

58

Études chez l'animal

Les études de toxicologie, peu nombreuses, ont été menées chez le rat ou la souris. Elles portent sur les méthyl, éthyl, propyl et butyl parabènes le plus souvent. L'administration est effectuée par voie orale ou par voie sous-cutanée. Le nombre d'études par voie sous-cutanée est plus important pour la femelle.

Études chez le mâle

Les études démontrant des effets délétères chez l'animal mâle après administration par voie orale proviennent d'un seul groupe. Les effets observés portent sur les paramètres spermatiques et les taux d'hormones.

Méthyl et éthyl parabènes

En 2004, Oishi a étudié les fonctions reproductives mâles de jeunes rats Wistar (25-27 jours) exposés par l'alimentation au méthyl ou à l'éthyl parabène à environ 10 et 1 000 mg/kg/j (3 groupes de 8 rats). Aucun effet n'a été observé sur les poids des organes reproducteurs, le nombre des spermatozoïdes, les concentrations sériques en LH, FSH et testostérone.

Dans une étude chez le rat Wistar, après exposition des mères du 7^e au 21^e jour de gestation à 100, 200 ou 400 mg/kg pc/jour d'éthyl parabène par voie sous-cutanée, aucune toxicité chez les mères ni chez la descendance n'est observée. Les taux plasmatiques de progestérone, 17-alpha-hydroxyprogestérone, T3 et T4 ne sont pas modifiés chez les mères. On n'observe pas de modification des taux plasmatiques de T4, progestérone et testostérone chez les fœtus, ni des taux testiculaires de progestérone et testostérone, ni des poids des organes reproducteurs des fœtus (Taxvig et coll., 2008).

Récemment, une étude menée par un consortium industriel et visant à reproduire l'étude d'Oishi selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire (Hoberman et coll., 2008) a confirmé l'absence d'effet sur les organes reproducteurs mâles après administration de méthyl parabène par voie orale chez le rat juvénile.

Propyl et butyl parabènes

Propyl parabène

Une étude menée par Oishi en 2002 chez le rat juvénile (21 jours), exposé par l'alimentation (sans phyto-œstrogènes) à environ 10, 100 ou 1 000 mg/kg pc/jour de propyl parabène pendant 4 semaines, 8 animaux par groupe, a mis en évidence un effet sur la spermatogenèse sans altération de poids des organes reproducteurs. Les auteurs ont observé une diminution de la quantité testiculaire et épидидymale de spermatozoïdes (environ 50 % des témoins à la plus forte dose) ; la production journalière de spermatozoïdes était diminuée dans tous les groupes (environ 70 % des témoins) et une diminution dose dépendante de la concentration sérique en testostérone était également notée (Oishi et coll., 2002a). Cette étude n'a pas permis à l'EFSA d'identifier de NOAEL. L'étude, non menée selon les BPL, a été critiquée dans de nombreuses évaluations effectuées par des agences sanitaires, en particulier en raison du faible nombre d'animaux utilisés, du manque de détails fournis, de variations importantes dans les poids des animaux, dans les dosages hormonaux (SCCP, 2006). De plus, il est à noter que la durée de l'étude ne couvre pas un cycle complet de spermatogenèse (52 jours chez le rat), ce qui laisse envisager qu'au cours d'une étude plus longue, les effets pourraient être plus prononcés.

Aucune donnée n'a depuis remis en cause la toxicité du propyl parabène. Une étude en cours (Afssaps) sur le rat juvénile, reproduisant les conditions de l'étude d'Oishi, selon les BPL, avec un nombre supérieur d'animaux, un niveau de dose et des critères d'évaluation supplémentaires devrait permettre de préciser la toxicité du propyl parabène sur les organes reproducteurs mâles pendant la période pré-pubère et de déterminer une dose sans effet.

