

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi  
Rehberi

Ek R.6-1 Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve  
Kimyasalların Gruplandırılması Rehberi için  
geçerli nanoformlar için uygulanabilir tavsiyeler

## YASAL UYARI

Bu belge, kullanıcılara Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik uyarınca yükümlülüklerini yerine getirmelerine yardımcı olma amaçlı bir dizi rehber belgeden biridir. Bununla beraber, söz konusu Yönetmeliğin tek gerçek referans olduğu ve işbu belgede yer verilen bilgilerin yasal tavsiye niteliğinde olmadığı hatırlatılır. Bilgilerin kullanımı tamamen kullanıcının sorumluluğundadır. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı işbu belgenin içindeki bilgilerin kullanımından açığa çıkabilecek hiçbir yükümlülük kabul etmemektedir.

Bu rehber, Avrupa Kimyasallar Ajansı (European Chemicals Agency-ECHA) tarafından REACH Tüzüğü'nün uygulanmasına ilişkin hazırlanan "Appendix R.6-1 for nanoforms applicable to the Guidance on QSARs and Grouping of Chemicals" adlı rehberden Türkçe'ye çevrilmiş ve Türkiye'deki mevzuata göre uyarlanmıştır. Rehberin İngilizce orijinal metnine ECHA'nın web sitesinden erişilebilir (<https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach>).

## Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi

Ek R.6-1 Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve Kimyasalların Gruplandırılması Rehberi için geçerli nanoformlar için uygulanabilir tavsiyeler

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı

Bu Rehber dokümana ilişkin sorularınız ya da yorumlarınız varsa (yorumlarınızın olduğu dokümanın referans numarasını, yayınlanma tarihini, bölüm ve/veya sayfa numarasını belirterek), Kimyasallar Yardım Masasındaki soru formunu kullanarak gönderebilirsiniz. Geri bildirim formuna Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Kimyasallar Yardım Masasında aşağıdaki linki kullanarak doğrudan ulaşabilirsiniz: <https://kimyasallar.csb.gov.tr>

## Çevre ve Şehircilik Bakanlığı

Adres: Mustafa Kemal Mahallesi Eskişehir Devlet Yolu  
(Dumlupınar Bulvarı) 9. km. No: 278 Çankaya / Ankara

## BELGENİN TARİHÇESİ

Versiyon	Değişiklikler	Tarih
Versiyon 1.0	İlk baskı	Mayıs 2017
Versiyon 2.0	Maddelerin nanoformlarını ele almak için REACH Tüzüğüne değiştiren 3 Aralık 2018 tarihli Komisyon Yönetmeliği ((AB) 2018/1881) ile uyumluluk için güncelleme	Aralık 2019

## ÖNSÖZ

BG ve KGD rehberinin Bölüm R.6'sının bu eki, nanoformları (veya nanoform setlerini) kapsayan kayıt dosyalarını hazırlayan kayıt ettirenlere tavsiyelerde bulunmak amacıyla geliştirilmiştir<sup>1</sup>.

Bu belge, nanoformlar ve / veya nanoform setleri ve aynı maddenin nanoform olmayan formları arasında zararlılık verilerinin kullanımının nasıl gerekçelendirileceğine dair bir yaklaşım sağlamayı amaçlamaktadır. Kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin genel kavramlar nanoformlar için geçerli olduğundan, *Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve Gruplandırmaya ilişkin BG ve KGD Rehberinin* Bölüm R.6'sına Ek<sub>2</sub> [1] olarak sunulmuştur. Rehberin bu versiyonunda nicel yapı aktiviteleri için nanoformlarla ilgili özel bir tavsiyenin verilmediği unutulmamalıdır.

Bu belgede sağlanan yaklaşım ve genel ilkeler, ana rehberde verilen tavsiyelerle birlikte, farklı maddelerin nanoformları ve/veya nanoform setleri arasında çalışmalardan çapraz okuma düşünüldüğünde de faydalı olabilir.

Bu ek, nanoformlar için özel tavsiyeler sağlamayı amaçlamaktadır, ancak aynı konudaki ana rehberde verilen genel ilkelerin uygulanmasını engellemez.

Bu belgenin KKDİK Yönetmeliği Ek 6 ila 11'de belirtilen bilgi gerekliliklerinin nasıl karşılanacağına dair sonlanma noktasına özel rehberlik sağlamadığı unutulmamalıdır. Bu tür bilgiler *BG ve KGD Rehberinin* R.7a, R.7b ve R.7c Bölümlerinde ve nanoformlar için nanoya özel Eklerinde verilmektedir.

Mevcut bilgilerin toplanması ve değerlendirilmesi ve bilgi gerekliliklerinin uyarlanması gibi bilgi gerekliliklerinin nasıl karşılanacağına dair genel bilgiler BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.2 ila R.5'te mevcuttur ve nanoformlar için de geçerli olduğu kabul edilir.

---

<sup>1</sup> Lütfen bkz. *Kayıt Rehberi ve Madde tanımlama Rehberi için geçerli nanoformlar için uygulanabilir Ek* [2]

<sup>2</sup> *Nicel yapı aktivite ilişkileri ve kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin Rehber* (BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.6) bu ekin içeriğinde "ana rehber" olarak anılacaktır.

## İçindekiler

<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>6</b>
<b>2. AMAÇ</b> .....	<b>7</b>
<b>3. ZARARLILIK VE DAVRANIŞ BELİRLENMESİ AMACIYLA NANOFORMLARIN ÇAPRAZ OKUMASINA YÖNELİK AŞAMALI BİR STRATEJİ</b> .....	<b>8</b>
3.1 Nanoformların (setlerinin) gruplaması için aşamalı strateji .....	9
3.2 Adım 1: Maddenin nanoformlarının ve nanoform setlerinin tanımlanması ve karakterizasyonu.....	11
3.3 Adım 2: Nanoformların (setlerinin) ilk gruplaması - Çapraz okuma hipotezi geliştirilmesi, bir grubun sınırlarının ve üyelerinin tanımlanması.....	13
3.4 Adım 3: Her grup üyesi için mevcut veriler toplanır ve veriler yeterlilik ve güvenilirlik açısından değerlendirilir .....	19
3.5 Adım 4: Veri kullanılabilirliği matrisi oluşturulur .....	19
3.6 Adım 5: Yaklaşımın yeterliliği değerlendirilir ve nanoform/nanoform setleri içindeki veri boşlukları doldurulur.....	20
3.7 Adım 6: Tüm nanoform/nanoform seti grubu için veri boşluğunu doldurmak üzere test yapılır ve/veya önerilir: .....	20
3.8 Adım 7: Nihai gruplama yaklaşımı belgelenir ve gruplama gerekçesi detaylandırılır .....	21
<b>EK 1. NANO FORMLARIN GRUPLANDIRILMASI VE ÇAPRAZ OKUMASI İÇİN İLGİLİ KİLİT FİZİKOKİMYASAL PARAMETRELERİN ÖZETİ VE BUNLARIN İNSAN SAĞLIĞI VE ÇEVRESEL SONLANMA NOKTALARI İÇİN İLGI DÜZEYİ</b> .....	<b>22</b>
<b>EK 2. ÇAPRAZ OKUMA MATRİSİ İÇİN ŞABLON ÖRNEĞİ</b> .....	<b>25</b>
<b>REFERANSLAR</b> .....	<b>27</b>

## Şekiller

Şekil 1: Aşamalı yaklaşım şeması.....	10
Şekil 2: Nanoformların ve nanoform setlerinin çapraz okumasıyla ilgili anahtar fizikokimyasal parametreler (nanoformlar için KKDİK bilgi gereklilikleri olan özellikler kalın yazı tipiyle verilmiştir) .....	12

## Tablolar

Tablo 1. Farklı çevresel katmanlarda seçilen çevresel süreçlerin/parametrelerin ilgi düzeyi (münhasır olmayan). .....	18
Tablo 2: Nano formların gruplandırılması ve çapraz okuması için dikkate alınması gereken kilit fizikokimyasal parametreler ve bunların insan sağlığı ve çevresel sonlanma noktaları için ilgi düzeyi.....	23
Tablo 3: Nanoformlar için çapraz okuma matris şablonu örneği.....	25

## 1. Giriş

Bu rehber, aynı kimyasal maddenin nanoformlarını (veya nanoform setlerini) tanımlayan kayıt ettirenlere yöneliktir<sup>3</sup>. Bu tür durumlarda, mevcut zararlılık verilerinin hangi formlara (nanoform olmayanlar dahil) uygulanabilir olduğunun belirlenmesi ve/veya belirli bilgi gerekliliklerini karşılamak için bir test stratejisi tasarlamak gereklidir. Bu belgede ortaya konan ilkeler, ayrıca, mevcut zararlılık verilerinin, piyasaya sürülen ilave nanoformlar için de geçerli olup olmayacağını belirleme ihtiyacı yaratan nanoformları (veya nanoform setlerini) içeren mevcut bir kayda katılan potansiyel bir kayıt ettiren için de yararlı olacaktır.

Aynı maddenin nanoformları (veya nanoform setleri) arasındaki zararlılık verilerinin kullanımını gerekçelendirmek için edinilen ilkeler ve yaklaşımlar, farklı maddeler arasında çapraz okuma ve kategori oluşturma için kullanılanlara benzerdir. "Hedef"<sup>4</sup> ve "kaynak"<sup>5</sup> gibi genel terimlerin açıklamaları dahil olmak üzere gruplama ve çapraz okumaya ilişkin genel ilkelere dair açıklamalar ana rehberde bulunabilir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 6 uyarınca: *"Teknik ve bilimsel olarak gerekçelendirildiğinde, Ek XI.1.5 içerisinde belirtilen metodolojiler, bir maddenin iki veya daha fazla formu bir, daha fazla veya muhtemelen tüm bilgi gereklilikleri için "gruplandırıldığında" bir kayıt dosyasında kullanılacaktır."*

Revize edilmiş KKDİK Ek 6, "nanoform" ve "nanoform setleri" kavramlarını tanıtmaktadır. İmalatçıların ve/veya ithalatçıların her nanoform için kendi başına veya bir setle birlikte içsel özellikler hakkında gerekli bilgileri göndermesini gerektirir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 6'ya göre, "nanoform", bağlı olmayan veya agregaya veya aglomera halinde tanecikler içeren, bir maddenin doğal veya imal edilmiş<sup>6</sup> bir formudur ve burada, sayı boyut dağılımındaki taneciklerin %50'si veya daha fazlası için, bir veya daha fazla dış boyut 1 nm-100 nm boyut aralığındadır, bunlara ayrıca derogasyon fullerenleri, grafen pulları ve bir veya daha fazla dış boyutu 1 nm'nin altında olan tek duvarlı karbon nanotüpler dahildir. Her nanoform, KKDİK Ek 6 bölüm 2.4'e göre karakterize edilmelidir. Bir madde, madde 2.4.2 ile 2.4.5 altında verilen parametrelerdeki değişikliklere (boyut dağılımı, şekil, yüzey uygulaması ve taneciklerin işlevselliği ve özel yüzey alanı) bağlı olarak bir veya daha fazla farklı nanoforma sahip olabilir. Fizikokimyasal parametrelerdeki (örn. yüzey kimyası) farklılıklar nedeniyle, aynı maddenin nanoformları da farklı zararlılık profillerine sahip olabilir.

Bu nanoformların zararlılık değerlendirmesi, maruz kalma değerlendirmesi ve risk değerlendirmesinin (Ek 6 parametrelerinde açıkça tanımlanmış sınırlarla birlikte) tüm sonlanma noktaları için birlikte gerçekleştirilebileceği sonucuna varmak mümkün olduğunda bir "benzer nanoformlar seti" oluşturulabilir. *Kayıt Rehberi ve Madde Tanımlama Rehberi nanoformlar için uygulanabilir Ek [2]*, farklı nanoform setlerinin nasıl oluşturulacağını açıklar ve bu tür nanoform setlerini kaydederken karakterizasyon ve raporlama gereklilikleri hakkında daha fazla ayrıntı sağlar.

<sup>3</sup> "Madde" tanımı için lütfen bkz. KKDİK Madde 4(1).

<sup>4</sup> Hedef kimyasal, kaynak kimyasallardan bir özelliği veya zararlılığın tahmin edildiği veri boşlukları olan bir kimyasaldır. [8]

<sup>5</sup> Özellikleri bir tahmin oluşturmak için kullanılan bir kimyasal kaynak kimyasal olarak adlandırılabilir.

