

71. und 72. Sitzung der vorläufigen Kommission für kosmetische Mittel am 17. November 2005 und 11. Mai 2006

Tagungsbericht vom 30. Juni 2008

Die Ergebnisse und Empfehlungen der vorläufigen Kosmetikkommission entsprechen dem aktuellen Wissensstand auf dem Gebiet der kosmetischen Mittel zum Zeitpunkt der Beratungen. Somit bilden die Beratungsergebnisse auch eine Grundlage für Entscheidungen im Rahmen der Regulation und Fortschreibung der Kosmetik-Verordnung sowie der Überwachungsbehörden der Bundesländer. In ihrer 71. und 72. Sitzung hat sich die Kommission mit pharmakologisch wirksamen Substanzen und mit den Risiken von Tattoos, mit technisch vermeidbaren Gehalten an Schwermetallen sowie mit Parabenen und Bioziden in kosmetischen Mitteln befasst.

Am 17. November 2005 und 11. Mai 2006 fanden die 71. und 72. Sitzung der vorläufigen Kommission für kosmetische Mittel am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Berlin statt.

Im Mittelpunkt der Beratungen standen u.a. folgende Themen:

1. Pharmakologisch wirksame Substanzen in kosmetischen Mitteln (Acetylhexapeptid-3, Vitamin A (Retinol) und seine Ester)
2. Verschiedenes (Risiken von Tattoos, technisch vermeidbare Gehalte an Schwermetallen in kosmetischen Mitteln, Parabene in kosmetischen Mitteln, Biozide in kosmetischen Mitteln)

1 Pharmakologisch wirksame Substanzen in kosmetischen Mitteln

1.1 Acetylhexapeptid-3

Vom BMELV (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz) wurde das BfR unter Einbeziehung der vorläufigen Kommission für kosmetische Mittel um eine toxikologische Bewertung zu einem Antifaltenprodukt mit dem aktiven Wirkstoff Acetylhexapeptid-3 gebeten, das in Kosmetikstudios und von Verbrauchern angewendet wird. Eine gesundheitliche Bewertung wurde vorgenommen, da es sich um einen möglicherweise neuen pharmakologisch wirksamen Stoff handeln könnte und das Produkt als nebenwirkungsfreie Alternative zu Botulinumtoxin A ausgelobt wird. Das Aminopeptid soll durch Hemmung bzw. Einschränkung der Überleitung neuronaler Aktionspotenziale die Intensität der Muskelkontraktion verringern und somit Faltenbildung mildern.

1.1.1 Botulinumtoxin A und Acetylhexapeptid-3 zur Faltenreduktion

Die zur Faltenglättung genutzte erschlaffende Wirkung des Botulinumtoxin A (Botulinus-Neurotoxin A) auf die Skelettmuskulatur beruht auf einer Hemmung der Acetylcholinausschüttung an der neuromuskulären Synapse. Dadurch können die nikotinischen Acetylcholinrezeptoren der motorischen Endplatte nicht mehr erregt und faltenwerfende Muskelkontraktionen nicht mehr ausgelöst werden. Es entsteht eine schlaaffe Lähmung. Botulinumtoxin A wird in die Haut injiziert und ist sehr toxisch.

Die Arbeitsgruppe um Blanes-Mira, Clemente, Jodas et al (1) hat nach Alternativen gesucht, um den Mechanismus der Hemmung der Muskelkontraktion ohne Botulinumtoxin A nachzuahmen. Dazu wurde ein synthetisches Hexapeptid (HOOC-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂) entwickelt.

Ebenso wie Botulinumtoxin A soll das Hexapeptid die Bildung des Komplexes aus den drei Proteinen SNAP-25, Synaptobrevin und Syntaxin C behindern. Durch diese Komplexbildung werden die Acetylcholin speichernden Vesikel an die Zellmembran herangezogen, so dass die Freisetzung von Acetylcholin in den synaptischen Spalt erfolgen kann. Während Botulinumtoxin A am C-terminalen Ende von SNAP-25 angreift, stellt Acetylhexapeptid-3 eine Sequenz aus 6 Aminosäuren vom N-terminalen Ende des SNAP-25 dar.

Das hier zur Bewertung stehende Produkt besteht aus einer 0,05 %igen Acetylhexapeptid-3-Lösung und wird in einer Gesichtscreme mit einer Konzentration von 10 % Argireline eingesetzt (entsprechend einer Konzentration von 0,005 % Acetylhexapeptid-3). Die geschätzte Anwendungsmenge (2) beträgt 2 g Gesichtscreme pro Tag. Das entspricht bei einer Anwendung von 2 000 mg Creme = 200 mg Argireline = 0,1 mg Acetylhexapeptid-3 und einer externen Expositionsdosis von ca. 1-2 µg/kg Körpergewicht (KG)/Tag (1,5±0,5 µg/kg KG/Tag). Die nach NOTES OF GUIDANCE (2) geschätzte systemische Expositionsdosis (SED) liegt bei Annahme von 100 % Hautresorption bei ca. 1,5 ± 0,5 µg/kg KG/ Tag und damit weit unter der im Tierversuch ermittelten Dosis ohne toxische Wirkung.

1.1.2 Untersuchungen zu Acetylhexapeptid-3

Im Modellversuch *in vitro* mit chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks wurde mit Acetylhexapeptid-3 eine Hemmung der Katecholaminfreisetzung nachgewiesen. Ein Immunpräzipitationsversuch *in vitro* zeigte, dass die synthetisch hergestellten Bestandteile des SNARE-Komplexes physikalisch interagieren und dass das Acetylhexapeptid-3 die Bildung des SNARE-Komplexes vermindern kann.

