. Arch. Med. Wewnętrznej* 124, 264–269.
35. Harvey, PW and Everett, DJ. (2004). Significance of the detection of esters of parabens in human breast tumours.
36. <http://www.obgyn.net/breast-health/link-between-parabens-and-breast-cancer-how-much-worry-warranted>, consultado em Outubro 2017.
37. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_041.pdf, consultado em Janeiro 2018
38. <https://www.pinterest.com/pin/93520129734845850/>, consultado em Janeiro 2016.
39. <http://parabenos20132014.wix.com/parabenostoxi#!comunicacao-de-risco/c1bsp>, consultado em Janeiro 2016.
40. Brandin, H., Myrberg, O., Rundlöf, T., Arvidsson, A.-K., and Brenning, G. (2007). Adverse effects by artificial grapefruit seed extract products in patients on warfarin therapy. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 63, 565–570.
41. http://www.schuelke.com/download/pdf/cint_len_Alternative_to_Paraben.pdf, consultado em Janeiro 2016.
42. <https://www.leaf.tv/articles/alternative-preservatives-for-natural-parabens/>, consultado em Maio 2017.

-
43. <https://knowledge.ulprospector.com/6776/pcc-preservative-deep-dive-parabens-alternatives/>, consultado em Maio 2017.
 44. <http://www.cosmeticsciencetechnology.com/articles/samples/2951.pdf>, consultado em Outubro 2017.