<sup>6</sup> Lütfen bazı maddelerin kayıt gerektirmeyebileceğini unutmayın. KKDİK Yönetmeliğinden muaf tutulan, kayıttan muaf tutulan veya halihazırda kayıtlı olduğu kabul edilen maddeler hakkında daha fazla bilgi için *Kayıt Rehberi* Bölüm 2.2.2, 2.2.3 ve 2.2.4 incelenmelidir.

Hem bir dizi nanoformun geliştirilmesi hem de çapraz okuma yaklaşımı, özelliklerinin tahmin edilmesi amacıyla kimyasalların "gruplandırılmasını" içerir. Bununla birlikte, aşağıda açıklandığı gibi, bu rehber nanoform setlerinin oluşturulmasıyla ilgilenmemektedir. Bu rehber yalnızca çapraz okumaya atıfta bulunmaktadır. Bu bağlamda, çapraz okuma, Ek 6 (hedef) kapsamında dosyada tanımlanan bir nanoform veya nanoform seti için, Ek 6 kapsamındaki dosyada yine tanımlanan maddenin başka bir formundan (kaynak) (yani nanoformlar, nanoform setleri veya nanoform olmayanlar) aynı sonlanma noktasına ilişkin verileri<sup>7</sup> kullanarak, sonlanma noktasına özel bilgileri tahmin etmek amaçlı bir tekniktir.

## 2. Amaç

Ek XI 1.5'e göre "*Nanoformlar* [veya nanoform setleri] *kayıt kapsamına girdiğinde*, [çapraz okuma yaklaşımı] *nanoformları* [veya nanoform setlerini] *ayrı ayrı ele alacaktır. Aynı maddenin farklı nanoformlarını* [veya nanoform setlerini] *gruplamak için moleküler yapısal benzerlikler tek başına bir gerekçe olarak görev alamaz*".

Bu rehber, şeffaf bir şekilde gösterilmesi ve raporlanması için her nanoformun (veya nanoform setinin) güvenli kullanımını gerektiren yasal yükümlülüklere uyma konusunda kayıt ettirenlere destek sağlamayı amaçlamaktadır. Bu rehber, özellikle, aynı maddenin başka bir formundaki verilerin kullanımıyla belirli nanoformlar (veya nanoform setleri) üzerindeki veri boşluklarının nasıl kapatılacağı konusunda tavsiyeler sunmaktadır.

Bir çapraz okuma yaklaşımı için başlangıç noktası, *Kayıt Rehberi ve Madde Tanımlama Rehberinin nanoformlar için uygulanabilir eki* izlenerek, KKDİK Ek 6 uyarınca dosyada raporlanan iyi karakterize edilmiş nanoformlardır (veya nanoform setleridir) [2].

Ayrıca, çapraz okuma yaklaşımı, bir nanoform (veya bir nanoform seti) için geçerli olan belirli bir sonlanma noktası bilgisi gerekliliğini karşılamayı amaçlamaktadır. Bunun aksine, KKDİK Ek 6 uyarınca kayıt dosyasında "nanoform seti" bir varlık olarak rapor edilmiştir. Bir nanoform seti, zararlılık değerlendirmesi, maruz kalma değerlendirmesi ve risk değerlendirmesinin tüm sonlanma noktaları için birlikte gerçekleştirilebileceği birden fazla nanoformu gruplamayı amaçlamaktadır.

Bu bağlamda, bir nanoform seti geliştirilmesinin, nanoformlar arasında çapraz okuma yaklaşımının geliştirilmesinin yerini alamayacağına dikkat edilmelidir. Kayıt ettiren, genel olarak tüm sonlanma noktalarına uygulanabilir bir gerekçeye dayanarak zararlılık değerlendirmesinin birden fazla nanoform için geçerli olduğunu gösterebilirse, bir nanoform seti oluşturabilir. Bununla birlikte, bir zararlılık değerlendirmesinin birden fazla nanoform için geçerli olduğunu göstermek için kayıt ettirenin farklı sonlanma noktaları için farklı hipotezlere ihtiyacı varsa, nanoformları ayrı ayrı rapor etmelidir. Ancak bu, kayıt ettirenin her nanoform için farklı veri setleri geliştirmesi gerektiği anlamına gelmez. Bunun yerine, mümkünse KKDİK Ek 11 Bölüm 1.5'e göre bu nanoformlar arasında çapraz okuma yoluyla bu ele alınabilir.

Mevcut rehberde "nanoformlar (setleri) arasındaki çalışmaların çapraz okumasına" yapılan atıf, belirli durumlarda uygun olduğu şekilde, nanoformlar, nanoform setleri ve nanoform olmayan madde formları arasındaki çalışmaların çapraz okuması olarak anlaşılmalıdır. Hem çapraz okuma yaklaşımının uygulanması hem de nanoform seti oluşturulması gruplandırmayı içerir; karışıklığı önlemek için gruplama terimi her iki bağlamda da kullanılmaz, ancak her iki terimin ayrılmaz bir parçası olarak düşünülmemelidir.

Bu belge, kayıt kapsamındaki çeşitli nanoformların (veya nanoform setlerinin) (eko)toksikolojik özelliklerini ve davranışını belirlemek için aynı çalışmanın veya aynı çalışma setinin ilgili olup olmadığına dair sistematik ve pragmatik bir yaklaşım sağlamayı amaçlamaktadır.

<sup>7</sup> Belgenin geri kalanında "form" teriminin şunları ifade etmek için kullanılacağı unutulmamalıdır: nanoform, nanoform seti veya nanoform olmayanlar

Belge aynı zamanda çapraz okuma gerekçesinin nasıl oluşturulacağı ve bunun kayıt yükümlülüklerinin yerine getirilmesi için nihai olarak sunulan kayıt dosyasında nasıl raporlanacağı konusunda rehberlik sağlar.

Yaklaşım, nanoformlar (veya nanoform setleri) için sonlanma noktasına özel bilgi gerekliliklerinin ilgili fizikokimyasal parametrelere (hangi sonlanma noktasının dikkate alındığına bağlı olarak değişebilir) ve uygun gerekçeye dayanan çapraz okuma olduğu aşamalı bir yaklaşımdan (bölüm 3) oluşur. Stratejinin doğru uygulanması aşağıdakilerin belirlenmesine izin verecektir:

- 1) Kayıt dosyasında bildirilen bir nanoform setine özel mevcut zararlılık verilerinin diğer nanoformlar (veya nanoform setleri) için de geçerli olup olmadığı (her sonlanma noktasına özel bilgi gerekliliği için)
- 2) Test stratejisi değerlendirilirken, mevcut nanoformlar (veya nanoform setleri) için mevcut tüm zararlılık verilerinin uygulanabilirliğini ve uygunluğunu sağlamak önemlidir.

Bu belgede Ek 1 içerisinde şunlar belirtilmektedir: "*Nano formların gruplandırılması ve çapraz okuması için dikkate alınması gereken kilit fizikokimyasal parametrelerin özeti ve bunların insan sağlığı ve çevresel sonlanma noktaları için ilgi düzeyi*". Bu, farklı fizikokimyasal parametreleri ve bunların, dikkate alınan sonlanma noktasına bağlı olarak zararlılık değerlendirmesi üzerindeki potansiyel etkilerini özetlemektedir.

### 3. Zararlılık ve davranış belirlenmesi amacıyla nanoformların çapraz okumasına yönelik aşamalı bir strateji

Bu bölüm, güvenli kullanımı sağlamak için aynı maddenin farklı formları arasında çapraz okuma için aşamalı bir yaklaşımın ana hatlarını çizmektedir. Kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin ana rehberde [1] ana hatları verilen genel ilkeler, birden fazla nanoform arasındaki çapraz okuma için de geçerlidir. Bu nedenle, bu belge nanoformlarla ilgili belirli hususlara odaklanır ve bu bağlamda ihtiyaç duyulan belirli hususları ele alan bilimdeki gelişmeleri içerir. Daha fazla bilgi için bu hususların özeti [3] incelenmelidir. ECETOC [4] tarafından geliştirilen yaklaşım, nanoformlar arasındaki çalışmaların çapraz okuması için de yararlı bilgiler sağlar. Diğer yayınlarda ilave bilgiler bulunabilir (örn. bkz. [5], [6] ve [7]).

Çok sayıda nanoform ve nanoform seti mevcut olabilir. Sonuç olarak, ele alınacak sonlanma noktalarına ve mevcut bilgilere dayalı olarak aralarında çapraz okumanın birçok farklı yolu olabilir. Bu nedenle, aşağıda ana hatları verilen ilkelerin esnekliğe izin vermesi ve böylece çeşitli yaklaşımları barındırması amaçlanmıştır.

Bu bölüm, fizikokimyasal özellikler, toksikokinetik ve (eko)toksikolojik davranış hakkındaki bilgilerin, birden fazla nanoform (seti) için geçerli olan çapraz okuma yaklaşımı için bilimsel bir gerekçe sağlamak üzere uzman değerlendirmesiyle nasıl kullanılabileceğine ilişkin genel ilkeleri özetlemektedir. Ayrıca, çapraz okuma yaklaşımının nasıl belgeleneceği ve gerekçelendirileceği konusunda rehberlik sağlar. Fizikokimyasal özellikler, toksikokinetik davranış ve harekette ve farklı nanoformlar arasındaki (eko)toksikolojik davranışta, esas olarak fizikokimyasal parametreler ve/veya *in vitro* tarama yöntemleri kullanarak benzerlikler arama yoluyla, maddenin farklı formları arasında benzer zararlılık özellikleri varsayımını destekleyen kapsamlı bir bilimsel açıklama geliştirmek mümkün olabilir. Bu bilimsel dayanak oluşturulduktan ve açıkça gerekçelendirildikten sonra, mevcut zararlılık bilgileri (belirli sonlanma noktası için), tanımlanan grup içindeki tüm nanoformlar (setleri) için çapraz okumadan okunabilir. Her durumda, zararlılık bilgileri, zararlılığın tanımlanması, sınıflandırma ve etiketleme (S&E) ve/veya risk değerlendirmesi amaçları için yeterince kapsamlı olmalıdır.

Herhangi bir kimyasal için ise, zararlılık tanımlama amacıyla nanoformlar (setleri) için çapraz okuma sonlanma noktasına özeldir. Özel bir çapraz okuma yaklaşımı sonlanma noktasına göre gerekçelendirilmelidir, ancak aynı gerekçelendirme birkaç sonlanma noktası için geçerli olabilir.



Bir veya birkaç sonlanma noktası için çapraz okuma stratejisinin geliştirilip geliştirilmeyeceğine ilişkin karar, yaklaşımın hangi bilimsel açıklamaya dayandığına bağlı olacaktır. Çapraz okuma, belirli bir sonlanma noktası için bir veri boşluğunu doldurmak amacıyla bir uyarılma olarak kullanılabilir. Herhangi bir kimyasal için ise, çapraz okunan bir çalışmanın sonucu (örneğin, mutajenik olma potansiyeli) değildir, belirli bir test yöntemine<sup>8</sup> veya başka bir şekilde uluslararası kabul görmüş protokole göre yürütülen bir çalışmanın sonuçları (örn. *in vitro* memeli gen mutasyon testinin sonuçları), tanımlanmış grup içindeki her bir "hedef" nanoform için 'kaynak'tan çapraz okunur (daha fazla bilgi için lütfen bkz. ana rehber).

### **3.1 Nanoformların (setlerinin) gruplaması için aşamalı strateji**

Çapraz okuma yaklaşımı, belirli bir kaynak malzeme ile elde edilen test sonuçlarının diğer nanoformların (setlerinin) (hedeflerin) özelliklerini tahmin etmek için kullanılmasını sağlar. Bu yaklaşımın geçerli olabilmesi için, hedef nanoform (setleri) seçiminin ve kaynak malzeme ile hedef nanoformlar (setleri) arasındaki çalışmaların çapraz okumasının kapsamlı ve gerekçelendirilmiş olduğunu göstermek gerekir<sup>9</sup>. Veri toplamayı ve çapraz okuma yaklaşımının sistematik ve şeffaf belgelendirilmesini kolaylaştırmak için, yaklaşımın kapsaması amaçlanan her sonlanma noktası için aşamalı bir yaklaşımın (bkz. Şekil 1) izlenmesi önerilir. Aşamalı yaklaşım esas olarak kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin OECD rehberinde belirtilen adımları takip eder [8]. Bilgiyi elde etmenin alternatif yolları olabilir, bu nedenle aşamalı yaklaşım bir öneri olarak düşünülmelidir.