Die akute Toxizität an Ratten bei oraler Gabe von 2 000 mg/kg KG Acetylhexapeptid-3 war unauffällig. Die LD₅₀ lag bei über 2 g/kg KG. Studien zur intraperitonealen¹ Toxizität bei Mäusen mit 100 mg/kg KG Acetylhexapeptid-3 blieben ohne Befund. Untersuchungen zur akuten dermalen Toxizität wurden wegen der geringen akuten oralen und intraperitonealen Toxizität nicht durchgeführt.

Aus Untersuchungen zur subakuten Toxizität im 28-Tage-Test an Ratten konnte nur bei subkutaner Dosierung von 22,5 µg/kg KG pro Tag ein NOAEL bestimmt werden. Der dermale NOAEL ist kleiner 225 µg/kg KG pro Tag. Bei dermalen Applikation liegt deshalb nur ein LOAEL vor.

Untersuchungen zur Verhaltenstoxizität (neurotoxische Wirkungen) an Ratten, Hautreizungstests am Kaninchen sowie Zytotoxizitätstest und Ames-Test waren unauffällig. Untersuchungen auf irritatives Potential an Probanden verliefen negativ. Zu perkutanen Resorption² lagen nur Zusammenfassungen vor, die uneinheitliche Ergebnisse mit breiten Streuungen aufwiesen.

Ein TNO-Report zur perkutanen Resorption *in vitro* (3), der lege artis durchgeführt wurde, zeigte eine sehr niedrige Resorptionsquote. Geprüft wurde mit der zu bewertenden Ge-

¹ Injektion in die Bauchhöhle

² Aufnahme über die Haut

sichtscreme, die 10 % Argireline und damit 0,005 % Acetylhexapeptid-3 enthielt. Die systemische Expositions-dosis betrug 0,0026 µg/kg KG/Tag unter Berücksichtigung der Resorptionsrate. Auf dieser Basis wurde ein MoS (Sicherheitsabstand) von >10 000 berechnet.

Die Kommission kam zu der Schlussfolgerung, dass die Gefahr einer toxischen oder möglicherweise hormonellen Wirkung des Acetylhexapeptid-3, wie sie im Tierversuch gezeigt wurde, bei dieser Resorptionsquote durch topische Anwendung der Substanz Acetylhexapeptid-3 nicht besteht.

Die Substanz hat einen sehr hohen Sicherheitsabstand (MoS), der über 10 000 und auch bei Einsatz höherer Konzentrationen (20-50 %ig) theoretisch noch über 1 000 liegen könnte (bei Annahme identischer Resorptionsraten). Die niedrige Resorptionsquote des Peptids belegt aber auch, dass eine Penetration durch die Hautschichten, das Unterhautfettgewebe sowie durch die Muskelfascien zum synaptischen Spalt unwahrscheinlich ist und eine pharmakologische Wirkung bezüglich der postulierten Hemmung bzw. Einschränkung der neuronalen Überleitung und Minderung der Intensität der Muskelkontraktion der mimischen Muskulatur kaum gegeben ist. Eine wirksame Konzentration kann sich „hinter“ der Haut nicht aufbauen und eine pharmakologische Wirkung entfalten. Im Modellversuch mit chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks wurden erste Wirkungen auf die Neurotransmitterfreisetzung erst bei einer deutlich höheren Konzentration von Acetylhexapeptid-3 beobachtet.

Aufgrund dieser Bewertung bestehen gegen die Anwendung der Substanz aus toxikologischer Sicht keine gesundheitlichen Bedenken für die Verbraucher.

1.1.3 Hinweis

Inzwischen wird eine Vielzahl kosmetischer Produkte auf dem Markt beworben, die u.a. auch Amino-peptide unterschiedlicher Kettenlängen und -zusammensetzungen enthalten. Dem BfR liegt zu diesen Inhaltsstoffen kein wissenschaftliches Erkenntnismaterial (Dokumentation, Dossier) für diese Zweckbestimmung vor.

1.2 Retinol und Retinyl-Ester (Vitamin A und seine Ester) in kosmetischen Mitteln

In dem Sitzungsbericht zur 67. und 68. Sitzung der vorläufigen Kommission für kosmetische Mittel (4) wurde bereits auf die erste Diskussion und Meinungsbildung in der Kommission zu Retinol und Retinyl-Estern (Vitamin A und seine Ester) in kosmetischen Mitteln hingewiesen. Retinol und Retinyl-Ester gehören zu den fettlöslichen essentiellen Vitaminen. Der Begriff umfasst Retinol und seine Ester, d.h. alle Substanzen, die im Organismus in Retinal und Retinsäure umgewandelt werden und daher die biologische Wirkung von Retinol besitzen. Die Angabe der biologischen Vitamin-A-Wirkung erfolgt in Internationalen Einheiten (IE oder IU) und in Retinol-Äquivalenten (RE). Ein Retinol-Äquivalent (RE) entspricht nach WHO 1 µg Retinol. Eine Internationale Einheit Vitamin A entspricht 0,33 µg Retinol-, 0,38 µg Retinolacetat- bzw. 0,55 µg Retinolpalmitat-Äquivalenten. Im Folgenden werden die Dosierungen jeweils in RE (Retinol Äquivalenten) oder in IE/IU (Internationale Einheiten) angegeben. Retinol und seine Ester sind bei Lebensmitteln den Zusatzstoffen gleichgestellt. Der tägliche Bedarf beträgt ca. 1 mg/Tag. Dies entspricht ca. 3 330 IU oder 1 000 RE.

In den zu bewertenden kosmetischen Mitteln sollten Vitamin A und die Retinyl-Ester „-Palmitat“ und „-Acetat“ in Leave-on-Präparaten³ für Gesicht und Hände in Konzentrationen von 0,3-, in Bodylotions für Ganzkörperapplikation in Konzentrationen von 0,1- und in Rinse-

³ Produkte verbleiben auf der Haut (z.B. Creme).

off-Produkten⁴ in Konzentrationen von 0,3-Retinol-Äquivalenten (% max) eingesetzt werden. In der Inventarliste der EU für kosmetische Ingredienzien sind Vitamin A und seine Ester mit der Funktion „hautpflegend (skin conditioning)“ gelistet.