Butyl parabène

Plusieurs études ont été menées pour étudier la toxicité après exposition au butyl parabène *in utero*. L'exposition de rate Sprague-Dawley du 6^e au 19^e jour de gestation, à 10, 100 ou 1 000 mg/kg/jour de butyl parabène par voie orale, n'entraîne aucune toxicité sur le développement (Daston, 2004). De même, l'exposition de rates gestantes du 7^e au 21^e jour de gestation, à 100, 200 ou 400 mg/kg/j de butyl parabène par voie sous-cutanée, ne conduit à aucune toxicité sur le développement (Taxvig et coll., 2008). Aucune NOAEL n'a pu être clairement identifiée. Enfin, dans une étude chez la rate gestante (Sprague-Dawley) du 6^e jour de gestation au 20^e jour après la naissance, après administration de 100 et 200 mg/kg pc/j par voie sous-cutanée, une modification de la spermatogenèse des mâles de la génération F1 est observée aux deux doses, avec diminution du nombre de spermatozoïdes, de la motilité et du nombre de cellules aux stades différenciés (Kang et coll., 2002). Le poids des testicules, des vésicules séminales et de la prostate, était significativement diminué à 49 jours postnatals (mais non à 70 et 90 jours) et pour 100 mg/kg/j

uniquement. La proportion de petits vivants à la naissance ou survivants au sevrage est diminuée à la forte dose. L'expression testiculaire de l'ARNm des récepteurs aux œstrogènes était augmentée à 90 jours postnatals pour le groupe 200 mg/kg/j. Le nombre d'animaux est limité (25 animaux par groupe).

Dans son avis de 2005, le SCCP mentionnait une NOAEL de 2 mg/kg/j pour le butyl parabène, sur la base d'une étude courte par voie sous-cutanée (Fisher et coll., 1999). Dans cette étude, des rats Wistar recevaient 2 mg de butyl parabène par voie sous-cutanée du 2^e au 18^e jours postnatals. L'examen avait lieu aux jours 18, 25, 35 et 75. Aucune anomalie du poids des testicules, des cellules épithéliales des canaux testiculaires efférents ou de l'expression de l'aquaporine 1, n'était notée.

Oishi a étudié les effets du butyl parabène chez le rat Wistar (Oishi, 2001) et la souris (Oishi, 2002a). Dans l'étude d'Oishi (2001), le butyl parabène est donné dans le régime alimentaire du jeune rat mâle (3 semaines) pendant 8 semaines (10, 100 et 1 000 mg/j environ). La production spermatique journalière dans les testicules est diminuée de manière dose dépendante et la réserve épидидymaire est réduite. Ces paramètres sont affectés dans tous les groupes, même pour ceux ayant reçu des doses les plus faibles. Aux doses de 100 et 1 000 mg/j, des concentrations plus faibles en testostérone sérique ont été également observées ainsi qu'une diminution du poids de l'épididyme et du poids des vésicules séminales à la dose la plus forte. Une toxicité directe sur les spermatozoïdes était suspectée en raison d'effets spermatocides démontrés *in vitro* avec des spermatozoïdes humains (Song et coll., 1989 et 1991). Cependant, l'étude récente sur le butyl parabène chez le rat (Hoberman et coll., 2008), reproduisant l'étude de Oishi, et menée dans des conditions expérimentales satisfaisantes, a montré l'absence d'effet sur les organes reproducteurs mâles. Ces résultats négatifs, en contradiction avec des résultats précédents, ne sont pas liés à un défaut d'exposition des animaux, comme il a été montré récemment (données non publiées d'un consortium industriel fournies à l'Afssaps, 2008).

En ce qui concerne la souris, Oishi (2002b) a examiné les effets du butyl parabène donné dans l'alimentation (environ 14,4, 146 et 1 504 mg/kg/j) à des souris mâles « Crj : CD-1 » de 4 semaines pendant 10 semaines. Aucun effet n'était noté sur le poids de la prostate, des vésicules séminales et des glandes préputiales. Cependant, le poids de l'épididyme était significativement augmenté à la dose la plus forte. Une diminution dose dépendante des spermatides dans les tubes séminifères, sans modification du nombre des spermatogonies et spermatocytes, était observée. La testostérone sérique était significativement diminuée à la plus forte dose. Le tableau 58.I résume les études chez l'animal mâle.