Önerilen yaklaşım (nanoformların ve nanoform setlerinin tanımlanması dışında) sonlanma noktasına özgüdür. Bununla birlikte, pratikte, hangi sonlanma noktalarının kapsandığı ve çapraz okuma hipotezinin neden hepsine uygulanabilir olduğu şeffaf bir şekilde açıklandığı sürece, aynı anda birkaç sonlanma noktası ele alınabilir.

Bu yaklaşım, mevcut verilerin kendi özel nanoformları (setleri) için geçerli olup olmadığını belirlemek isteyen mevcut bir kayda katılan kayıt ettirenler tarafından da kullanılabilir.

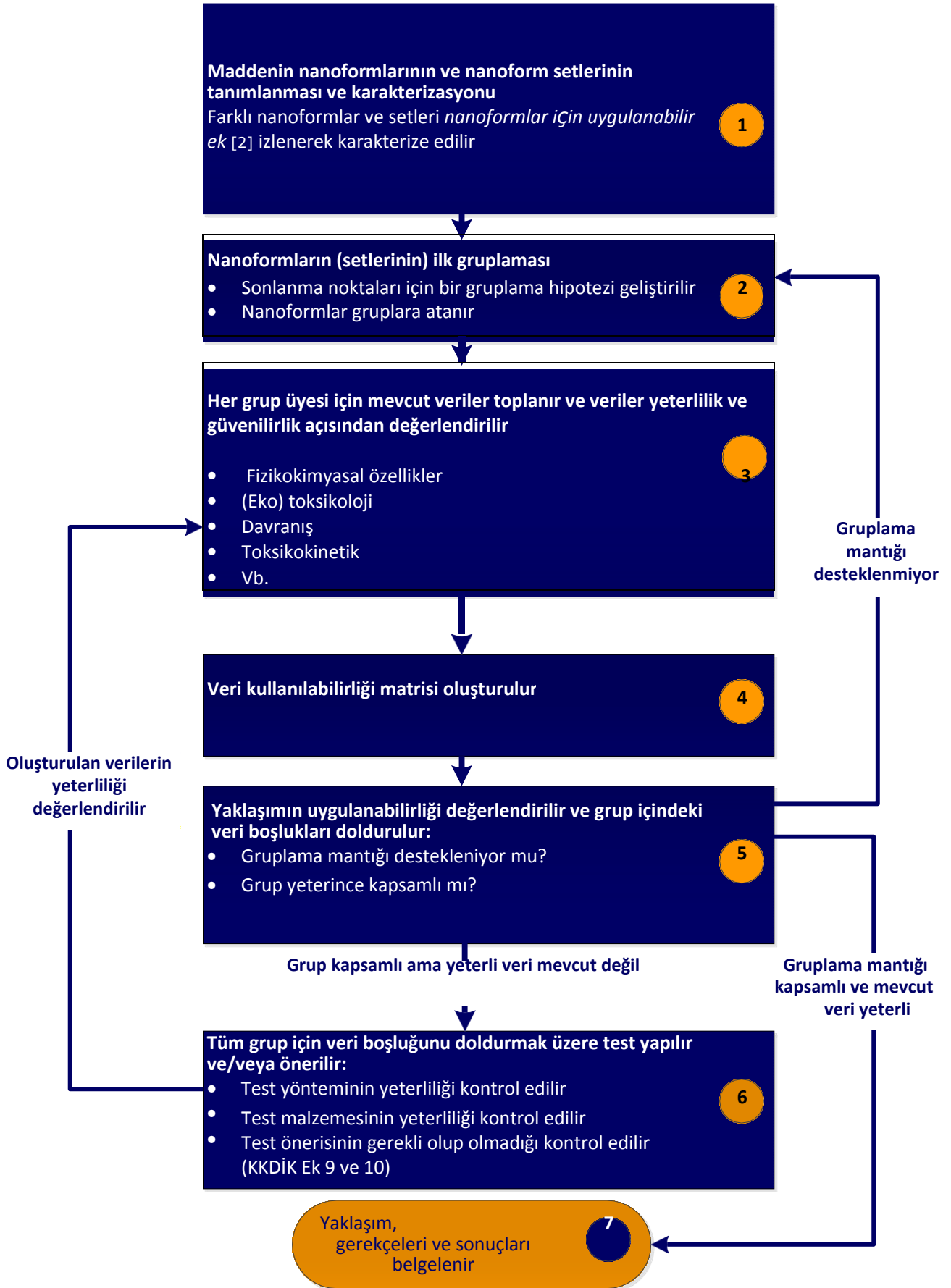
---

<sup>8</sup> Tüm test yöntemlerinin nanomalzemeleri kapsayacak şekilde uyarlanmadığını unutulmamalıdır; Nanomalzemelerin KKDİK bağlamında test edilmesine ilişkin tavsiyeler için lütfen bkz. *BG ve KGD Rehberi Bölüm R.7a, R.7b ve R.7c için nanomalzeme Ekleri*.

<sup>9</sup> Ana rehberde Bölüm R.6.2, gruplamanın kapsamlılığının nasıl değerlendirileceğine dair daha fazla genel tavsiye sağlar;

Mevcut bilgilerin toplanması ve değerlendirilmesi ile bilgi gerekliliklerinin uyarlanması gibi bilgi gerekliliklerini karşılamaya yönelik genel bilgiler, BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.2 ile R.5 içerisinde mevcuttur.

Şekil 1: Aşamalı yaklaşım şeması<sup>10</sup>



### **3.2 Adım 1: Maddenin nanoformlarının ve nanoform setlerinin tanımlanması ve karakterizasyonu**

Bu rehberde daha önce bahsedildiği gibi, bir madde boyut, şekil veya yüzey uygulaması gibi fizikokimyasal parametrelerdeki farklılıklar nedeniyle farklı nanoformlar (setleri) içerebilir. Prensipinde, her nanoformun zararlılıkları, ister tek başına ister bir set içinde olsun, kayıt dosyasında özel olarak ele alınmalıdır. Bir maddenin her bir nanoformunun (setinin) doğru ve kesin karakterizasyonu, uygun bir zararlılık değerlendirmesi sağlamak ve böylece güvenli kullanımı göstermek için bir ön şarttır. Bir maddenin nanoformlarının uygun şekilde tanımlanması, ilk adım olarak, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Bölüm 2'de listelenen "madde kimliği" parametrelerinin değerlendirilmesini içerir. Bu, safsızlıklar veya katkı maddeleri dahil, maddenin bileşimi hakkındaki bilgileri içerir.

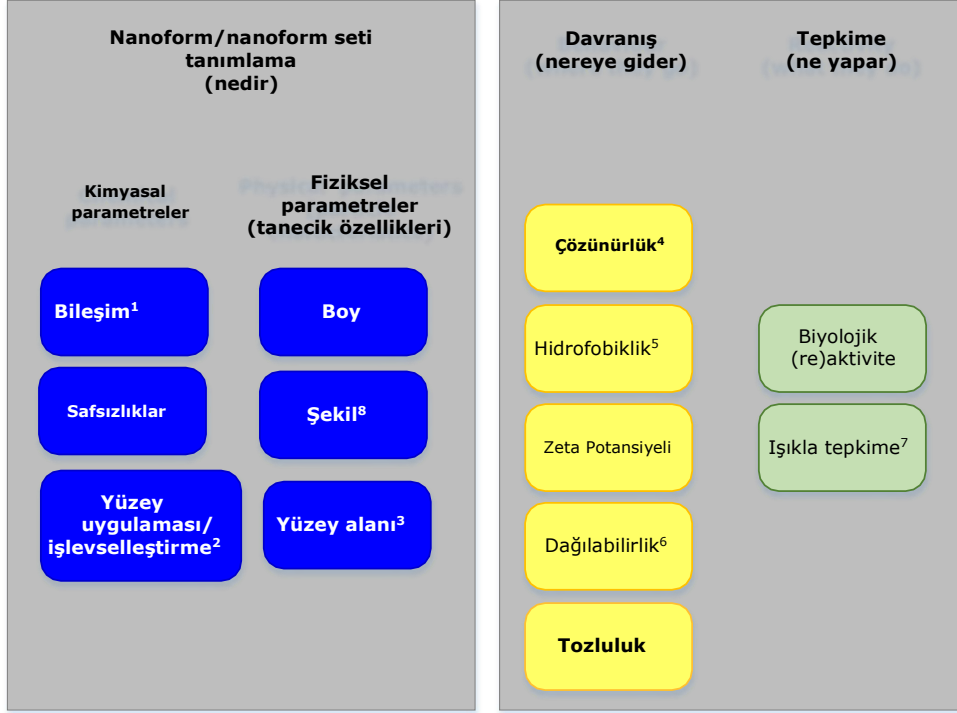
Kimyasal maddelerin tanımlanması için gerekli bileşim ve safsızlıklar hakkındaki bilgilere ilave olarak, nanoformlar (setleri) için, KKDİK Ek 6, Bölüm 2.4.2 ila 2.4.5'teki parametrelerin tanımlanmasını ve karakterizasyonunu gerektirir. Bunlar boyut dağılımı, şekil ve kristallik, yüzey uygulaması ve işlevselleştirme ve nanoformların (setlerinin) özel yüzey alanıdır<sup>11</sup> (Şekil 2'deki mavi kutularda) Bu parametreler maruz kalma, toksikokinetik, davranış ve/veya (eko) toksikolojik hareketi ve dolayısıyla nanoformların oluşturduğu olası riski etkileyebilir. Bunlar, yukarıda Şekil 1'de önerilen "nanoformların gruplaması için aşamalı stratejinin" uygulanması amacıyla çapraz okuma (mevcut bilgiye dayalı) için dikkate alınması gereken temel bilgileri oluşturur. Tüm bu özellikler, nanoformlar ve nanoform setleri için madde tanımlama bilgisinin bir parçası olarak gereklidir.

Şekil 2, nanoformlar (setleri) arasında çalışmaların çapraz okunmasına yardımcı olacak yararlı bilgiler sağlayabilen parametreleri tanımlar. Bu, KKDİK Ek 6 ila Ek 10 da belirtilen standart bilgi gereklilikleri kapsamında olmayan bazı özellikleri ve uygun test yöntemlerinin geliştirilmesi ve doğrulanması gereken özellikleri (nanoformlar için REACH bilgi gereklilikleri olan özellikler kalın yazı tipiyle belirtilmiştir) içerir. Potansiyel olarak ilgili tüm parametreler için doğrulanmış yöntemlerin eksikliği göz önünde bulundurulduğunda, kayıt ettirenlerin bu yöntemlerdeki belirsizliklerin ve bunun sonucunda ortaya çıkan sonuçların tartışmasını gerekçenin bir parçası olarak gruplama yaklaşımlarına dahil edilmesi önemlidir.

<sup>10</sup> Tüm adımlar, kesinlikle çapraz okuma yaklaşımına ait olmayan, ancak KKDİK bağlamında bu yaklaşımı kullanırken çoğu durumda başlangıç noktası olacak olan 1. adım dışında sonlanma noktasına özeldir.

<sup>11</sup> Nanoformlar ve nanoform setleri için özel karakterizasyon gereklilikleri için lütfen bkz. Kayıt Rehberi ve Madde tanımlama Rehberi için geçerli nanoformlar için uygulanabilir Ek [2].

**Şekil 2: Nanoformların ve nanoform setlerinin<sup>12</sup> çapraz okumasıyla ilgili anahtar fizikokimyasal parametreler (nanoformlar için KKDİK bilgi gereklilikleri olan özellikler kalın yazı tipiyle verilmiştir).**



1. Dosyada bildirilen şekliyle bileşim, KKDİK ve SEA kapsamında *maddelerin tanımlanması ve adlandırılmasına ilişkin ÇŞB Rehberi*'nde [9] açıklandığı gibi kimyasal bileşimden oluşur
2. Yüzey uygulaması/işlevselleştirme, örneğin taneciklere uygulanan kimyasal kaplama ve yüzey işlemi/işlemleri ile ilgili bilgileri içerir.
3. Şekil şunları içerir: Şekil, en-boy oranı ve diğer morfolojik karakterizasyon: kristallik, örn. uygunsu kabuk benzeri yapılar veya içi boş yapılar dahil birleşme yapısı hakkında bilgiler.
4. Yüzey alanı nanoform tanımlama parametrelerinden biridir ve aynı zamanda EC Tanımına [2] (yüzey alanı gözenekliliği içerir) uygunluğu göstermek için kullanılabilir.
5. Çözünürlük, ilgili ortamlarda çözünme hızını ve denge çözünürlüğünü içerir.
6. Nanoformlar için hidrofobiklik, örneğin van der Waals enerjisi ve yüzey yüküne dayanır.
7. Dağılılabirlik, bir süspansiyon ortamındaki bağıl tanecik sayısı veya kütesini ifade eder ve bu nedenle ortama dayalıdır. İlgili ortamlarda kararlılık [7], agregasyon ve aglomerasyon ile ilgilidir ve örneğin van der Waals enerjisi, Hamaker sabiti, zeta potansiyeline dayanır.
8. Işıklı tepkime, maddelerin ışık nedeniyle bir tepkimeye katılmasını veya başlatmasını sağlayan aktiviteyi ifade eder. "Işık", aktiviteye neden olan enerji kaynağını gösterir (ışık). Molekülün kendisi bir radikal haline gelirse, kolayca tepkimeye girebilir ve dönüşebilir. Oksijen radikalleri indüklenirse (yani reaktif oksijen türleri veya ROS), diğer moleküller ile kolayca reaksiyona girebilirler, bu da bazı durumlarda ciddi etkilere yol açabilir (örneğin, DNA ile reaksiyon genotoksositeye yol açar).