Aus pharmakologischen Untersuchungen ist bekannt, dass Vitamin A im menschlichen Organismus zu verschiedenen Retinoiden, Retinolestern und Vitamin-A-Säuren (all-trans Retinsäure, 13-cis Retinsäure und ihre 4-Oxo-Homologe) metabolisiert wird.

Die durchschnittliche Konzentration von Retinol in der Leber beträgt 1 bis 3 mg/L, im Plasma 0,3 bis 0,7 mg/L. Die Halbwertszeit von Retinylestern in der Leber beträgt 50 bis 100 Tage. Vitamin A wird Cytochrom-P-450-abhängig hydroxyliert, anschließend glukuronidiert und renal (über die Niere) eliminiert.

Aus dem Lebensmittelbereich und der Diätetik sowie aus der Substitutionstherapie bei Vitamin-A-Mangelerkrankungen liegen ausreichende tierexperimentelle und humanpharmakologische Untersuchungen und Erfahrungswerte vor. Einige Derivate weisen, systemisch verabreicht bei Mensch und Tier, dosisabhängig teratogene Eigenschaften auf.

Generell können unerwünschte Wirkungen sowohl bei Vitamin-A-Mangel als auch bei Vitamin-A-Hypervitaminosen auftreten. Aus der oralen Supplementation für den Menschen ist bekannt, dass sie in Korrelation mit dem Plasmaspiegel von Vitamin A bzw. seinen aktiven Metaboliten stehen, wobei der als sicher angesehene Bereich mit großer Schwankungsbreite der oralen Aufnahme zwischen 1 000 und 30 000 IU/Tag liegt. Als physiologische Plasmaspiegel werden Werte von 300-700 ng/ml für Retinol, 8-50 ng/ml für Retinyl-Palmitat, 0,5-2,0 ng/ml für all-trans-Retinsäure (ATRA), 0,5-3,0 ng/ml für 13-cis-Retinsäure (Isotretinoin) und 0,4-2,0 ng/ml für 4-Oxo-all-trans-Retinsäure angegeben. Grundlage für die zulässige Höchstmenge der täglichen Aufnahme bildet die Opinion des Scientific Committee on Food (SCF) vom 26. September 2002 (5).

Die zulässige tägliche Höchstaufnahmemenge sollte nicht überschritten werden. Sie beträgt für Erwachsene 10 000 IU/ Tag unter Ausschluss einer Schwangerschaft, während der Schwangerschaft 8 000 IU/Tag und post-menopausal 5 000 IU/Tag, da in neueren Untersuchungen über einen möglichen Zusammenhang von Vitamin-A-Überdosierungen und Knochenfragilität berichtet wurde (6).

Im Hinblick auf die Sicherheit für den Verbraucher auch bei topischer Anwendung hielt es die Kommission für erforderlich, bei der Bewertung auf eine ausreichende Datenlage zur Sicherheitstoxikologie bei Tier und Mensch zu achten.

Im Fokus standen ebenfalls humanpharmakologische Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Hautpenetration der zum Einsatz vorgesehenen Substanzen und ihrer Metaboliten und deren Einfluss auf den Plasmaspiegel. Auch unter Berücksichtigung des Osteoporose-Aspekts bei Überdosierung (6) sollte geprüft werden, ob sich die Penetrationsraten in Abhängigkeit vom Alter der Anwender unterscheiden.

Danach sollte der Eintrag nach topischer Applikation bei Anwendung kosmetischer Mittel abgeschätzt werden. Allerdings sind die meisten Studien nicht veröffentlicht. Deshalb wird über die für die Sicherheitsbewertung relevanten Untersuchungen ausführlicher berichtet.

⁴ Produkte werden sofort nach der Anwendung abgewaschen (z.B. Seife).

1.2.1 Angaben zur Sicherheitstoxikologie von Retinol und Retinyl-Estern

In tierexperimentellen Untersuchungen wurde die akute Toxizität (LD₅₀) an Ratten und Mäusen bestimmt. Für Mäuse betrug sie für Retinol 2 570 mg/kg KG (8,5 Mill. IU/kg KG). Für Retinyl-Acetat lag sie bei 4 100 mg/kg KG (>11 Mill. IU/kg KG) und für Retinyl-Palmitat bei >6 060 mg/kg KG und bei Ratten bei 5 000 mg/kg KG (14,5 Mill. IU/kg KG). Retinol und Retinylester zeigen eine geringe akute Toxizität. Nach wiederholter Gabe von Retinyl-Palmitat an fünf aufeinander folgenden Tagen lag die LD₅₀ bei Mäusen über 500 mg/kg KG/Tag (>900 000 IU/kg) und über 2 000 mg/kg KG/Tag bei Ratten.

Zur Bestimmung der subchronischen und chronischen Toxizität wurden Untersuchungen an Ratten und Hunden vorgelegt. Im Fütterungsversuch mit Retinyl-Acetat über drei Monate betrug der NOAEL bei Ratten 3 mg/kg/Tag (9 000 IU/kg KG/Tag). Ab Dosierungen von 10 mg/kg KG/Tag (30 000 IU) war ein Anstieg der Plasma-Triglyzeride zu verzeichnen (7). Bei einer Langzeitstudie über 10 Monate mit Retinyl-Palmitat betrug der NOAEL für Hunde 25 000 IU/kg KG/Tag und für Ratten 50 000 IU/kg KG/Tag (5). Für die toxische Wirksamkeit der Einzelsubstanzen ergibt sich nach diesen Untersuchungen eine Rangfolge von Retinol >Retinyl-Acetat >Retinyl-Palmitat.