Tableau 58.I : Synthèse des études chez l'animal mâle

Référence	Parabène	Espèce/lignée Âge	Doses (mg/kg poids/j)/ Périodes	Effets significatifs
Administration par voie orale				
Oishi, 2001	Butyl parabène	Rats Wistar (3 semaines)	Environ 10-1 000 Jeune rat mâle 8 semaines	↓ production spermatique journalière dans les testicules ↓ réserve épididymaire ↓ testostérone
Oishi, 2002a	Propyl parabène	Rats Wistar juvénile (21 jours)	Environ 10, 100 ou 1 000 4 semaines	↓ spermatogenèse sans altération de poids des organes reproducteurs ↓ dose dépendante testostérone sérique
Oishi, 2002b	Butyl parabène	Souris Crj :CD-1 (27-29 jours)	Environ 14,4, 146 et 1 504 10 semaines	↑ poids de l'épididyme à la dose la plus forte ↓ dose dépendante des spermatoïdes dans les tubes séminifères, sans modification du nombre des spermatogonies et spermatoocytes ↓ testostérone sérique à la plus forte dose
Oishi, 2004	Méthyl éthyl parabène	Rats Wistar (25-27 jours)	Environ 100 et 1 000 8 semaines	Aucun effet : poids des organes reproducteurs, nombre des spermatozoïdes, concentrations sériques en LH, FSH et testostérone
Daston, 2004	Butyl parabène	Rate Sprague-Dawley gestante	10-1 000 Gestation 6-19 j	Pas d'effet développement foetal
Hoberman et coll., 2008	Méthyl butyl parabène	Rats Wistar juvénile (22 jours)	Environ 10-1 000) 8 semaines	Pas d'effet : poids des organes reproducteurs, nombre des spermatozoïdes, concentrations sériques en LH, FSH et testostérone
Administration par voie sous-cutanée				
Fisher et coll., 1999	Butyl parabène	Rats Wistar	2 Postnatal 2-18 j	Pas d'effet poids et histologie testicules
Kang et coll., 2002	Butyl parabène	Rate Sprague-Dawley gestante	100-200 Gestation (6 j)/ Postnatal (20 j)	↓ poids testicules, vésicules séminales, prostate ↓ nombre, mobilité spermatozoïdes épididymaires
Taxvig et coll., 2008	Éthyl- butyl- parabènes	Rats Wistar	100, 200 ou 400 Gestation 7-21 j	Pas de modification : distance anogénitale, taux plasmatiques de T4, progestérone et testostérone, taux testiculaires de progestérone et testostérone, poids des organes reproducteurs (foetus)

Études chez la femelle

Peu d'études ont analysé l'effet des parabènes sur les paramètres reproducteurs de la femelle à l'exception des effets utéro-trophiques.

Kang et coll. (2002) ont testé l'effet de l'exposition chez les nouveau-nés femelles (rat Sprague-Dawley) après administration de 100 et 200 mg/kg pc/j de butyl parabène par voie sous-cutanée à la rate gestante du 6^e jour de gestation au 20^e jour après la naissance. Le seul paramètre modifié est le jour de l'ouverture vaginale (précocité). Le poids des organes femelles n'était pas affecté.

Afin de tester la capacité des parabènes à induire une réponse de type œstro-génique sur un organe sensible à cette stimulation hormonale, on utilise des rates immatures ou ovariectomisées, et donc dépourvues d'exposition endogène aux œstrogènes. Les parabènes ont été testés dans plusieurs études utilisant ces tests, mais ont montré des résultats variables : des effets utéro-trophiques ont été démontrés pour chacun des parabènes, et pour le PABA (acide para-hydroxy-benzoïque), dans au moins une étude, mais l'absence d'effet a également été démontré au moins une fois. Boberg et coll. dans une revue de 2010, rapportent les résultats de l'ensemble de ces études et considèrent que globalement, les parabènes ont un effet œstro-génique dans ce test.

Routledge et coll. (1998) ont testé les méthyl et butyl parabènes dans un test utéro-trophique chez les rates immatures ou ovariectomisées après administration orale et sous-cutanée (les rates ovariectomisées recevaient uniquement l'administration par voie sous-cutanée). Le méthyl jusqu'à 800 mg/kg/j (3 jours) ne modifiait pas le poids de l'utérus dans les deux modèles. Le butyl parabène n'avait aucun effet chez les rates immatures jusqu'à 1 200 mg/kg/j (3 jours) par voie orale. Cependant, l'administration sous-cutanée à des doses comprises entre 400 et 800 mg/kg/j augmentait significativement le poids de l'utérus des rates immatures. Pour les rates ovariectomisées, les doses sous-cutanées de 1 000-1 200 mg/kg/j étaient nécessaires pour produire un effet utéro-trophique significatif.