Boyut, şekil ve kristallik, yüzey işlevselliği ve uygulaması ile özel yüzey alanı, nanoformların zararlı özellikleri üzerinde bir etkiye sahip olabilir.

Bu parametreler, bir maddenin nanoformlarının ve nanoform setlerinin karakterizasyonu için dikkate alınmalıdır ve KKDİK Ek 6 uyarınca gereklidir.

Kimyasal parametreler (örn. farklı safsızlıklar) ve fiziksel parametreler ("Ne oldukları") hakkındaki bilgiler de, aynı maddenin nanoformları için veri boşluklarının doldurulma olasılığının değerlendirilmesi ile gruplama için de kullanılabilir.

<sup>12</sup> [7] kaynağından uyarlanmıştır

Nanoformların davranışı ve reaktivitesi ile ilgili parametreler (sırasıyla Şekil 2'de sarı ve yeşil kutularda) dikkate alınmalıdır, ancak tüm değerlendirmeler için geçerli olmayabilir. Bu nedenle, hipotez geliştirilirken dikkate alınması gereken bu parametreler bir sonraki adımda açıklanmaktadır. Bu parametrelerin nanoformların davranışı üzerindeki etkisi Bölüm 3.3 ve Ek 1'de açıklanmaktadır.

### **3.3 Adım 2: Nanoformların (setlerinin) ilk gruplaması - Çapraz okuma hipotezi geliştirilmesi, bir grubun sınırlarının ve üyelerinin tanımlanması**

Nanoformlar (setleri) arasında çapraz okuma geliştirmek için ikinci adım, ilgili sonlanma noktalarını tanımlar ve kapsamlı bir gerekçelendirme için hipotez ve bilimsel dayanağı geliştirir. Başlangıç noktasının 1. adımdaki parametreleri içermesi gerektiği açıktır. Bununla birlikte, KKDİK bilgi gerekliliklerini karşılamak amacıyla bir çapraz okuma hipotezi geliştirirken, nanoformların zararlılık özelliklerini muhtemelen etkileyebilecek ilave parametrelerin (1. adımda tartışılan ve Şekil 2'deki mavi kutularda sunulanlar dışında) çapraz okuma hipotezini doğrulamak için de dikkate alınması gerekebilir.

Nanoformların davranışı ve reaktivitesiyle ilgili aşağıdaki parametreler (sırasıyla Şekil 2'de sarı ve yeşil kutularda), hipotezi doğrulamak için sıklıkla ilgili olan parametrelerdir ve bu nedenle ilgili olduğunda dikkate alınmalıdır:

- Davranış ("nereye gider")
  - Çözünürlük (çözünme hızı dahil)
  - Hidrofobiklik
  - Zeta potansiyeli
  - Dağılılabirlik
  - Tozluuk
- Tepkime ("ne yapar")
  - Biyolojik (re)aktivite (örneğin redoks potansiyeli, radikal oluşumu)
  - Işıkla tepkime

Nanoformları (setlerini) karakterize ederken görülen fiziksel parametrelerdeki farklılıkların, çapraz okuma uygulama olasılığını kendi başına dışlamadığı unutulmamalıdır. Aslında, davranışla ilgili parametrelerdeki (örneğin çözünürlük) veya reaktivite ile ilgili benzerliklerin, çapraz okuma gerekçelendirmesi oluştururken dikkate alınması daha önemli olabilir.

Ek 1, özellikle zararlılık değerlendirmesi üzerindeki bu parametrelerin potansiyel etkisine odaklanarak, Şekil 2'de açıklanan her parametreye ilişkin daha fazla bilgi sağlar.

Ek 1'de listelenen nanoform karakterizasyonu için kilit fizikokimyasal parametreler, nanoformlar (setleri) arasında çapraz okumaya yardımcı olabilecek yararlı bilgiler sağlayabilir. Bununla birlikte, yukarıda listelenen parametrelerden bazıları her bir değerlendirme için her zaman ilgili olmayabilir (bu, maddeye ve farklı formlarına, sonlanma noktasına ve dikkate alınan organizmaya veya ortama bağlı olacaktır). Örneğin, tozlanma yalnızca tozlar için geçerli olabilir. Çapraz okuma hipotezine dayalı olarak, ilave parametrelerin dikkate alınması faydalı olabilir (Ek 1'de yer almamaktadır). Bu, özel nanomalzeme türüne ve dikkate alınan sonlanma noktasına dayalı olacaktır, örneğin lif benzeri malzemelere ilişkin soluma toksisitesi için malzemenin esnemezliği ve sertliği zararlılık ve güvenlik değerlendirmesinde [10] önemli bir rol oynayabilir ve bu nedenle çapraz okuma stratejisinin oluşturulması ve gerekçelendirilmesi için temel parametreler olarak düşünülmelidir. İlave fizikokimyasal parametreler hakkında kapsamlı bir sonuç için yeterli bilgi yoksa, kaynak ve hedef formlar arasındaki benzerliği yeterince göstermek için ilave verilere ihtiyaç duyulabilir.

Aynı maddenin nanoformları (setleri) arasında çapraz okuma çalışmaları yapmanın farklı yolları vardır. Çapraz okuma hipotezini doğrulamak ve hipotezin çapraz okunması amaçlanan sonlanma noktasına göre bir tahmin değerine sahip olduğunu tespit etmek için farklı ilave fizikokimyasal parametreler ve/veya tarama yöntemlerine ihtiyaç duyulabilir. Nanoformların/setlerin gruplamasının erken bir aşamasında maddenin nanoform olmayan formlarına ilişkin mevcut zararlılık bilgisinin dikkate alınması da önemlidir. Bu, bir veya daha fazla sonlanma noktası için tahmin değeri olan bir grup nanoform (setleri) oluşturmak için hangi ek parametrelere ihtiyaç duyulabileceğine dair fikir verecektir.

Çapraz okuma için belirli bir nanoform (setleri) gruplamasını bilimsel olarak gerekçelendirmenin birkaç yolu olduğu ve seçimin büyük ölçüde duruma bağlı olacağı vurgulanmalıdır. Bilimsel gerekçelendirme, bazı durumlarda geniş olabilir ve örneğin, bir gruptaki tüm nanoformların (setlerinin) ortak bir özelliğine atıfta bulunabilir, örneğin tüm bu nanoformlar (setleri) aynı yüzey uygulamasına sahip olabilir. Diğer durumlarda, çapraz okuma gerekçelendirme daha karmaşık olabilir, örneğin ortak bir yüzey uygulamasına ve bir veya daha fazla ek ortak özelliğe dayalı olabilir. Çözünme hızı, yüzey yükü, oksidatif stresin indüksiyonu gibi diğer parametrelerin araştırılmasına ihtiyaç olabilir. Hipotez ve çapraz okuma gerekçelendirme her durumda sonlanma noktasına özgüdür, ancak aynı çapraz okuma hipotezi birden fazla sonlanma noktası için geçerli olabilir. Kapsamlı bir çapraz okuma gerekçesinin dikkatlice tanımlanması ve bilimsel olarak gerekçelendirilmesi gerekir. Gerekçelendirme, zararlılık karakterizasyonu tüm nanoformlar (setleri) için geçerli olacak şekilde, nanoformlar/setlerin grubu içinde çapraz okumanın mümkün olduğunu gösteren destekleyici bilgileri içermelidir.

Gruplama hipotezlerinin bazı örnekleri<sup>13</sup> bunları izler; Örnek 1 ve 2 incelenebilir:

---

<sup>13</sup> Örnekler, farklı çapraz okuma stratejilerinin farklı durumlara uygulanabileceğini göstermeyi amaçlamaktadır. Örnekler, bir çapraz okumayı gerekçelendirirken dikkate alınacak eksiksiz bir koşullar setini açıklamaz. Gerekçelendirme için yapılan değerlendirmelerin doğrulanması gerektiğine dikkat edilmelidir (örneğin bir koşul, hem nanoform olmayan formun hem de nanoformun benzer çözünürlüğe sahip olmasıysa, bunun doğrulanması gerekir).

### Örnek 1: sistemik toksisite için çözünürlüğe dayalı hipotez

Mevcut bilgiler:

- Maddenin hedef nanoformları, yüksek bir çözünme hızına ve maddenin kaynak nanoform olmayan formlarına benzer bir yüksek suda çözünürlüğe sahiptir; bu nedenle, bu özel durumda tanecik etkisinin hariç tutulabileceği varsayılır;
- Nanoformlar (seti) yüzey uygulaması içermez;
- Sistemik toksisite, toksik iyonların salınmasıyla sağlanır.

Hipotez dayanağı:

Yüksek çözünme hızı ve benzer bir suda çözünürlük nedeniyle, kaynak nanoform olmayan form ve hedef nanoform/setlerin benzer toksikokinetik davranışa ve iyon kaynaklı toksisite hipotezine dayalı olarak aynı toksikolojik etkilere sahip olduğu iddia edilebilir. Bu nedenle, maddenin hedef nanoformları (seti) için sistemik toksisite, maddenin kaynak nanoform olmayan formu ile yürütülen mevcut çalışmalardan tahmin edilebilir.

Hipotezi desteklemek için gereken daha fazla bilgi:

Böyle bir iddiayı desteklemek için, hem kaynak nanoform olmayan hem de hedef nanoformların benzer toksikokinetik davranışını (tanecik boyutundan bağımsız) gösteren ek bilgilere ihtiyaç vardır (örn. farklı fizyolojik ortamlarda emilim çalışmaları ve/veya çözünme hızı çalışmaları).

### Örnek 2: Soluma etkileri için yüksek en boy oranına dayalı hipotez

Mevcut bilgiler:

- Madde suda ve biyolojik ortamda çözünmez;
- Hem kaynağın hem de hedefin nanoformlarının (setinin) şekli, yüksek bir en-boy oranına sahip şekilde lif benzeridir;

Hipotez dayanağı:

Her iki nanoformun (setinin) biyo-kalıcı olduğu ve lif benzeri yapının soluma yoluyla benzer olumsuz etkilere neden olacağı varsayılmaktadır.

Hipotezi desteklemek için gereken daha fazla bilgi:

Bu durumda, kaynak nanoform ile ilişkili zararlılığın "çapraz okuması" gerekçelendirilebilir ve benzer bir en-boy oranı suda ve biyolojik ortamda çözünmezlikle birlikte gösterilebilirse daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaz. Ayrıca, malzemenin esnemezliği ve sertliği zararlılık ve güvenlik değerlendirmesinde önemli bir rol oynayabilir ve dikkate alınması gerekebilir

Çalışmaların, yalnızca fizikokimyasal parametrelerdeki ("ne oldukları"), reaktivitelerindeki ("ne yaptıkları") ve davranışlarındaki ("nereye gittikleri") benzerliklere dayalı olarak nanoformlar (setleri) arasında çapraz okunması durumunda (Şekil 2), çapraz okuma hipotezinin geçerli olduğu nanoformlar/setlerinin grubunun sınırlarını dikkatlice araştırmak esastır.

Bu, yalnızca fizikokimyasal özelliklere dayanan bir gerekçelendirmenin nanoformlardan herhangi birinin (setlerinin) potansiyel zararlılığını olduğundan az tahmin etmediğinden emin olmak için gruptaki nanoformların/setlerin uygun bir karakterizasyonunu içermelidir.