Untersuchungen zur Mutagenität wurden mit Retinyl-Acetat und Retinol durchgeführt. Retinyl-Acetat erwies sich im Ames-Test, Mouse Lymphoma Assay, SCE-Test in V79 Zellen, UDS- und im *In-vivo*-Chromosomenaberrationstest (Knochenmarkzellen der Ratte) als nicht genotoxisch. Retinol wirkte im Ames-Test mit *Salmonella typhimurium* oder *E. coli* nicht mutagen. Der Micronucleus Test (Knochenmarkzellen von Mäusen) verlief negativ. Es ergaben sich keine Hinweise auf genotoxische oder mutagene Wirkungen bei subtoxischen Dosierungen.

Bei Untersuchungen zur Kanzerogenität wurden Ratten und Mäusen über 104 Wochen extrem hohe toxische Dosen von Retinyl-Acetat mit dem Trinkwasser zugeführt, und zwar in Dosierungen von 68 mg/kg KG/Tag oder 200 000 IU und 130 mg/kg KG/Tag bzw. 380 000 IU. Die Versuchstiere entwickelten benigne (gutartige) und maligne (bösartige) Tumoren. Bei der Auswertung kann davon ausgegangen werden, dass von subtoxischen Dosierungen keine kanzerogenen Wirkungen zu erwarten sind. U.a. werden Retinol und seinen Metaboliten auch antiproliferative Eigenschaften zugeschrieben.

Untersuchungen zur embryo-foetalen Toxizität wurden an trächtigen Ratten, Mäusen, Kaninchen und Cynomolgus-Affen mit Retinyl-Palmitat durchgeführt. Teratogene Effekte sind bei Ratten bei Dosierungen ab 90 mg/kg KG/Tag (165 000 IU/kg KG/Tag), bei Mäusen ab 50 mg KG/kg/Tag (91 500 IU/kg KG/Tag) und bei Kaninchen bei 5 mg/kg KG/Tag (9 150 IU/kg KG/Tag) beobachtet worden. Parallel zu den Studien zur Teratogenität sind Plasmaspiegel-Untersuchungen der aktiven Metaboliten 13-cis-Retinsäure, all-trans-Retinsäure (ATRA) und 4-Oxo-all-trans-Retinsäure vorgenommen worden. Missbildungen traten bei Nachkommen von Muttertieren der Cynomolgus-Affen auf, die eine Tagesdosis von 11 mg/kg KG/Tag (20 000 IU/kg KG/Tag) erhalten haben und erhöhte Plasmaspiegel aufwiesen. Bei Muttertieren mit physiologischen Plasmaspiegeln zeigten sich keine Missbildungen der Foeten. Der NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) betrug für Ratten 30 mg/kg KG/Tag (55 000 IU/kg KG/Tag), Mäuse 15 mg/kg KG/Tag (27 450 IU/kg KG/Tag), Kaninchen 2 mg/kg KG/Tag (3 660 IU/kg KG/Tag) und Cynomolgus-Affen 4 mg/kg KG/Tag (7 500 IU/kg KG/Tag).

Tierexperimentell erwiesen sich Retinol und Retinyl-Ester als nicht mutagen, nicht genotoxisch und nicht kanzerogen in subtoxischen Dosierungen. Teratogenität trat bei unphysiologisch erhöhten Plasmaspiegeln auf.

1.2.3 Hautpenetration und -verträglichkeit

Zur perkutanen Penetration und Absorption nach topischer Applikation wurden *In-vitro*- und *In-vivo*-Untersuchungen mit unterschiedlichen Retinol- bzw. Konzentrationen der Derivate und Formulierungen vorgelegt. Die Untersuchungen wurden an Schweinehaut und exzidiert Humanhaut vorgenommen, wobei Penetrationsraten zwischen 1-4 % in Abhängigkeit der verwendeten Grundlage nachgewiesen wurden (8), (9). In einer anderen Untersuchung wurde bei Applikation einer Test-Formulierung mit Azeton-Vehikel eine Absorptionsquote von 18 % nachgewiesen (10).

Ergebnisse aus den Jahren 1990-2000 sind zu Plasmaspiegeluntersuchungen nach topischer Applikation bei weiblichen Probanden vorgelegt worden. Dabei zeigte ein Vergleich mit intravenöser Gabe und topischer Anwendung von Retinol und Retinyl-Palmitat unter Vitamin-A kontrollierter Diät keine Erhöhung der Plasmaspiegel bei topischer Anwendung im Sinne einer systemischen Wirkung über 56 Tage (11).

Bei einer weiteren plazebokontrollierten Studie wurde jeweils 3 Gruppen à 12 Frauen im gebärfähigen Alter je 10 g Creme mit 0,236 % (41 000 IU) Retinyl-Palmitat und 0,147 % Retinol (25 000 IU) und Plazebo zur täglichen Ganzkörperapplikation für 56 Tage verabreicht. Bei den Verum-Gruppen war kein Anstieg der Plasmaspiegel für Retinol, RP und die Metaboliten ATRA, 13-cis RA, 4-oxo RA, 4-oxo ATRA und 9-cis RA gegenüber der Plazebogruppe zu verzeichnen (12).

Als limitierender Faktor für die Anwendung von Vitamin A und seinen Derivaten am Menschen wird die dermale Verträglichkeit beschrieben. Geprüft wurden unterschiedliche Formulierungen und Konzentrationen an hautgesunden Probanden und dermatologischen Patienten. Aus den vorliegenden Verträglichkeitsstudien von Retinol und seinen Estern erwiesen sich Wirkstoffkonzentrationen bis zu 0,3 RE (% max) (beabsichtigte Höchstkonzentration in kosmetischen Mitteln) an hautgesunden Probanden als nicht signifikant irritierend und nicht sensibilisierend. Bei Applikation auf vorgeschädigte Haut kam es jedoch bei Konzentrationen, wie sie für kosmetische Mittel vorgesehen sind, zu irritativen Effekten. Untersuchungen zur Langzeitanwendung über 4 Monate liegen hierzu nicht vor. Die Substanzen erwiesen sich als nicht phototoxisch und nicht photosensibilisierend.