L'administration sous-cutanée de 1,2 ou 12 mg d'isobutyl parabène chez la souris (3 jours) (Darbre et coll., 2002) et l'administration topique de trois doses journalières de 33 mg de benzyl parabène/souris (approximativement 2 000 mg/kg/j) (Darbre et coll., 2003) augmentaient le poids utérin significativement chez les souris CD1 immatures. Trois doses de 10 mg (approximativement 750 mg/kg/j) n'avaient aucun effet.

Lemini et coll. (1997) ont analysé les effets du principal métabolite (PABA) chez les souris CD1 et ont observé une réponse dose dépendante pour les effets utéro-trophiques, chez les souris immatures et ovariectomisées à la dose journalière de 5 mg, pendant 3 jours, soit un effet 100 fois moins important que celui du 17 β -œstradiol. Mais cet effet n'a pas été confirmé par Hossaini et coll.

(2000) chez la souris immature. Le méthyl, l'éthyl, le propyl et le butyl parabènes n'avaient pas d'effet utéro-trophique non plus (administration orale ou sous-cutanée durant 3 jours, jusqu'aux doses de 100 mg/kg/j). Chez les rates immatures Wistar, l'administration sous-cutanée de 5 mg PABA/kg/j était sans effet mais le butyl parabène entraînait une réponse œstrogénique faible à 600 mg/kg/j (Hossaini et coll., 2000).

Dans l'étude de Vo et coll. 2010, les effets des parabènes (méthyl, éthyl, propyl, isopropyl, butyl, et isobutyl parabènes) ont été étudiés sur des femelles rat Sprague-Dawley suite à une exposition pendant la période péripubertaire. Les femelles étaient traitées oralement avec ces parabènes (62,5, 250 et 1 000 mg/kg/j), des jours 21 à 40 après la naissance. Une forte dose de méthyl- et d'isopropyl parabène (1 000 mg/kg/j) entraîne un retard significatif dans la survenue de l'ouverture vaginale (signe de la puberté chez les rongeurs femelles) ainsi qu'une diminution de la longueur de l'œstrus. Cette forte dose des deux composés est responsable d'une diminution du poids des ovaires, d'un manque de corps jaune, et d'une augmentation du nombre de follicules kystiques. L'analyse histologique révèle des anomalies au niveau de l'utérus, à savoir une hypertrophie du myomètre, pour la dose la plus élevée de propyl et isopropyl parabènes (1 000 mg/kg/j) et toutes les doses de butyl et isobutyl parabènes. Les niveaux hormonaux d'œstradiol sont significativement réduits chez les animaux traités par méthyl, éthyl, propyl, isopropyl, et isobutyl parabènes. Une analyse de liaison aux récepteurs des œstrogènes indique que l'affinité de liaison s'effectue de la façon suivante : isobutyl parabène>butyl parabène>isopropyl parabène=propyl parabène>éthyl parabène. Le tableau 58.II résume les études chez l'animal femelle.

Tableau 58.II : Synthèse des études chez l'animal femelle

Référence	Parabène	Espèce/lignée Âge	Doses (mg/kg poids/j)/ Périodes	Effets significatifs
Administration par voie orale				
Routledge et coll., 1998	Méthyl et butyl parabènes	Rates AlpK:AP immatures (21-22 j) ovariectomisées 6-8 semaines	4-1 200 3 j	Pas d'effet utéro-trophique
Hossaini et coll., 2000	Méthyl, éthyl, propyl, butyl parabènes PABA	Souris B6D2 F1 (C57B6XDBA2J) immatures	1-1 000 3 j	Pas d'effet utéro-trophique
Administration par voie sous-cutanée				
Kang et coll., 2002	Butyl parabène	Rate Sprague-Dawley gestante	100 et 200 Gestation (6 j) Postnatal (20 j)	Précocité de l'ouverture vaginale