Her durumda, çapraz okuma hipotezi aşağıdakileri ele almalıdır:

- Fizikokimyasal özelliklerde nanoformlar (setleri) arasındaki benzerlikler/farklılıklar, belirli bir (eko)toksikolojik davranışın tahmin edilmesine neden izin veriyor?
- Belirli bir sonlanma noktası için grup üyelerine ilişkin güvenilir tahminlerin yapılabileceği kapsamlı değerler açısından uygulanabilirlik aralıklarını belirleyen bir dizi dahil etme ve/veya hariç tutma kuralı.

Gerekçe ayrıca hipotezi desteklemek veya sorgulamak için gereken bilgileri açıklamalıdır. Hipotez oluşturmanın yinelemeli bir süreç olarak görülmesi gerektiğine dikkat etmek önemlidir (bkz. Şekil 1).

Çoğu durumda, dahil etme/hariç tutma kuralları katıdır ve nanoformlar/nanoform setleri grubu, başlangıçta oluşturulan grubun parçası olan nanoformlar/nanoform setleriyle sınırlıdır. Mevcut bir nanoform/nanoform setleri grubuna yeni üyelerin eklenmesi, oluşturulmuş grupta gerekçesinin dikkate alınmasını gerektirecektir. Bu, yeni nanoform/nanoform setlerinin mevcut çapraz okuma yaklaşımına uyup uymadığına dair bir değerlendirmeyi ve durum böyle değilse, oluşturulmuş yaklaşımın yeniden değerlendirilmesini içerebilir. Maddenin nanoform olmayan formlarının da, nanoform/nanoform setlerinin gruplamasının dayanağını oluşturan fizikokimyasal özelliklerde benzerlikler göstermeleri halinde çapraz okuma yaklaşımına dahil edilebileceği vurgulanmalıdır.

Aynı maddenin nanoformları (setleri) arasındaki çapraz okuma çalışmalarının dayanağını belirlerken dikkate alınması gereken hususların örnekleri şunlardır:

1. Maddenin nanoform olmayan bir formu var mı? Nanoform olmayan formu belirli bir zararlılık ile ilişkili mi?
2. Boyut ve/veya yüzey uygulamalarındaki farklılıklar değerlendirmeyi nasıl etkiler?
3. Değerlendirme, suda çözünürlük ve/veya çözünme hızındaki değişikliklerden nasıl etkilenir?
4. Nanoformların bileşimindeki ve/veya safsızlıklarındaki/katkı maddelerindeki değişiklikler değerlendirmeyi nasıl etkiler?
5. Nanoformların yaşlanmasına ilişkin mevcut bilgiler (eko)toksikolojik özelliklerin ve çevresel davranışın değerlendirmesini nasıl etkiler? [11]
6. Bir nanoformun fizikokimyasal özellikleri, belirli bir (eko)toksikolojik test ortamındaki davranışı nasıl etkiler?

Farklı nanoformlar arasındaki fizikokimyasal parametrelerdeki farklılıklar/benzerlikler, çeşitli katmanlarda/ortamlardaki davranışları açısından değerlendirilmelidir. Ek 1 ve Şekil 2'de açıklanan fizikokimyasal parametreler yalnızca örnektir. Bununla birlikte, nanoformun türüne bağlı olarak, maddenin davranışını belirlemede faydalı olabilecek başka fizikokimyasal özellikler olabilir. Bu tür özellikler dikkate alınırsa, bunlar raporlanmalı (değerlerini belirlemek için kullanılan yöntemler dahil) ve çapraz okuma gerekçesinde iyi açıklanmalıdır.

Bazı durumlarda, fizikokimyasal benzerlik (örneğin, Şekil 2'de açıklanan parametreleri dikkate alarak) çapraz okuma yaklaşımını gerekçelendirmek için yeterli olmayacaktır. İlave olarak, örneğin toksikokinetik hakkında bilginin gerekli olup olmadığına (örn. ek tarama yöntemlerinin kullanılmasıyla elde edilen) dikkat edilmelidir. Toksikokinetik davranışla ilgili bilgiler, bir çapraz okuma gerekçelendirmesi oluştururken normalde yararlıdır. Bir nanoformun özel toksikokinetik davranışı, nanoformun birden fazla farklı fizikokimyasal parametresine (örn. bileşim, boyut, şekil, aglomerasyon/agregasyon durumu, yüzey özellikleri (yüzey yükü dahil) ve çözünme) dayanır.



Farklı nanoformların vücutta veya çevrede nasıl davranmasının beklenebileceğine ilişkin nitel karşılaştırmalar, çapraz okumayı gerektiren için yararlı destekleyici savunmalar sağlayabilir. Bu nitel karşılaştırmaların bilimsel dayanağı ve bunlarla ilişkili belirsizlikler gerekçede açıkça açıklanmalıdır.

Maruz kalmanın (ana) yolu/yolları hakkında bilgi (solunum, deri, oral), bir nanoformun toksikokinetik profilini anlamının ilk adımınıdır. Örneğin, solunum için, akciğerlerde birikim potansiyeli dikkate alınmalıdır. Bir nanoformun toksikokinetik profili, emilim ve ardından hedef organların/dokuların zaman içinde maruz kalması hakkında bilgi sağlar. Toksikokinetik, geleneksel anlamda, emilim, dağılım, metabolizma ve boşaltımı (ADME) kapsar. Toksikokinetik, bu farklı ADME süreçleri sırasında ortaya çıkabilecek nanoformun özelliklerindeki değişiklikler nedeniyle daha da karmaşık hale gelebilir. Özel toksikokinetik profil, nanoformun birden fazla farklı fizikokimyasal parametresine (örn. bileşim, boyut, şekil, aglomerasyon/agregasyon durumu, yüzey özellikleri (yüzey yükü dahil), hidrofobiklik veya çözünme) dayalı olabilir. Bir (insan) organizmadaki toksikokinetik profil ayrıca nanoformun içine alındığı biyolojik sıvının (örn. serum, tükürük, kan) sıcaklığına, pH ve iyonik kuvvetine bağlıdır. Bu nedenle, 'sisteme bağlı özellikler' (yani biyolojik ortamda çözünme hızı, yüzey reaktivitesi ve dağılılabirlik), hedef bölgedeki hücrelerin nano-biyo arayüzündeki<sup>14</sup> mevcut biyomoleküller ve etkileşimler, dağılım olasılığı ve birikme ve boşaltım potansiyeli hakkında ilgili bilgiler sağlayabilir. Zaman içinde iç maruz kalma ve eliminasyon düzeyine ilişkin veriler de dahil olmak üzere, (mevcut) *in vivo* çalışmalardan elde edilen bilgiler, toksikokinetik davranış hakkında daha fazla ilgili bilgi sağlar.

Tarama yöntemleri (*in vitro*), farklı nanoformların davranışları arasındaki benzerliklerin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir (örn. bir giriş noktası boyunca aktarım (deri, sindirim sistemi, akciğer epiteli vb.), akciğerde birikim, doku dağılımı veya nanoformların klirensi/kalıcılığı). Bu tür bilgiler, belirli fizikokimyasal bilgiler (örn., suda çözünürlük), biyofiziksel testler (örn. çözünme hızı ve fizyolojik olarak ilgili ortamın bileşenleriyle etkileşim), *in silico* yöntemler (örn. akciğer birikimi için çok yönlü tanecik dozimetresi modellemesi) ve *in vitro* testler (örn. cilt geçirgenliği için) birleşimi ile elde edilebilir. Ayrıca, *in silico* tahmin araçlarında girdi olarak kullanılmak üzere seçilen nanoformlar için ek fizikokimyasal parametrelerin elde edilmesi gerekli olabilir; örneğin, havadaki bir malzemenin agregasyon/aglomerasyon durumu ve aerodinamik çapı hakkındaki bilgiler, akciğer birikimini tahmin etmek amacıyla modelleme için gereklidir. Yöntemlerin çoğu henüz doğrulanmamıştır veya şu anda doğrulama sürecinden geçmektedir. Yöntemler, kayıt ettirenin takdirine bağlı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte, metodoloji seçimi gerektendirilmelidir; bu, kullanılan çeşitli yöntemlerin kısıtlamaları ve sınırlamaları ile ilgili hususları içerir.

Çevrede belirli bir nanoformun davranışının yüzey kimyasına bağlı olduğunu ve örneğin aşağıdaki nedenlerden dolayı yaşam döngüsü boyunca değişime açık olduğunu belirtmek önemlidir:

- diğer taneciklere ve/veya bileşenlere maruz kalma (örneğin yaşlanma süreci, (hetero)aglomerasyon, korona oluşumu),
- çevresel ortam ile etkileşimler (örn. çözünme, korona oluşumu, toplanma veya ayrışma, kimyasal reaksiyonlar, dönüşüm) ve
- bozunma/dönüşüm (örn. kaplamanın kaybı/değişimi, yani yüzey kimyası).

Bu nedenle, nanoformun (setlerinin) fizikokimyasal parametrelerinden ayrı olarak, test katmanının/ortamının özellikleri de dikkate alınmalıdır. Nanoformların davranışını etkileyen, sıcaklık, pH, iyonik kuvvet (özellikle iki değerlikli iyonlar) ve iletkenlik, doğal organik maddenin varlığı ve türü, dağıtıcılar ve proteinlerden oluşan çevresel parametrelerinin rolü çapraz okumanın gerekçesinde düşünülebilir.

<sup>14</sup> "Nano-biyo" arayüz, nanomalzeme yüzeyleri ve biyolojik bileşenlerin (örneğin proteinler, zarlar, fosfolipitler, endositik veziküller, organeller, DNA ve biyolojik sıvılar) yüzeyleri arasındaki dinamik fizikokimyasal etkileşimleri, kinetikleri ve termodinamik değişimleri içerir [31].

Çevresel parametrelerin listesi kapsamlı değildir ve ilgili olduğunda diğer parametrelerin dikkate alınması gerekebilir.

Çevrede, taşıma davranışını etkileyen süreçler arasında asılı maddeye veya toprak parçacıklarına tutunma ve yüzeyden sıyrılma süreçleri, (hetero) agregasyon ve (hetero) aglomerasyon süreçleri, sedimentasyon ve yeniden süspansiyon, çözünme, dağılım, (biyo)bozunma (örn. kaplamaların/yüzey kimyası, oksitleme, indirgeme, ışıkla bozunma), nano-biyo arayüzde organik biyomoleküllerle etkileşim, kirleticilerle etkileşim, canlı organizmalarla etkileşim ve besin zinciri yoluyla aktarım bulunur. Nano-biyo arayüzdeki etkileşimler, söz konusu organizma tarafından atılan/salgılanan biyomoleküllerin (proteinler, sızıntı sıvıları (eksüdatlar), vb.) türünden açıkça etkilenir. Bu süreçler nanoform olmayan formlar için de ilgilidir, ancak bir nanoformun ekotoksikolojik ve/veya çevresel davranışı hem (yüzey) kimyasına hem de tanecik özelliklerine bağlı olduğundan, bu süreçlerin etkisi nanoformlar için özellikle önemli olabilir ([7], [12]). Bu nedenle, çapraz okuma değerlendirmesindeki belirli süreçlerin ilgi düzeyi her zaman hem nanotanecığın yüzey uygulaması/işlevselleştirilmesi hem de alıcı ortamın özellikleri ile bağlantılıdır. Tablo 1, bazı seçilmiş çevresel katmana özel süreçlerin/parametrelerin ilgi düzeyini açıklamaktadır ([12] doğrultusunda). Tanımlanan süreçler/parametreler münhasır değildir ve çapraz okuma değerlendirmesinin ilgi düzeyi büyük ölçüde duruma özeldir. Diğer çevresel sonlanma noktasına özel hususlar, *KG ve BGD Rehberinin R.7a, R.7b ve R.7c Bölümleri için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Eklerde* açıklanmıştır.

**Tablo 1. Farklı çevresel katmanlarda seçilen çevresel süreçlerin/parametrelerin ilgi düzeyi (münhasır olmayan).**

Parametre#	Hava	Su	Çökelti	Toprak
<b>Redoks reaksiyonları</b>	+	++	++	+
<b>Çözünme/türleşme</b>	+	++	++	++
<b>(hetero) agregasyon/(hetero) aglomerasyon</b>	+	++	++	++
<b>Doğal organik madde (NOM) ile etkileşimler</b>	o	+	++	++
<b>Nano-biyo arayüz</b>	o	+	+	+
<b>Yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılma</b>	+ <sup>c</sup>	+	++	++
<b>Çöktürme</b>	o	++	++	o
<b>Fotokimyasal bozunma<sup>a</sup></b>	++	+	o	o
<b>(Biyo)bozunurluk<sup>b</sup></b>	o	#	#	#

#: Nanomalzemenin kimyasal bileşimi ve yüzey uygulaması/işlevselleştirilmesine büyük ölçüde dayanır.