In-vitro-Untersuchungen an Schweinehaut und exzidiert Humanhaut wiesen Penetrationsraten zwischen 1-4 % in Abhängigkeit von der verwendeten Formulierung auf. Plasmaspiegeluntersuchungen *in vivo* am Tier (Ratten, Rhesusaffen) und an weiblichen Probanden, plazebokontrolliert, zeigten keine wesentlichen Anstiege nach topischer Anwendung bei der Verumgruppe. Eine mögliche systemische Wirkung war in diesen Untersuchungen für die Dauer der Anwendung über 56 Tage nicht nachweisbar.

1.2.4 Expositionsabschätzung

Aufgrund der bisher vorliegenden uneinheitlichen Datenlage zur Hautpenetration konnte eine Exposition der Verbraucher mit Retinol und seinen Estern für die zur Bewertung vorgesehenen kosmetischen Mittel nur abgeschätzt werden. Geht man von einer 2 x täglichen Applikation einer 0,3 %igen Retinolformulierung auf Gesicht (0,8 g) und Hände (0,8 g) aus, würde die applizierte Menge 4,8 mg Retinol betragen. Unter der Annahme einer Resorptionsquote

von 1 % und einem Körpergewicht von 60 kg entspräche das einer Systemischen Expositionsdosis (SED) von 0,0008 mg/kg KG. Umgerechnet in IU beträgt die SED für Retinol 2,664 IU/kg KG bei 2-maliger Anwendung. Berechnet auf einen 60 kg schweren Menschen würde sich daraus eine Gesamtexposition von 0,048 mg bzw. 160 IU/Tag oder 80 IU pro Anwendung ergeben. Bei Zugrundelegung einer duldbaren maximalen Aufnahme (Tolerable upper Intake) von 8 000 IU/Tag für Schwangere und von 5 000 IU/Tag für Frauen in der Postmenopause könnte somit der Eintrag durch topische Applikation ca. 2 bzw. 3,2 % der Tolerable upper Intake-Dosis betragen.

Bei einer Ganzkörperapplikation mit einer 0,1 %igen Retinolformulierung würde die applizierte Menge 0,08 mg betragen. Unter Annahme einer 1 %igen Resorptionsquote bei 1x täglicher Applikation errechnet sich eine SED von 0,0013 mg/kg KG bzw. 4,44 IU Retinol/kg KG und Tag. Für einen 60 kg schweren Menschen entspräche das 0,078 mg bzw. 266,4 IU Retinol bzw. 5,32 % der Tolerable upper Intake-Dosis bei postmenopausalen Frauen. Bei Annahme einer Absorptionsrate von 4 % als Summe der resorbierten Anteile von Epidermis, Dermis und Rezeptorflüssigkeit, läge der Eintrag aus topischer Anwendung wesentlich höher (13).

Aufgrund dieser theoretischen Expositionsabschätzung stellte sich die Frage, in welchem Maße Vitamin A aus kosmetischen Formulierungen durch die Haut penetrieren kann und ob unter maximalen Anwendungsbedingungen das endogene Niveau von Retinol und seinen Metaboliten beeinflusst werden kann.

Zur Abklärung dieser Fragestellung wurde die Pharmakokinetik von topisch appliziertem Retinol und Retinyl-Palmitat auf das systemische Niveau von Retinol und seinen Hauptmetaboliten *in vivo* bei Frauen im Alter zwischen 20 und 40 Jahren unter Ausschluss einer Schwangerschaft *in vivo* im Jahr 2005 erneut untersucht (14).

In dieser Studie wurde zwei Gruppen von je 14 Frauen im gebärfähigen Alter 6 Tage vor Studienbeginn bis zum Ende der Untersuchung eine Vitamin A und Betacarotin arme Diät verabreicht. Nach einem Vorlauf zur Feststellung des endogenen Niveaus von Retinol und seinen hauptsächlichlichen Metaboliten wurde die erste Gruppe 21 Tage mit einer 0,3 %igen Retinol-Zubereitung, die zweite Gruppe 21 Tage mit einer 0,55 %igen Retinyl-palmitat Zubereitung topisch behandelt. Die applizierten Dosen entsprachen etwa 30 000 IU Vitamin A (9 mg) pro Tag. Die Applikation erfolgte durch Fachpersonal auf 3 000 cm² Hautoberfläche 1 x täglich jeweils nach Dusche oder Bad. Behandelt wurden Rücken und Oberschenkel. Die auftretenden Hautreizungen führten bei keiner Probandin zum Studienabbruch. Nach einer 12-tägigen Wash-Out-Phase erhielten beide Gruppen oral 10 000 IU (3 mg) bzw. 30 000 IU (9 mg) in Form von Retinyl-palmitat. Plasmaspiegeluntersuchungen zur Kontrolle des endogenen Retinoid-Niveaus wurden am 1., 21. und 35. Tag vorgenommen.

Nur in der Nachfolgestudie mit einmaliger oraler Verabreichung von Retinyl-palmitat war ein eindeutiger Anstieg der Plasmaspiegel nachweisbar.

Die vorgelegte Studie belegt, dass bei 1 x täglicher externer Anwendung der geprüften Formulierungen auf eine Hautoberfläche von ca. 3 000 cm² und in Konzentrationen von 0,3 % Retinol und 0,55 % Retinyl-Palmitat über 21 Tage keine signifikanten Einflüsse auf die Plasmaspiegel nachweisbar sind. Da z.B. eine teratogene Wirkung mit dem Anstieg der Plasmaspiegel korreliert, ist das Auftreten teratogener Wirkungen unter den beschriebenen Anwendungsbedingungen nicht anzunehmen.