Référence	Parabène	Espèce/lignée Âge	Doses (mg/kg poids/j)/ Périodes	Effets significatifs
Routledge et coll., 1998	Méthyl et butyl parabènes	Rates Alpk:AP immatures (21-22 j) ovariectomisées 6-8 semaines	40-1 200 3 j	Butyl 400-800 mg/kg/j Augmentation du poids de l'utérus des rates immatures Rates ovariectomisées, doses 1 000-1 200 nécessaires pour produire un effet utérotrrophique significatif
Darbre et coll., 2002	Isobutyl parabène	Souris CD1 immatures	1,2-12 mg/souris 3 j	↑ poids utérin
Darbre et coll., 2003	Benzyl parabène	Souris CD1 immatures	3,3-100 mg (=0,2-7,5 g/kg) topique 3 j	↑ poids utérin (33 mg)
Lemini et coll., 1997	PABA	Souris CD1 immatures (21 j) ovariectomiées	0,005-5 3 j	Effets utérotrrophiques à 5
Hossaini et coll., 2000	Méthyl, éthyl, propyl, butyl parabènes PABA	Souris B6D2 F1 (C57B6XDBA2J) immatures Rate Wistar immatures	5-600 3 j	Pas d'effet sauf butyl à 600 (rate uniquement)
Vo et coll., 2010	Méthyl, éthyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl parabènes	Rat Sprague–Dawley Période péripubertaire	62,5, 250 et 1 000 J 21 à 40 postnatal	Retard ouverture vaginale ; ↓ longueur de l'œstrus : méthyl et isopropyl (1 000) ↓ poids des ovaires, manque de corps jaune, augmentation du nombre de follicules kystiques : méthyl et isopropyl (1 000) Hypertrophie du myomètre (propyl, isopropyl parabène : 1 000 ; butyl, isobutyl parabène toutes doses) ↓ œstradiol : méthyl, éthyl, propyl, isopropyl, isobutyl parabènes

Études chez le poisson

Les études des effets des parabènes en dehors des mammifères ont essentiellement utilisé les poissons téléostéens et notamment le zebrafish, le medaka et la truite arc-en-ciel. Des données de toxicité aiguë sont disponibles chez le

vairon (*Pimephales promelos*) et montrent une concentration minimale d'effet (LOEC) des parabènes de 1 à 25 mg/l avec une efficacité inversement proportionnelle à la lipophilicité de la molécule testée (Dobbins et coll., 2009). Aucune donnée n'est disponible à ce jour chez les modèles amphibiens notamment le xénope. Chez les oiseaux, quelques mesures de la présence de parabènes chez le poulet sont disponibles mais aucune étude des effets de ces molécules chez les oiseaux n'a été publiée à ce jour.

L'ensemble des données disponibles chez les poissons suggère que les parabènes présentent une action œstrogénique *in vivo*. La totalité des études menées chez la truite, le medaka et le vairon démontre une induction de la vitellogénine et/ou des choriogénines par les parabènes. Ainsi Pedersen et coll. (2000), en mesurant la vitellogénine chez la truite immature, montrent que l'injection intra péritonéale de 100 à 300 mg/kg d'éthyl parabène, propyl parabène ou butyl parabène provoque une induction. Avec le même test mais des voies d'exposition différentes (ajout dans l'eau pendant 12 jours ou dans la nourriture pendant 10 jours), la même équipe a démontré un effet œstrogénique du propyl parabène et du butyl parabène (Bjerregard et coll., 2003 ; Alslev et coll., 2005). Chez le medaka mâle, Inui et coll. (2003) montrent un effet inducteur du propyl parabène sur la vitellogénine et les choriogénines après ajout dans l'eau à une dose de 55 μ M. Une induction de l'expression de ER α à une dose dix fois plus forte est observée dans cette étude. Chez la même espèce, Yamamoto et coll. (2007) montrent une induction de la vitellogénine par le butyl parabène et le benzyl parabène à des doses de 100 à 200 μ g/l dans l'eau d'élevage des poissons. L'ensemble des études indique que les parabènes de hauts poids moléculaires (benzyl parabène et butyl parabène) sont plus efficaces que ceux de faibles poids moléculaires (éthyl parabène, propyl parabène). Ces données ont reçu une confirmation *in vitro* récente grâce aux travaux de Terasaki et coll. (2009) qui montrent dans un test double hybride que 6 sur 21 des parabènes testés peuvent activer le récepteur ER α de medaka, le benzyl parabène étant la molécule la plus active. Les parabènes sont cependant 1 000 à 100 000 fois moins actifs que le ligand naturel 17 β -œstradiol.