++: Yüksek ilgi düzeyi

+: İlgili

o: Düşük ilgi düzeyi

a: Ana rehber, sınıflandırma ve kimyasal güvenlik değerlendirmesinde fotokimyasal bozunma hakkındaki bilgilerin kullanımının zorluklarını ve sınırlamalarını açıklamaktadır.

b: *BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.7b Ekinde* dönüşüm süreçleri hakkında daha fazla bilgi mevcuttur.

c: diğer maddelerin yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılması

Yukarıdakileri dikkate alarak ve (nano)formlar arasında (eko) toksikolojik özelliklerin çapraz okuması için hipotezin yeterliliğinin dikkatli şekilde değerlendirilmesini gerektirecek şekilde, yaşam döngüsü boyunca fizikokimyasal parametrelerde meydana gelen önemli değişiklikler, kaynak malzeme/malzemeler ve hedef nanoformların (setlerinin), salım anından itibaren organizmada veya çevrede, organizma içinde ve test ortamında gerçek maruz kalmaya kadar çevre içerisinde benzer şekilde davranıp davranmadığına dair sorular ortaya çıkarır. Bu nedenle, test organizması ve test ortamı ile ilgili olarak kaynak ve hedef nanoform (setleri) davranışları arasındaki benzerlikler veya potansiyel farklılıklar üzerinde sonlanma noktasına özel bir değerlendirme yapılmalıdır.

### 3.4 Adım 3: Her grup üyesi için mevcut veriler toplanır ve veriler yeterlilik ve güvenilirlik açısından değerlendirilir

Grubun bir üyesi olan her bir nanoform (seti) için, tüm mevcut bilgiler toplanmalı ve hipotezi ve gerekçeyi daha da güçlendirmek için ilgi düzeyi ve uygulanabilirliği açısından değerlendirilmelidir (bkz. *BG ve KGD Rehberi Bölüm R.3 ve R.4* [13] ve [14]). Veriler fizikokimyasal özellikler, çevresel davranış parametreleri ve (eko)toksikolojik (insan sağlığı ve çevresel türler) etkiler ile ilgili olabilir.

Özellikle, toplanan zararlılık verilerinin ilgi düzeyi, zararlılık verilerinin kullanılabilirliği hakkında bir gerekçeye varabilmek için test maddesinin, test ortamının ve test koşullarının karakterizasyonunun doğru bir şekilde anlaşılmasıyla birlikte değerlendirilmelidir. Yeterlilik, ilgi düzeyi ve güvenilirlikle ilgili daha fazla bilgi için ÇŞB rehberi ve uygulamalı rehberler incelenmelidir ([13], [14] ve [15])

Özel KKDİK bilgi gerekliliği için nanoform (setleri) grubu içinde yeterli ve güvenilir bir çalışma mevcutsa, çapraz okuma yaklaşımının kapsamlı olması koşuluyla, ilave bilgi gerekmez. Bununla birlikte, özel KKDİK bilgi gerekliliğini karşılayacak yeterli çalışma yoksa, o zaman ilave bilgiler üretilmeli veya önerilmelidir.

KKDİK Ek 7 ila 10 kapsamındaki bilgi gerekliliklerini karşılamak için uygulanan test yöntemleri, *in vivo* testlerden *in vitro* testlere ve doğal çevresel numune almaya kadar çok çeşitli test ortamlarındaki testleri kapsar. Aynı madde kimliğine sahip nanoformlar (setleri), yukarıdaki 2. adımda açıklandığı gibi bu değişken test ortamlarında çeşitli davranışlara ve/veya etkilere yol açan farklı özelliklere sahip olabilir. Bu yönler, bir nanoformdan (setinden) başka bir nanoforma (setine) (veya nanoform olmayan formlara) farklı sonlanma noktaları için uygulanabilirliğine ilişkin mevcut verilerin değerlendirilmesi dahil olmak üzere ele alınmalı ve belgelenmelidir.

Yukarıdaki 2. adımda açıklandığı gibi, Ek 1 ve Tablo 2'de açıklanan fizikokimyasal parametrelerdeki herhangi bir değişiklik, bir nanoformun aktivitesini, reaktivitesini, davranışını, toksikokinetiğini ve toksisitesini önemli bir şekilde etkileyebilir ve farklı bir davranışa yol açabilir. Bu nedenle, çalışmanın kendisinin geçerliliğine ek olarak, test organizması ve test ortamı ile ilgili olarak kaynak ve hedef nanoformların (setinin) davranışları arasındaki benzerliklerin veya potansiyel farklılıkların sonlanma noktasına özel olarak değerlendirilmesi gereklidir.

Raporlama amacıyla, kayıt dosyaları içinde toplanan bilgiler, örneğin ilgili kabul edilen çalışmalar, ilgili sonlanma noktası altında ayrı sonlanma noktası çalışma kayıtları olarak raporlanmalıdır. KKS içerisindeki değerlendirme oluşumu şeffaf bir raporlamaya yardımcı olmak için kullanılabilir; bununla ilgili daha fazla bilgi "*Kayıt ve Sürece Yönelik Araştırma ve Geliştirme (PPORD) dosyaları nasıl hazırlanır*" rehberinde mevcuttur [16].

### 3.5 Adım 4: Veri kullanılabilirliği matrisi oluşturulur

Mevcut bilgiler toplandıktan ve değerlendirildikten sonra, uygun bir sırayla düzenlenmiş nanoformlar/nanoform setleri ile bir matris oluşturulmalıdır (üyeler karşısında gruplamanın kapsadığı sonlanma noktaları). Matrisin hücreleri, verilerin mevcut olup olmadığını göstermelidir. Hücreler ayrıca mevcut güvenilir anahtar çalışma sonuçlarını, bunların nanoformlar/nanoform setleri grubu içinde nasıl kullanıldığını göstermeli ve veri boşluklarının nerede olduğunu açıkça vurgulamalıdır. Bir veri matrisi için böyle bir şablonun bir örneği Ek 2'de bulunabilir.

### 3.6 Adım 5: Yaklaşımın yeterliliği değerlendirilir ve nanoform/nanoform setleri içindeki veri boşlukları doldurulur

Son bir adım olarak, toplanan tüm ilgili bilgiler (örn. toksikokinetik veriler, vb.) genel bir değerlendirmede birleştirilmelidir. Nanoformların (setlerinin) çapraz okuması ancak toksikokinetik, davranış ve (eko) toksikoloji hakkındaki mevcut ve ilgili bilgiler hipotezi desteklediğinde ve zararlılığın olduğundan az tahmin edildiğine dair herhangi bir gösterge olmadığında ve gerekçesinin kapsamlı olduğu durumlarda desteklenir [6]. Belirsizlik hesaba katılmalıdır ve yalnızca bireysel bilgi parçalarıyla ilgili değildir, aynı zamanda genel değerlendirmede de dikkate alınmalıdır.

Nanoform/nanoform setleri grubunun bir ön değerlendirmesi aşağıdakilerin olup olmadığını belirlemek için yapılmalıdır:

- Çapraz okuma hipotezi desteklenmektedir, yani nanoformlar/nanoform setleri grubu, 2. adımda öne sürüldüğü gibi mevcut verilere dayalı olarak fizikokimyasal özelliklerde gerçekten yeterli benzerlikler sergiliyor mu?
- Çapraz okuma hipotezi, değerlendirme amacıyla yeterince kapsamlıdır (yani üyeler hakkında yeterli, ilgili ve güvenilir bilgi içerir).

Çapraz okuma yaklaşımı mantığı, bilimsel gerekçenin yalnızca bazı sonlanma noktaları için geçerli olduğu ve diğerleri için geçerli olmadığı bir duruma yol açabileceğinden, her sonlanma noktası için bir ön değerlendirme yapılmalıdır. Çapraz okuma hipotezi yeterince kapsamlıysa ve mevcut veriler değerlendirilen sonlanma noktası için yeterliyse, değerlendirme tamamlanmış demektir. Değerlendirme ve izlenen yaklaşım belgelenmelidir (7. adım).

İlk çapraz okuma hipotezi yeterince kapsamlı değilse veya gerekçelendirilmemişse, aşağıdaki seçenekler dikkate alınmalıdır:

- Mevcut veriler gruptaki nanoformların (setlerinin) yeterince benzer özelliklere sahip olmadığını gösteriyorsa, çapraz okuma hipotezi değiştirilmelidir (örn. ilk grubun alt bölümlerine göre); veya
- Yeterli veri yoksa, ancak çapraz okuma hipotezinin kapsamlı olduğu kabul edilirse, her bilgi gerekliliği gerekçesini daha da doğrulamak için grubun temsili bir nanoformunu test etmek gerekli olacaktır (6. adıma gidiniz); veya
- Çapraz okuma hipotezi yeterince gerekçelendirilemezse, tanımlanan veri boşluklarının, bilgi gerekliliklerine göre bir veri boşluğuna sahip her bir nanoform (seti) için gerekli test gerçekleştirilerek veya Ek 11'de özetlenen şekilde başka bir uyarılama kullanılarak doldurulması gerekecektir.

### 3.7 Adım 6: Tüm nanoform/nanoform seti grubu için veri boşluğunu doldurmak üzere test yapılır ve/veya önerilir:

Ön değerlendirme çapraz okuma gerekçesini destekliyorsa (yani, gruptaki nanoformlar (setleri) için benzer fizikokimyasal özellikler gözlemleniyorsa), ancak çapraz okuma hipotezinde bir veya daha fazla sonlanma noktasıyla ilgili yeterli, ilgili ve güvenilir bilgi yoksa, test yapmak veya önermek gerekli olabilir.

Yeni bir nanoform kaydedilirse ve karakterizasyonu çapraz okuma yaklaşımı tarafından kapsanmasına izin vermiyorsa ilave testler gerekebilir.

Sonuç olarak, bu tür durumlarda, çapraz okuma için bu yaklaşıma uygun bilimsel bir gerekçe kullanılarak veri boşluğu kapatılamaz. Bu durumlarda, veri boşlukları ya testin Ek 7-10 uyarınca geleneksel şekilde gerçekleştirilmesi ya da Ek 11'de ortaya konan uyarılamanın kullanılmasıyla doldurulmalıdır. Uyarılamaların nasıl kullanılacağına dair daha fazla rehberlik *BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.5* [17] içerisinde bulunabilir.

İlave test gerçekleştirirken/önerirken aşağıdaki hususlar dikkate alınmalıdır:

- Testler, söz konusu bilgi gereklilikleri için yeterli ve uygun mu?
- Test malzemesinin seçimi, piyasaya sürülmesi amaçlanana temsil etmelidir. Bu seçimin zararlılıkların olduğundan az tahmin edilmesine neden yol açmadığının gerekçeleri belgelenmelidir.
- Test KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9 veya 10 içerisinde ise, bir test önerisi gereklidir.

### **3.8 Adım 7: Nihai gruplama yaklaşımı belgelenir ve gruplama gerekçesi detaylandırılır**

Nihai çapraz okuma yaklaşımı, Değerlendirme Oluşumları kullanılarak veya grubun ele aldığı her sonlanma noktası altında KKS içerisinde belgelenmelidir. Bu, bu rehberdeki hususları ve her bir belirsizliğin nasıl ele alındığını özetleyerek şeffaf bir şekilde yapılmalıdır (belirsizlik hususlarıyla ilgili daha fazla bilgi, *BG ve KGD Rehberi, Bölüm D, Başlık D.5.4 ve Bölüm R.19*'da bulunabilir. ([18] ve [19])). Nanoformların nasıl raporlanacağına ve değerlendirme oluşumunun kullanımına ilişkin daha fazla ayrıntı, "*Kayıt ve Sürece Yönelik Araştırma ve Geliştirme (PPORD) dosyaları nasıl hazırlanır*" [16] isimli rehberde bulunabilir.

## Ek 1.

### **Nano formların gruplandırılması ve çapraz okuması için ilgili kilit fizikokimyasal parametrelerin özeti ve bunların insan sağlığı ve çevresel sonlanma noktaları için ilgi düzeyi**

(Yasal) güvenlik (risk) değerlendirmesi için bir nanomalzemenin yeterli karakterizasyonuna izin verecek bir dizi fizikokimyasal parametre oluşturma çabaları dünya çapında yapılmıştır (örn. bkz. [20], [21], [22], [23], [24], [25]) ve konu hala tartışılmaktadır.