Um eine abschließende Expositionsbeurteilung vornehmen zu können, sind noch einige Fragen ungeklärt, z.B.:

- Kann in Anbetracht der beanspruchten Ganzkörperapplikation für Body-Lotion die geprüfte Hautoberfläche von 3 000 cm² als repräsentativ angesehen werden? Nach SCCNFP'S „Notes of Guidance“ 2003 werden für das Gesicht Hautoberflächen von 555 cm² und für die Hände 840 cm² angegeben. Bei zweimaliger Applikation entspräche dies bereits einer Hautoberfläche von 2 790 cm².
- Nicht einschätzbar bleibt ein möglicher Eintrag von Vitamin A durch die Haut bei Langzeitanwendung (über Monate und Jahre) bei zweimal täglicher Applikation. Hierzu sind keine Aussagen aus der Studie ableitbar.
- Zu bestimmten Risikogruppen wie Schwangeren oder Frauen in der Postmenopause mit osteoporotischen Knochenveränderungen konnten keine Aussagen getroffen werden. Aus der Interpretation der bereits vorgelegten Penetrationsuntersuchungen älteren Datums mit Angabe von Penetrationsraten zwischen 1-4 % geht hervor, dass der Eintrag aus Retinol-haltigen kosmetischen Formulierungen theoretisch zwischen 2-5 % bzw. bis zu 20 % der duldbaren maximalen Aufnahme (Tolerable upper intake) von 8 000 IU/Tag für Schwangere und von 5 000 IU/Tag für Frauen in der Postmenopause betragen könnte.

1.2.5 Ergebnisse und Auswirkungen auf den Verbraucherschutz

Vor dem Hintergrund der Vitamin-A-Einträge aus den verschiedenen Expositionsquellen (Ernährung, Nahrungsergänzungsmittel bzw. Multivitaminpräparate) empfiehlt die Kommission deren Einfluss bei der Risikobewertung zu berücksichtigen (15). Der kosmetische Eintrag sollte keinen Einfluss auf den Vitamin-A-Plasmaspiegel haben, und eine relevante zusätzliche Vitamin-A-Aufnahme durch Kosmetika sollte ausgeschlossen sein.

Welchen Beitrag kosmetische Mittel zur Gesamtexposition gegenüber Vitamin A zusätzlich zur Ernährung und möglichen zusätzlichen Aufnahme durch Nahrungsergänzungsmittel leisten, ist aufgrund der vorgelegten Daten nicht quantifizierbar.

Eine vollständige Expositionseinschätzung und Risikobewertung, welche die zusätzliche Aufnahme aus kosmetischen Mitteln berücksichtigt, kann deshalb nicht vorgenommen werden.

2 Verschiedenes

2.1 Risiken von Tattoos

Tattoos und Permanent Make-up können gesundheitliche Risiken für den Verbraucher bergen. Während die Anwendung kosmetischer Mittel europaweit geregelt ist, gibt es für Tattoos und Permanent Make-up noch keine vergleichbaren Regelungen. In Deutschland unterliegen Tätowiermittel den Vorschriften des Lebens- und Futtermittelgesetzbuches (LFBG) für kosmetische Mittel. Eine Verordnung mit weitgehenden Anforderungen zur Sicherheit von Tätowiermitteln ist derzeit in Vorbereitung.

Die Kommission begrüßt die Aktivitäten auf diesem Gebiet. Sie hält es im Sinne des Verbraucherschutzes für notwendig, intensive Aufklärungsarbeit zu betreiben. Grund zur Besorgnis besteht vor allem bei Kindern und Jugendlichen mit „klassischen“ Tattoos.

Risiken werden insbesondere im Zusammenhang unter folgenden Aspekten gesehen:

- Eine gesundheitliche Gefährdung besteht bei Vernachlässigung der Hygienevorschriften in den Studios.
- Die Qualifikation der Betreiber wird nicht überprüft.
- Da Hautareale, in die Farbstoffe injiziert wurden, das UV-Licht verstärkt absorbieren, könnte das Risiko eines UV-induzierten Hauttumors erhöht sein.
- Die medizinische Entfernung von Tattoos durch Laser-Verfahren birgt Risiken durch Zerstrahlung der injizierten Farbstoffe. Mögliche Interaktionen, Metabolisierung und Elimination sind noch weitgehend unerforscht.

2.2 Technisch vermeidbare Gehalte an Schwermetallen in kosmetischen Mitteln

In der Kommission wurde erneut eine gesundheitliche Bewertung von Schwermetallen in kosmetischen Mitteln unter Berücksichtigung der derzeitigen analytischen Methoden sowie anderer Expositionsquellen vorgenommen. Hintergrund hierfür ist die Überprüfung bzw. Notwendigkeit einer Aktualisierung von Werten zu technisch vermeidbaren Gehalten aus Untersuchungsergebnissen bestimmter Schwermetalle in kosmetischen Mitteln, die das ehemalige Bundesgesundheitsamt (BGA) im Bundesgesundheitsblatt 1985 und 1990 publiziert hatte und die gegebenenfalls für eine europaweite Regelung herangezogen werden sollen. Es wurde die Auffassung vertreten, dass die diesbezüglichen Empfehlungen des BGA nicht mehr aktuell und somit als Basis für eine europäische Regelung ungeeignet sind.

Nach heutigem Wissensstand wird angenommen, dass die Exposition mit Schwermetallen aus kosmetischen Mitteln gegenüber anderen Quellen in der Regel eine untergeordnete Rolle spielt und die Gehalte an Schwermetallen in kosmetischen Mitteln in den letzten Jahren zurückgegangen sind. Vereinzelt sind sie in Produkten für die dekorative Kosmetik und in Farbmitteln zu Tätowierzwecken zu finden, so dass eine systemische Exposition nur über solche Produkte anzunehmen ist. Dies könnte der Fall sein bei Lippenstiften, bei denen Schwermetalle als Verunreinigung von Farbpigmenten aufgenommen werden oder bei Farbstoffen zum Tätowieren, die in die Haut eingebracht werden. Die Gehalte von Schwermetallen sollten bevorzugt über Reinheitsanforderungen an die Ausgangsprodukte bzw. Rohstoffe geregelt werden und nicht über zusätzliche Angaben für technisch vermeidbare Schwermetallgehalte in kosmetischen Fertigprodukten.