D'une façon curieuse et encore inexplicée, ces données ne sont pas confirmées chez le zebrafish en ce qui concerne le propyl parabène (les autres parabènes n'ont pas été testés). En effet, chez cette espèce dans deux dispositifs expérimentaux différents, l'équipe de Kamila Kruzikova observe soit une activité anti-œstrogénique avec un effet inhibiteur sur l'expression de la vitellogénine (Mikula et coll., 2006 ; molécule ajoutée dans l'eau pendant 20 jours à 0,1, 0,4 ou 0,9 mg/l), soit pas d'effet sur la vitellogénine (Mikula et coll., 2009). L'une des publications met en évidence un changement de sex-ratio (augmentation du nombre de femelles) induit par le propyl parabène à 500 mg/kg dans la nourriture (Mikula et coll., 2009). La raison de cette différence n'est pas connue et peut être liée soit à une spécificité d'espèce qui serait étonnante, soit au fait que le dispositif expérimental (voie d'exposition, durée) est différent de celui utilisé dans les autres études.

En conclusion, la majorité des études retrouvent un effet utérutrophique chez la rate ou la souris du méthyl, butyl, benzyl et isobutyl parabène et du principal métabolite, le PABA. Des résultats contradictoires sont rapportés en ce qui concerne l'âge de la puberté. Chez l'animal mâle, une seule équipe a retrouvé des effets délétères du propyl et butyl parabène. Enfin, l'ensemble des données disponibles chez les poissons suggèrent que les parabènes présentent une action œstrogénique *in vivo*.

BIBLIOGRAPHIE

ALSLEV B, KORSGAARD B, BJERREGAARD P. Estrogenicity of butylparaben in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed via food and water. *Aquat Toxicol* 2005, **72** : 295-304

BJERREGAARD P, ANDERSEN DN, PEDERSEN KL, PEDERSEN SN, KORSGAARD B. Estrogenic effect of propylparaben (propylhydroxybenzoate) in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* after exposure via food and water. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003, **136** : 309-317

BOBERG J, TAXVIG C, CHRISTIANSEN S, HASS U. Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. *Reprod Toxicol* 2010, **30** : 301-312

DARBRE PD, BYFORD JR, SHAW LE, HORTON RA, POPE GS, SAUER MJ. Œstrogenic activity of isobutylparaben in vitro and in vivo. *J Appl Toxicol* 2002, **22** : 219-226

DARBRE PD, BYFORD JR, SHAW LE, HALL S, COLDHAM NG, POPE GS, SAUER MJ. Œstrogenic activity of benzylparaben. *J Appl Toxicol* 2003, **23** : 43-51

DASTON GP. Developmental toxicity evaluation of butylparaben in Sprague-Dawley rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2004, **71** : 296-302

DOBBINS LL, USENKO S, BRAIN RA, BROOKS BW. Probabilistic ecological hazard assessment of parabens using *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Environ Toxicol Chem* 2009, **28** : 2744-2753

FISHER JS, TURNER KJ, BROWN D, SHARPE RM. Effect of neonatal exposure to estrogenic compounds on development of the excurrent ducts of the rat testis through puberty to adulthood. *Environ Health Perspect* 1999, **107** : 397-405

HOBERMAN AM, SCHREUR DK, LEAZER T, DASTON GP, CARTHEW P, et coll. Lack of effect of butylparaben and methylparaben on the reproductive system in male rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2008, **83** : 123-133

HOSSAINI A, LARSEN JJ, LARSEN JC. Lack of œstrogenic effects of food preservatives (parabens) in uterotrophic assays. *Food Chem Toxicol* 2000, **38** : 319-323