Bu Ek içerisinde Tablo 2 , Şekil 2'de halihazırda sunulan kilit özelliklerin/parametrelerin her birine ilişkin ayrıntıları sağlar. Aslında, nanomalzemelerin güvenlik değerlendirmesiyle ilgilenirken listelenen parametrelerin dikkate alınabileceği konusunda bilim camiası arasında genel bir anlaşma vardır. Bu parametrelerin çevre ve insan sağlığı sonlanma noktalarıyla ilgi düzeyi de Tabloda vurgulanmaktadır. Bu farklı fizikokimyasal parametrelerin bir nanomalzemenin toksikolojik özellikleri üzerindeki potansiyel etkisinin mevcut anlayışına daha kapsamlı bir genel bakış, teknik bilimsel raporlarda bulunabilir (örn. [7], [26]).

ÇŞB BG ve KGD rehberinin eki (*Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1* [27]), KKDİK Yönetmeliği'nde özel bilgi gerekliliklerinin olduğu aşağıdaki parametrelerden bazıları hakkında tavsiyeler sağlar. İlave olarak, ECETOC [4] tarafından geliştirilen yaklaşım ek bilgi olarak nanomalzemelerin çapraz okuma ve gruplandırılmasıyla ilgili parametreler için mevcut analitik yöntemleri içeren bir tablo içerir.

Ayrıca, teknik nedenlerle bir parametrenin ölçülmesi mümkün olmadığında, nitel değerlendirmelerin hipotezi gerekçelendirmek için yeterli olabileceğine dikkat edilmelidir.

Bir nanoformun fizikokimyasal karakterizasyonu için, malzeme özellikleri (kimyasal bileşim, tanecik boyutu, şekil ve suda çözünürlük gibi) ve nanoformun yerleştirildiği çevre tarafından tanımlanan sisteme dayalı özellikler (örn. biyolojik ortamdaki çözünme hızı, yüzey reaktivitesi ve dağılılabilirlik) arasında bir ayırım yapılabilir. Mevcut bilgi seviyesi, içsel malzeme özellikleri ile apikal toksik etkiler arasındaki olası ilişkilerin çıkarılmasına izin vermez. Bu nedenle, çapraz okumayı gerekçelendirmek için hem bir nanoformun içsel özelliklerini hem de sisteme dayalı özellikleri, biyofiziksel etkileşimler ve *in vitro* etkilerle ilgili mevcut bilgileri ve *in silico* verileri dikkate almak önemlidir [7].

**Tablo 2: Nano formların gruplandırılması ve çapraz okuması için dikkate alınması gereken kilit fizikokimyasal parametreler ve bunların insan sağlığı ve çevresel sonlanma noktaları için ilgi düzeyi**

<b>Kimyasal parametreler (Nedir)</b>
<b>Kimyasal bileşim</b> Kimyasal bileşim hakkında ayrıntılı bilgi, nanoform olmayan formlarda olduğu gibi, nanoformların insan sağlığı ve çevresel etkilerini belirlemek için esastır. Bununla birlikte, bir nanoformun boyutu, şekli ve yüzey özellikleri, nanoformun, aynı bileşime sahip bir malzemenin nanoform olmayan formuna kıyasla farklı bir davranış sergilemesine neden olabilir.
<b>Safsızlıklar</b> Nanoform olmayan formlar için, safsızlıklar, nanoformların insan ve çevresel toksisitesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir.
<b>Yüzey uygulaması/işlevselleştirme</b> Yüzey kimyası terimi, taneciğin kimyasal kaplama ve/veya yüzey uygulamasının bir sonucu olarak taneciklerin yüzeyindeki kimyasal bileşimi belirtir. Yüzey kimyası, nanoformların çözünme davranışını ve aglomerasyon davranışını etkiler. Zararlılık sonlanma noktaları göz önüne alındığında, bir nanoformun yüzey kimyası reaktivitesini ve sistemik emilimini etkiler. Yüzey değişiklikleri, hangi biyomoleküllerin nanoforma yapıştığını, dağılımını ve hücre alımını ve toksik etkilerini belirleyebilir. Çevrede, yüzey kimyası çevresel veya biyolojik ortama emilimi ve bir nanoformun reaktivitesini etkileyecektir. KKDİK kapsamında gereklidir (Ek 6). Bkz. [2]
<b>Fiziksel parametreler / Tanecik özellikleri (Nedir)</b>
<b>Tanecik boyutu / aralığı</b> Nanoformun taneciklerinin boyutu, kristallik, zeta potansiyeli ve özel yüzey alanı gibi diğer fizikokimyasal parametreleri etkiler ve maruz kalma ve nanotaneciğin bir organizma tarafından içselleştirilip içselleştirilemeyeceğini belirleyebilir. İçselleştirildikten sonra, tanecik boyutu vücut içindeki dağılımı ve hem giriş noktasındaki hem de uzak noktalardaki (distal) toksisiteyi de etkileyebilir. Boyut dağılımı statik bir parametre değildir; (çevresel) toksisite testi sırasında (ve ayrıca malzemenin yaşam döngüsü sırasında) örn. kısmi çözünme, test ortamı ile etkileşim veya daha küçük taneciklerin tercih edilen emilimi nedeniyle değişebilir. KKDİK kapsamında gereklidir (Ek 6). Bkz. [2]
<b>Şekil ve kristallik</b> Tanecik şekli, bir nanoformun içselleştirilmesini (örneğin bir nanoformun bir hücreye nüfuz etme yeteneği) ve (çevresel) toksisitesini etkileyebilir. Soluma çalışmalarında, tanecik şekli akciğerlerde nanoform birikimini etkileyebilir ve ayrıca akciğerlerde ve muhtemelen diğer bölgelerde kalıcılığını etkileyebilir. Tanecik şekli, zeta potansiyeli gibi diğer parametreleri de etkileyebilir. Kristal yapı, bazı nanoformlar için malzemenin diğer özelliklerini (örn. reaktivite, zeta potansiyeli, Hamaker sabiti) insan ve çevresel toksisiteyi etkileyecek şekilde etkileyebilir. Taneciklerin boyutunun azalması, malzemede kristalografik değişikliklere neden olabilir (kristal kafesin daralması veya deformasyon). Nanotanecik davranışının mevcut anlayışına dayanarak, kristal yapıdaki farklılıklar metaller, metal oksitler veya karbon bazlı nanomalzemeler için geçerli olabilir. KKDİK kapsamında gereklidir (Ek 6). Bkz. [2]
<b>Gözeneklilik dahil yüzey alanı</b> Azalan tanecik boyutuyla bağlı yüzey alanının artışı, kütesine ve / veya hacmine göre bir nanoformun reaktivitesini artırabilir. Ayrıca, artan yüzey / hacim oranının bir sonucu olarak, gözeneklilik kristal yapıyı etkileyebilir. KKDİK kapsamında gereklidir (Ek 6). Bkz. [2]



<b>Davranış ("nereye gider")</b>
<b>Çözünürlük: Çözünme hızı / Denge çözünürlüğü</b> Çözünme hızı, bunlarla sınırlı olmamak üzere, kimyasal bileşim, tanecik boyutu, kaplama, yüzey uygulaması, kararlılık, imalat süreci ve biyolojik çevre gibi faktörlere bağlıdır. Çözünme hızı, tanecikten zamanla kaç iyon/molekül salındığı hakkında bilgi verir. Salınan iyon(lar)/moleküller ayrıca değerlendirmenin önemli bir yönü olacak olan nanoformların toksisitesini belirleyebilir. "Suda çözünürlük", içsel bir malzeme özelliğidir, ancak çoğu durumda sisteme dayalı "ilgili biyolojik ortamdaki çözünme hızı" özelliği, (biyolojik) ortamdaki maddelerin biyoyararlanımını temelde etkilediği için daha ilgili olacaktır. Farklı ortamların ilgi düzeyi, gerçek maruz kalma yoluna ve/veya değerlendirilen çevresel ortama bağlıdır. KKDİK kapsamında gereklidir (Ek 7).
<b>Hidrofobiklik</b> Nanoformlar için hidrofobiklik, örneğin van der Waals enerjisi (Hamaker sabiti ile temsil edilen şekilde) ve yüzey yüküne dayanır. Nanoformların hidrofobikliğinin analitik olarak belirlenmesi halen geliştirme aşamasındadır (örn. sapsız damla temas açısı, boya yüzeyine tutunma). Bu parametreler aglomerasyon ve soğurmanın yanı sıra 'biyolojik ortamda dağılılabirliği' ve tozuluğu etkileyebilirken, şu anda aralarındaki kesin ilişkiler net değildir. Hidrofobiklik, taneciklerin yüzey uygulamasından/işlevselleşmesinden etkilenir. Bu nedenle, yüzey kimyası hakkında bilgi, nanoformların hidrofobikliği hakkında nitel bilgi verebilir.
<b>Zeta potansiyeli</b> Zeta potansiyeli, yüzey yükü için bir vekil olarak kullanılabilir ve ilgili ortamdaki taneciklerin dağılım kararlılığı, aglomerasyon derecesi/açılma derecesi hakkında bilgi sağlayabilir. Yüzey yükü, bir nanoformun sistemik dağılımını ve hücre alımını ve sonuçta toksisitesini etkileyebilir. İlave olarak, zeta potansiyelini nano ölçekli metal ve mineral taneciklerinin yangı oluşturuçuluğuna (inflamojenite) bağlayan kanıtlar vardır. ([28], [29], [30]).
<b>Dağılılabirlik</b> Bu parametre, çevresel taşıma ve (çevresel) maruz kalma derecesini etkileyebilir. Ayrıca, bu parametre dahili maruz kalma derecesini etkileyebilir (özellikle oral yolla; ancak tanecik dağılılabirliği ayrıca akciğer içindeki nanomalzeme hareketliliği ve dolayısıyla sistemik alım potansiyelini de etkiler). Daha fazla bilgi için, Bölüm R.7a Ek R.7-1 [27] incelenmelidir.
<b>Tozluçluk</b> Bu parametre esas olarak hava yoluyla (özellikle soluma yoluyla) maruz kalma ve hava yoluyla taşınmayla ilgilidir. Çevrede bu parametre sucul/çökelti maruz kalması ile ilgili değildir ve sadece toprak maruz kalması için sınırlı bir ölçüde ilgilidir. KKDİK kapsamında gereklidir (Ek 7).
<b>Tepkime (Ne yapar)</b>
<b>Biyolojik (re)aktivite (veya yüzey reaktivitesi)</b> Bir maddenin bir nanoformunun biyolojik (re)aktivitesi veya yüzey reaktivitesinin, inflamasyonu tetikleyen ve dolayısıyla hücresel toksisiteyi ortaya çıkarabilen reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturduğıu görülmektedir.
<b>Işıkla tepkime</b> Işıkla tepkime azalan tanecik boyutu ile artabilir ve ayrıca kristal yapıdan etkilenebilir. İnsan toksisite testlerinde, bu parametre özellikle deri maruz kalması düşünöldüğünde ilgili olabilir, ancak diğer maruz kalma yollarında da rol oynayabilir. Çevrede, bu parametre özellikle hava ve sucul ortam göz önüne alındığında ilgili olabilir, ancak diğer ortamlarda da rol oynayabilir. Oksijen radikalleri indüklenirse (yani ROS), diğer moleküller ile kolayca tepkimeye girebilirler, bu da bazı durumlarda ciddi etkilere yol açabilir (örneğin, DNA ile tepkime genotoksisiteye yol açar). Bu parametre, ışıkla aktifleşen nanomalzemeler için geçerlidir.



## Ek 2. Çapraz okuma matrisi için şablon örneği

Aşağıdaki tablo, nanoformlar için uyarlanmış bir çapraz okuma matris şablonu örneğini göstermektedir. Nanoformlar için eklenen alanlar gri ile vurgulanmıştır. "Ek gruplama parametreleri" listesinin yalnızca gösterge niteliğinde olduğu unutulmamalıdır. Bir çapraz okuma hipotezi geliştirirken dikkate alınabilecek tüm olası parametreleri kapsamaz ve başlık altında görünen tüm parametreler her zaman gerekli olmayacaktır (bkz. Bölüm 3.3, Adım 2).