2.3 Parabene in kosmetischen Mitteln

Laut einer englischen Publikation (18) wurden in Gewebeproben von malignen Brusttumoren Parabene analysiert. Das BfR hat sich in einer publizierten Stellungnahme (19) bereits mit der Thematik befasst und sah den kausalen Zusammenhang zwischen Paraben-haltigen Deodoranzien und einem erhöhten Risiko für Brustkrebserkrankungen als nicht gegeben. Vor dem Hintergrund einer toxikologischen Neubewertung der Parabene durch entsprechende internationale Gremien wie SCCP (20, 21) und EFSA bestand für das BfR kein Handlungsbedarf. In der EU fand ebenfalls eine Beratung unter den Mitgliedstaaten statt. Eine dort vorgelegte nicht publizierte Submission I wurde der Kosmetikkommission zur Bewertung zur Verfügung gestellt. Originalunterlagen wurden nicht vorgelegt.

Die Submission I von COLIPA (23) vom September 2005 befasst sich hauptsächlich mit tierexperimentellen Untersuchungen zur oralen Toxizität von Butyl- und Methylparaben. Bei Zugrundelegung eines NOAEL von 1 000 mg/kg KG/Tag aus einer Reproduktionstoxizitätsstudie und einer Absorption unter Worst-case-Bedingungen von 50 % errechnet sich eine SED (für single paraben) von 0,59 mg/kg KG/Tag und eine SED (für mixture) von 1,18 mg/kg KG/Tag. Diese Expositionsdaten entsprechen einem MoS von 1 690 für die Einzelsubstanz bzw. 840 für ein Gemisch. Aufgrund ihrer pharmakokinetischen Eigenschaften werden Parabene bei Anwendung auf der Haut durch Esterasen gespalten und sind somit nicht mehr bioverfügbar. Deshalb ist ein Zusammenhang zwischen Paraben-haltigen Deodoranzien und der Entstehung von Brustkrebskrankungen nicht plausibel. Die hohen MoS-Werte bieten zusätzliche Sicherheit und stützen die vom BfR getroffenen Aussagen, dass kein Anlass zur Besorgnis bei Einsatz von Parabenen in kosmetischen Mitteln besteht. Weiterer Handlungsbedarf auf nationaler Ebene wird von der Kosmetikkommission nicht gesehen.

2.4 Biozide in kosmetischen Mittel: After-Sun-Produkte mit Repellenzien

In einer Arbeitsgruppe der EU wurde über Abgrenzungsfragen von Bioziden in kosmetischen Mitteln diskutiert. Anlass gaben After-Sun-Präparate, die zusätzlich Repellenzien⁵ enthalten. Dabei wurde festgestellt, dass solche Präparate bei großflächiger Anwendung durch den Verbraucher ein gesundheitliches Risiko bergen könnten. In diesem Zusammenhang wurde die Kosmetikkommission um Stellungnahme und Expositionsrechnung anhand vertraulicher Unterlagen (23) gebeten. Bewertet wurde der Wirkstoff Ethyl-Butylacetylaminopropionat.

Da keine Daten zur Hautpenetration vorgelegt wurden, musste bei einer Formulierung mit 10 % Ethyl-Butylacetylaminopropionat als Repellenz bei der Sicherheitsbewertung von einer 100 %igen Penetration ausgegangen werden. Erfahrungsgemäß werden 1 mg/cm² Hautoberfläche aufgetragen. Dies entspricht bei einer 10 %igen Zubereitung 100 µg/cm² Hautoberfläche. Für die Ermittlung des NOAEL wurde die subchronische dermale Toxizität an Wistar Ratten über 90 Tage (13 Wochen) herangezogen. Appliziert wurden bis zu 3 000 mg/kg KG dermal unter Okklusivbedingungen. Der NOAEL betrug 3 000 mg/kg KG/Tag. Bei Ganzkörperapplikation und Zugrundelegung einer Expositionsfläche von 15 000 cm² betrug die SED 25 mg/kg KG und der MoS 120. Aus einer 2-Generationsstudie ebenfalls an Ratten mit oraler Gabe per Schlundsonde ergab sich ein NOAEL von 300 mg/kg KG/Tag und ein LOAEL von 1 000 mg/kg KG/Tag. Bei Annahme einer 10 %igen Penetrationsrate und einer Expositionsfläche von 17 500 cm² nach Notes of Guidance, 2003, errechnete sich ein MoS von 103 bzw. bei Auswertung weiterer Studien war er vergleichbar niedrig. Der aus den Zusammenfassungen der Studien errechnete MoS ist für ein Hautpflegemittel nicht sehr belastbar. Bemängelt wird das Fehlen von Hautpenetrationsstudien für diese Substanz.

In der Beratung wurde ergänzt, dass diese Toxizitätsstudien für die Sicherheitsbewertung von Repellenzien (Biozide) initiiert wurden, die nach Bedarf und auf begrenzter und unbedeckter Hautoberfläche angewendet werden und nicht unter dem Aspekt der Anwendung von After-Sun-Produkten zur Pflege der Haut nach dem Sonnenbaden. Auch aufgrund der fehlenden Hautpenetrationsstudien konnte die Kommission mögliche gesundheitliche Risiken für die Verbraucher bei großflächiger, wiederholter und unkontrollierter Anwendung nicht ausschließen.

⁵ Repellenzien (Insektenvertreibungsmittel) werden als Schutz vor Insekten auf die Haut aufgetragen: Sie bilden einen Duftmantel (Schutzschildeffekt), der die Insekten fernhält.

