

Metyloparaben (MeP) jest popularną substancją konserwującą leki, żywność, produkty higieny osobistej i kosmetyki. Jednak bezpieczeństwo stosowania MeP budzi kontrowersje zarówno wśród naukowców, jak i konsumentów. Szczególnie niepokojące są dane, w których podkreśla się, że MeP może wykazywać potencjał ksenoestrogenowy. Związek ten jest absorbowany z konserwowanych nim produktów do krwioobiegu, przez co może wpływać na obecne w naczyniach krwionośnych komórki immunologiczne, takie jak neutrofile.

Celem pracy doktorskiej było zbadanie (I) jaki jest potencjalny poziom wrażliwości ludzkich neutrofilów na MeP, (II) czy narażenie MeP (szczególnie w stężeniu odpowiadającym średniemu stężeniu tego parabenu w krwioobiegu osób stosujących produkty nim konserwowane) wpływa na funkcje i aktywności neutrofilów oraz (III) czy mechanizm działania badanego parabenu obejmuje modulację ekspresji ER α i ER β oraz regulację klasycznej ścieżki szlaku sygnalizacyjnego NF- κ B.

Materiałem do badań były pobrane od 45 dobrowolnych dawców krwi neutrofile, poddane 30-minutowej lub 20-godzinnej inkubacji ze wzrastającym stężeniem MeP (0.06 μ M, 0.8 μ M, 10 μ M i 20 μ M). Wykorzystując test MTT zbadano cytotoksyczny wpływ MeP na neutrofile. Stosując komorę Boydena oraz test z lateksem wg. Parka oceniono zdolność komórek do chemotaksji i fagocytozy. Zdolność komórek do zabijania zależnego od tlenu poddano ocenie za pomocą testu pochłaniania i redukcji NBT oraz testu redukcji Cytochromu-C. W celu sprawdzenia roli szlaku NF- κ B oraz receptorów estrogenowych α/β (ER α/β) w komórkach inkubowanych z MeP (0.06 μ M) neutrofile pre-inkubowano przez 60 minut z inhibitorem szlaku NF- κ B (PDTC) i/lub antagonistą ER α/β (ICI 178.720). Następnie, w lizatach komórkowych, we frakcji cytoplazmatycznej i frakcji jądrowej neutrofilów oceniono ekspresję iNOS, p-IKK α/β , p65 NF- κ B, ER α i ER β metodą western blot. W supernatantach hodowlanych, metodą pośrednią wg. reakcji Griess'a oznaczono całkowite stężenie NO, natomiast wykorzystując metodę ELISA zmierzono stężenie IL-8.

W przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano cytotoksycznego wpływu MeP na ludzkie neutrofile. 30-minutowa ekspozycja komórek na paraben w stężeniu 10 μ M i 20 μ M obniżała zdolność neutrofilów w zakresie badanych funkcji z wyjątkiem produkcji NO. Zaobserwowano obniżoną aktywność oksydazy NADPH w neutrofilach inkubowanych z MeP (0.8 μ M), jak również obniżenie generacji anionorodnika nadadtlenkowego przez komórki inkubowane z MeP w stężeniu 0.06 μ M i 0.8 μ M. 20-godzinna inkubacja z MeP nie wpływała na wydzielanie IL-8 przez neutrofile, ale prowadziła do obniżenia produkcji NO z udziałem iNOS. Ekspozycja na MeP, nasilała ekspresję p-IKK α/β , ekspresji p65 NF- κ B i ER α , ale nie ER β w lizatach komórkowych. W neutrofilach z nasiloną ekspresją ERs, obserwowano zahamowanie translokacji p65 NF- κ B do jądra neutrofilów inkubowanych z MeP.

Na podstawie uzyskanych wyników badań *in vitro*, można stwierdzić, że MeP, w stężeniu w jakim oznaczany jest w krwioobiegu osób stosujących produkty nim konserwowane, upośledza funkcje neutrofilów i wykazuje ksenoestrogenowy potencjał. Codzienne stosowanie produktów, w których MeP występuje jako substancja konserwująca, może być przyczyną systematycznego osłabiania układu immunologicznego, co w dłuższej perspektywie może skutkować niewystarczającą siłą mechanizmów obronnych w obliczu realnego zagrożenia w postaci kontaktu z chorobotwórczymi czynnikami.