INUI M, ADACHI T, TAKENAKA S, INUI H, NAKAZAWA M, UEDA M, WATANABE H, MORI C, IGUCHI T, MIYATAKE K. Effect of UV screens and preservatives on vitellogenin and choriogenin production in male medaka (*Oryzias latipes*). *Toxicology* 2003, **194** : 43-50

KANG , CHE JH, RYU DY, KIM TW, LI GX, et coll. Decreased sperm number and motile activity on the F1 offspring maternally exposed to butyl p-hydroxybenzoic acid (butyl paraben). *J Vet Med Sci* 2002, **64** : 227-235

- LEMINI C, SILVA G, TIMOSSO C, LUQUE D, VALVERDE A, GONZÁLEZ-MARTÍNEZ M, HERNÁNDEZ A, RUBIO-PÓO C, CHÁVEZ LARA B, VALENZUELA F. Estrogenic effects of p-hydroxybenzoic acid in CD1 mice. *Environ Res* 1997, **75** : 130-134
- MIKULA P, DOBSIKOVA R, SVOBODOVA Z, JARKOVSKÝ J. Evaluation of xenoestrogenic potential of propylparaben in zebrafish (*Danio rerio*). *Neuro Endocrinol Lett* 2006, **27** (Suppl 2) : 104-107
- MIKULA P, KRUIKOVÁ K, DOBSÍKOVÁ R, HARUŠTIAKOVÁ D, SVOBODOVÁ Z. Influence of Propylparaben on Vitellogenesis and Sex Ratio in Juvenile Zebrafish (*Danio rerio*) *Acta Vet. BRNO* 2009, **78** : 319-326
- OISHI S. Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicol Ind Health* 2001, **17** : 31-33
- OISHI S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food Chem Toxicol* 2002a, **40** : 1807-1813
- OISHI S. Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Arch Toxicol* 2002b, **76** : 423-429
- OISHI S. Lack of spermatotoxic effects of methyl and ethyl esters of p-hydroxybenzoic acid in rats. *Food Chem Toxicol* 2004, **42** : 1845-1849
- PEDERSEN KL, PEDERSEN SN, CHRISTIANSEN LB, KORSGAARD B, BJERREGAARD P. The preservatives ethyl-, propyl- and butylparaben are oestrogenic in an in vivo fish assay. *Pharmacol Toxicol* 2000, **86** : 110-113
- ROUTLEDGE EJ, PARKER J, ODUM J, ASHBY J, SUMPTER JP. Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998, **153** : 12-19
- SCCP. Opinion on Parabens SCCP/1017/06. 2006
- SONG BL, LI HY, PENG DR. In vitro spermicidal activity of parabens against human spermatozoa. *Contraception* 1989, **39** : 331-335
- SONG BL, PENG DR, LI HY, ZHANG GH, ZHANG J, LI KL, ZHAO YQ. Evaluation of the effect of butyl p-hydroxybenzoate on the proteolytic activity and membrane function of human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1991, **91** : 435-440
- TAXVIG C, VINGGAARD AM, HASS U, AXELSTAD M, BOBERG J, et coll. Do parabens have the ability to interfere with steroidogenesis? *Toxicol Sci* 2008, **106** : 206-213
- TERASAKI M, KAMATA R, SHIRAISHI F, MAKINO M. Evaluation of estrogenic activity of parabens and their chlorinated derivatives by using the yeast two-hybrid assay and the enzyme-linked immunosorbent assay. *Environ Toxicol Chem* 2009, **28** : 204-208
- YAMAMOTO H, WATANABE M, HIRATA Y, NAKAMURA Y, NAKAMURA Y, KITANI C, SEKI-ZAWA J, UCHIDA M, NAKAMURA H, KAGAMI Y, KOSHIO M, HIRAI N, TATARAZAKO N. Preliminary ecological risk assessment of butylparaben and benzylparaben-1. Removal efficiency in wastewater treatment, acute/chronic toxicity for aquatic organisms, and effects on medaka gene expression. *Environ Sci* 2007, **14** (Suppl) : 73-87
- VO TTB, YOO YM, CHOI KC, JEUNG EB. Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reprod Toxicol* 2010, **29** : 306-316. Epub 2010 Feb 2.