3 Referenzen

- (1) Blanes-Mira, C., Clemente, J., Jodas, G. et al (Oct 2002): A synthetic Hexapeptide (Argireline) with antiwrinkle activity; International Journal of Cosmetic Science, Volume 24 Issue 5 Page 303.
- (2) THE SCCP'S NOTES OF GUIDANCE FOR THE TESTING OF COSMETIC INGREDIENTS AND THEIR SAFETY EVALUATION, 6TH REVISION, Dec. 2006.
- (3) TNO-Report V 6373 Final: *In vitro* percutaneous absorption of [¹⁴ C]-Argireline® through human skin membranes using flow-through diffusion cells: Netherlands Organisation for Applied Scientific Research- TNO, 25 July 2005, (Nichtveröffentlichte Untersuchung).
- (4) Schulz, C. (2004): Bericht über die 67. und 68. Sitzung der vorläufigen Kommission für kosmetische Mittel des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) am 3. und 4. Dezember 2003 und 6. Mai 2004 in Berlin, Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz, 47 (11), 1111-1113.
- (5) Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Preformed Vitamin A (retinol and retinyl esters), expressed on 26 Sept. 2002, SCF/CS/NUT/UPPLEV/24-Final, 7 Oct. 2002.
- (6) Melhus, H., Michaelsson, K., Kindmark, A., Bergstroem, R., Holmberg, L., Mallmin, H., Wolk, A., Ljunghall, S. (1998): Excessive dietary intake of vitamin A is associated with reduced bone mineral density and increased risk for hip fracture, *Annals of Int. Medicine*, 129, 770-778.
- (7) Hellwig, L. (1984): BASF AG, Depart. Toxicology. Three month feeding study in rats. Study report 79/581 (unpublished), Hellwig, L. (1984): BASF AG, Depart. Toxicology. Three month feeding study in rats. Study report 79/582 (unpublished).
- (8) Leclerc, C., Wegrich, P., Fouchard, F., Cottin, M., Leclaire, J., Benech-Kieffer, F. (1998): Cutaneous bioavailability and metabolism of the retinyl palmitate in human skin *in vitro*: Role of an exogenous enzyme. In: Brain, KR., James, VR., Walters, KA., eds. *Perspectives in Percutaneous Penetration*, Cardiff STS, 5b, 1-3.
- (9) Diembeck, W., 1998. Beiersdorf Report No. 1120.7344-32-01. Dermale Penetration von Retinylpalmitat in verschiedenen Vehikeln nach Applikation auf exzidierte Schweinehaut (unpublished), Diembeck, W. (1999): Beiersdorf Report No. 1120.7344-20-002. Dermale Absorption und Penetration von Retinol in g-Cyclodextrin in O/W- Grundlagen und von Retinylpalmitat in Hydrogel nach Applikation auf exzidierte Schweinehaut (unpublished).
- (10) Boehnlein, J., Sakr, A., Lichtin, JL., Bronaugh, R.L. (1994): Characterization of esterase and alcohol dehydrogenase activity in skin. Metabolism of retinyl palmitate to retinol (Vitamin A) during percutaneous absorption, *Pharmaceutical Research*, 11 (8), 1155-1159.
- (11) Meuling et al. (1995) : TNO-rapport V 95.137. Nutrition and Food Research der Niederlande, (unpublished).

- (12) Renwick, A., Howes, D. (1997): Retinol and retinyl palmitate. Transdermal absorption and metabolism. Environmental Safety Laboratory, Unilever Safety Laboratory, Unilever Research, D97/037 (unpublished).
- (13) The Scientific Committee on Consumer Products and Non-Food Products intended for Consumers, The SCCNFP'S Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation, 5 th. Revision, adopted on 20 Oct 2003, SCCNFP/0690/03 Final.
- (14) Nohynek, G.J., Meuling, W.J.A., Vaes, W., Lawrence, R.S., Shapiro, S., Schulte, S., Steiling, W., Bausch, J., Gerber, E., Sasa, H., Nau, H. (2005): Repeated topical treatment, in contrast to single oral doses, with Vitamin A-containing preparations does not affect plasma concentrations of retinol, retinyl esters or retinoic acids in female subjects of child-bearing age, Toxicology Letters, 163, 65-76.
- (15) Großklaus R., Ziegenhagen R. (2006): Vitamine und Mineralstoffe in Nahrungsergänzungsmitteln - Eine aktuelle Risikobewertung - Bundesgesundheitsblatt (2006): 49, 202-210.
- (16) Gesundheitsgefahren durch Tätowierungen und Permanent Make-up, Aktualisierte Stellungnahme Nr. 019/2007 des BfR vom 22. März 2004/Juli 2007, http://www.bfr.bund.de/cm/206/gesundheitsgefahren_durch_taetowierungen_und_permanent_make_up.pdf
- (17) Bundesgesundhbl. 28, 216 (1985), 33, 177 (1990), 35, 364 (1992) und 39, 162 (1996)
- (18) Dabre, P.D., Aljarrah, A., Miller, W.R. et al (2004) : Concentrations of Parabens in Human Breast Tumours. J. Appl.Toxicol. 24, 5-13.
- (19) Paraben-haltige Deodorants und die Entstehung von Brustkrebs, Stellungnahme des BfR vom 13. 2. 2004. http://www.bfr.bund.de/cm/206/parabenhaltige_deodorants_und_die_entstehung_von_brustkrebs.pdf
- (20) SCCP/0873/05 Extended Opinion on the Safety Evaluation of Parabens, 28. January 2005.
- (21) SCCP/0874/05 Extended Opinion on Parabens, underarm cosmetics and breast cancer, 28. January 2005.
- (22) Colipa N° P 082, Submission I, Preservative, Esters of 4-hydroxybenzoic acid, September 2005.
- (23) Doc-Biocides-2002/03-rev 1, 24.05.2004
Draft-Guidance document agreed between the Commission services and the competent authorities of Member States for the biocidal products Directive 98/8/EC and for the cosmetic products Directive 76/768/EEC.