**Tablo 3: Nanoformlar için çapraz okuma matris şablonu örneği**

EC No. (CAS No.)			
<b>KİMYASAL ADI</b>	[(Nano)form 1]	[(Nano)form 2]	[(Nano)form 3]
Kimyasal bileşim			
Safsızlıklar			
<b>Nanoform tanımlama ("nedir")</b>			
Tanecik boyutu			
Şekil (kristallik vb. dahil)			
Yüzey kimyası			
Yüzey alanı			
AB nanomalzeme tanımını karşılar (E/H)			
<b>İLAVE GRUPLAMA PARAMETRELERİ</b>			
<b>Davranış ("nereye gider")</b>			
Suda çözünürlük			
Çözünme hızı			
Hidrofobiklik			
Zeta potansiyeli			
Tozluluk			
...			
<b>Tepkime</b>			
Biyolojik (re)aktivite			
Işıkla tepkime			
...			
<b>ÇEVRESEL DAVRANIŞ ve HAREKET</b>			
Işıkla bozunurluk			
Suda Kararlılık			
Taşıma ve Dağılım			
Aerobik Biyobozunurluk			
...			
<b>ÇEVRESEL TOKSİSİTE</b>			
Balıklarda Akut Toksikite			
Sucul Omurgasızlara Akut Toksikite			

Sucul Bitkilere Toksikite			
...			
<b>MEMELİ TOKSİSİTESİ</b>			
Akut Oral			
Akut Soluma			
Akut Dermal			
Tekrarlı doz toksisitesi, oral			
Tekrarlı doz toksisitesi, soluma			
Genetik Toksikite <i>in vitro</i>			
. Gen mutasyonu			
. Kromozom bozukluğu			
Genetik Toksikite <i>in vivo</i>			
Üreme Sistemi Toksikitesi			
- Doğurganlık			
- Gelişimsel toksikite			
...			

## Referanslar

- [1] ECHA, "Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirme rehberi Bölüm R.6: QSAR ve kimyasalların gruplandırılması" [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [2] ECHA, "Kayıt Rehberi ve Madde tanımlama Rehberi için geçerli nanoformlar için uygulanabilir Ek" [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach>.
- [3] ECHA, RIVM ve JRC, "Aynı maddenin nanoformları arasındaki veri boşluklarını doldurmak ve bunların gruplandırılması için (eko)toksikolojik verilerin kullanımı," Mart 2016. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/en/publications/technical-scientific-reports>.
- [4] J. Arts, M. Hadi, M. Irfan, A. Keene, R. Kreiling, D. Lyon, M. Maier, K. Michel, T. Petry, U. Sauer, D. Warheit, K. Wiench, W. Wohlleben ve R. Landsiedel, "A decision-making framework for the grouping and testing of nanomaterials (DF4nanoGrouping) (Nanomalzemelerin gruplandırılması ve test edilmesi için karar verme çerçevesi (DF4nanoGrouping))", *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, cilt 71, sayı 2, Ek, ss. S1-S27, 2015.
- [5] J. Arts, M. Hadi, A. Keene, R. Kreiling, D. Lyon, M. Maier, K. Michel, T. Petry, U. Sauer, D. Warheit, K. Wiench ve R. Landsiedel, "A critical appraisal of existing concepts for the grouping of nanomaterials (Nanomalzemelerin gruplandırılması için mevcut kavramların kritik bir değerlendirmesi)", *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, cilt 70, sayı 2, s. 492-506, 2014.
- [6] A. Oomen, E. Bleeker, P. Bos, F. van Broekhuizen, S. Gottardo, M. Groenewold, D. Hristozov, K. Hund-Rinke, M.-A. Irfan, M. A, P. WJGM, R. K, J. AS, S.-F. JJ, v. T. M, W. K, W. W ve L. R, "Grouping and read-across approaches for risk assessment of nanomaterials (Nanomalzemelerin risk değerlendirmesi için gruplama ve çapraz okuma yaklaşımları)", *Int. J. Environ. Res. Public Health*, cilt 12, s. 13415-13434, 2015.
- [7] K. Sellers, N. Deleebeeck, M. Messiaen, M. Jackson, E. Bleeker, D. Sijm ve F. van Broekhuizen, "Grouping Nanomaterials - A strategy towards grouping and read-across (Nanomalzemelerin Gruplaması - Gruplama ve çapraz okumaya yönelik bir strateji). RIVM Raporu 2015-0061, Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü (RIVM) ve Arcadis, Bilthoven, Hollanda, "2015. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2015-0061.html>.
- [8] OECD, "Test ve Değerlendirme Üzerine OECD Serisi, No. 194. Kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin rehber, ikinci baskı ENV/JM/MONO(2014)4", 2014. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>.
- [9] ECHA, "REACH ve CLP kapsamında maddelerin tanımlanması ve adlandırılması için rehber" [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach>.
- [10] C. Tran, S. Hankin, B. Ross, R. Aitken, A. Jones, K. Donaldson, V. Stone ve R. Tantra, "An outline scoping study to determine whether high aspect ratio nanoparticles (HARN) should raise the same concerns as do asbestos fibres. Report on Project CB0406, Institute of Occupational Medicine (IOM), Edinburgh, UK (Yüksek en-boy oranına sahip nanotaneçiklerin (HARN) asbest lifleriyle aynı endişeleri ortaya çıkarması gerekir belirlenmesi için bir kapsam belirleme çalışması. CB0406 Projesi Raporu, Mesleki Tıp Enstitüsü (IOM), Edinburgh, İngiltere)", 2008. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: [http://randd.defra.gov.uk/Document.aspx?Document=CB0406\\_7768\\_FRP.pdf](http://randd.defra.gov.uk/Document.aspx?Document=CB0406_7768_FRP.pdf).

- [11] D. Mitrano, S. Motellier, S. Clavaguera ve B. Nowack, "Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products (Nano-geliştirilmiş ürünlerin yaşam döngüsü boyunca nanomalzeme yaşlanma ve dönüşümlerin incelemesi)" *Environment International*, cilt. 77, s. 132–147, 2015.
- [12] N. Hartmann, L. Skjolding, S. Foss Hansen, A. Baun, J. Kjølholt ve F. Gottschalck, "Environmental fate and behaviour of nanomaterials: New knowledge on important transformation processes. Environmental Project No. 1594 (Nanomalzemelerin çevresel akıbet ve davranışı - Önemli dönüşüm süreçleri hakkında yeni bilgiler - Çevre Projesi No. 1594)", Danimarka Çevre Koruma Ajansı, Copenhagen 2014.
- [13] ECHA, "Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirme rehberi Bölüm R.3: Bilgi toplama "[Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- 
- [14] ECHA, "Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirme rehberi Bölüm R.4: Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi", [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [15] ECHA, "Uygulamalı Rehber 2: Kanıt Ağırlığı Nasıl Raporlanır", [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://echa.europa.eu/practical-guides>.
- [16] ECHA, "Kayıt ve Sürece Yönelik Araştırma ve Geliştirme (PPORD) dosyaları nasıl hazırlanır", 2016. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: [http://echa.europa.eu/documents/10162/22308542/manual\\_regis\\_and\\_ppord\\_en.pdf](http://echa.europa.eu/documents/10162/22308542/manual_regis_and_ppord_en.pdf).
- [17] "Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirme rehberi Bölüm R.5: Bilgi gerekliliklerinin uyarlanması", [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [18] ECHA, "Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirme rehberi Bölüm D: Maruz kalma değerlendirme için çerçeve", [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [19] ECHA, "Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirme rehberi Bölüm R.19 : Belirsizlik analizi", [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [20] SCENIHR, "Nanoteknoloji Ürünlerinin Risk Değerlendirmesi, Yeni Oluşan ve Yeni Tanımlanmış Sağlık Riskleri Bilimsel Komitesi. Yeni Oluşan ve Yeni Tanımlanmış Sağlık Riskleri Bilimsel Komitesi (SCENIHR)," 2009. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/emerging/opinions/scenih\\_r\\_opinions\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/opinions/scenih_r_opinions_en.htm).
- [21] "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine OECD Serisi, No. 25. İmal edilen nanomalzemelerin test edilmesi için rehber talimatlar: OECD sponsorluk programı, ilk revizyon ENV/JM/MONO(2009)20/REV," 2010. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/publicationsintheseriesonthesafetyofmanufacturednanomaterials.htm>.
- [22] V. Stone, B. Nowack, A. Baunc, N. van den Brink, F. von der Kammer, M. Dusinskaf, R. Handy, S. Hankin, M. Hassellöv, E. Joner and T. Fernandes, "Nanomaterials for environmental studies: Classification, reference material issues, and strategies for physico-chemical characterisation (Çevre çalışmaları için nanomalzemeler: Fiziko-kimyasal karakterizasyon için sınıflandırma, referans malzeme konuları ve stratejiler)", *Science of The Total Environment*, cilt 408, no. 7, sayfa 1745–1754, 2010.
- [23] JRC, "REACH Uygulama Projesi - Nanomalzemelerin Madde Tanımlanması (RIP- oN 1) DG ENV ve JRC arasında Danışma Raporu AA No. 070307/2009/D1/534733, Sağlık ve Tüketici Koruma Enstitüsü Ortak Araştırma Merkezi (JRC)," 2011. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/reach-clp/ripon\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/reach-clp/ripon_en.htm).
- [24] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine OECD Serisi, No. 36. İmal edilen nanomalzemelerin güvenlik testleri için numune hazırlama ve dozimetri rehberi ENV/JM/MONO(2012)40," 2012. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2012\)40&docLanguage=En](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2012)40&docLanguage=En).

- [25] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine OECD Serisi, No. 41. İmal Edilen Nanomalzemelerin Fiziksel Kimyasal Özellikleri ve Test Rehberleri hakkında OECD Uzman Toplantısı Raporu ENV/JM/MONO(2014)15," 2014. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/publicationsintheseriesonthesafetyofmanufacturednanomaterials.htm>.
- [26] G. Oberdörster, A. Maynard, K. Donaldson, V. Castranova, J. Fitzpatrick, K. Ausman, J. Carter, B. Karn, W. Kreyling, D. Lai, S. Olin, N. Monteiro-Riviere, D. Warheit ve H. Yang, "Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: Elements of a screening strategy (Nanomalzemelere maruz kalmanın insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerini karakterize etme ilkeleri: Tarama stratejisinin unsurları)", *Particle and Fibre Toxicology*, cilt 2, no. 8, 2005.
- [27] ECHA, "Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [28] W.-S. Cho, R. Duffin, F. Thielbeer, M. Bradley, I. L. Megson, W. MacNee, C. A. Poland, C. L. Tran ve K. Donaldson, "Zeta potential and solubility to toxic ions as mechanisms of lung inflammation caused by metal/metal-oxide nanoparticles (Zeta potansiyeli ve metal/metal oksit nanotaneceklerinin neden olduğu akciğer inflamasyon mekanizmaları olarak toksik iyonların çözünürlüğü)", *Toxicological Sciences*, 2012.
- [29] K. Donaldson, A. Schinwald, F. Murphy, W.-S. Cho, R. Duffin ve L. P. C. Tran, "The Biologically Effective Dose in Inhalation Nanotoxicology (Solunma Nanotoksikolojisinde Biyolojik Etkili Doz)", *Accounts of Chemical Research*, cilt 46, no. 3, sayfa 723-732, 2013.
- [30] K. Donaldson ve C. A. Poland, "Nanotoxicity: challenging the myth of nano-specific toxicity (Nanotoksosite: nanoya özel toksosite efsanesine meydan okuma)", *Current Opinion in Biotechnology*, cilt 24, no. 4, s. 724-734, 2013.
- [31] A. Nel, L. Madler, D. Velegol, T. Xia, E. Hoek, P. Somasundaran, F. Klaessig, V. Castranova ve M. Thompson, "Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface (Nano-biyo arayüzde biyofizikokimyasal etkileşimleri anlama)", *Nature Materials*, cilt 8, sayfa 543 - 557, 2009.
- [32] V. Stone, S. Pozzi-Mucelli, L. Tran, K. Aschberger, S. Sabella, U. Vogel, C. Poland, D. Balharry, T. Fernandes, S. Gottardo, S. Hankin, M. Hartl, N. Hartmann, D. Hristozov, K. Hund-Rinke, H. Johnston, A. Marcomini, O. Panzer, D. Roncato, A. Saber, H. Wallin ve J. ScottFordsmand, "ITS-NANO--prioritising nanosafety research to develop a stakeholder driven intelligent testing strategy (ITS-NANO - Paydaş kaynaklı akıllı bir test stratejisi geliştirmek için nanogüvenlik araştırmalarına öncelik verme).", *Particle and Fibre Toxicology*, cilt 11, no. 9, 2014.

