

BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZONGULDAK İLİ ATMOSFERİNDE YER ALAN BAZI POLEN ALERJENLERİN
(Bet v 1, Phl p 5, Amb a 1) ELISA YÖNTEMİ İLE 2015 YILI BOYUNCA İZLENMESİ
VE METEOROLOJİK VERİLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

TUĞBA SARIŞAHİN

HAZİRAN 2018

BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZONGULDAK İLİ ATMOSFERİNDE YER ALAN BAZI POLEN ALERJENLERİN
(Bet v 1, Phl p 5, Amb a 1) ELISA YÖNTEMİ İLE 2015 YILI BOYUNCA İZLENMESİ
VE METEOROLOJİK VERİLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

Tuğba SARIŞAHİN

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Şenol ALAN

ZONGULDAK

Haziran 2018

KABUL:

Tuğba SARIŞAHİN tarafından hazırlanan “Zonguldak İli Atmosferinde Yer Alan Bazı Polen Alerjenlerin (Bet v 1, Phl p 5, Amb a 1) ELISA Yöntemi ile 2015 Yılı Boyunca İzlenmesi ve Meteorolojik Veriler ile Karşılaştırılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 08/06/2018

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Şenol ALAN

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü



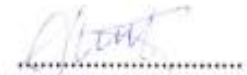
Üye: Prof. Dr. Nur Münevver PINAR

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü



Üye: Doç. Dr. Ayşe KAPLAN

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

28/06/2018



Doç. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



"Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim."


Tuğba SARIŞAHİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

**ZONGULDAK İLİ ATMOSFERİNDE YER ALAN BAZI POLEN
ALERJENLERİN (Bet v 1, Phl p 5, Amb a 1) ELISA YÖNTEMİ İLE 2015 YILI
BOYUNCA İZLENMESİ VE METEOROLOJİK VERİLER İLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Tuğba SARIŞAHİN

**Bülent Ecevit Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Şenol ALAN

Haziran 2018, 70 sayfa

Atmosferin içeriğine dair çalışmalar son yirmi yılda, moleküler biyolojik tekniklerin gelişimine paralel olarak büyük bir ilerleme kaydetmiştir. Özellikle atmosferde yer alan alerjenlerin belirlenmesi, duyarlı hastalarda alerjiye neden olan kaynağı doğrudan göstermesi bakımından dikkat çeken başlıklardandır. Bu tez çalışmasında Zonguldak ili atmosferinde yer alan üç polen alerjeninin (Bet v 1, Phl p 5 ve Amb a 1) miktarları 2015 yılı boyunca Kademeli Yüksek Hacimli Hava Örnekleycisi ile örneklenmiş ve miktarları ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Yine 2015 yılı boyunca bu alerjenler ile bağlantılı Betulaceae, Poaceae ve *Ambrosia* polenleri de Hirst tuzağı ile toplanarak sayılmıştır.

Toplam 220 gün alerjen ve 282 gün polen örnekleme yapılmıştır. Yıllık polen konsantrasyonları: Betulaceae için 1500,8 polen/m³, Poaceae için 147,8 polen/m³ ve *Ambrosia* için 717,6 polen/m³'dür. Bu üç polen tipi için en yoğun görüldükleri tarih ve

ÖZET (devam ediyor)

miktarlar yukarıdaki sıraya göre; 18 Mayıs (141,3 polen/m³), 27 Mayıs (15,3 polen/m³) ve 31 Ağustos (184,9 polen/m³)'dür.

Alerjen izlemesi sonucunda toplam alerjen miktarları; Bet v 1 için 133,9 pg/m³, Phl p 5 için 56,7 pg/m³ ve Amb a 1 için 6,84 x 10⁻³ U/m³'dür. Her üç alerjenin de büyük bir kısmı partikül büyüklüğü (PM>10) 10 mikrometreden büyük parçacıkları toplayan filtrelerde belirlenmiştir. Alerjenlerin en yoğun kaydedildiği tarihler; Bet v 1 için 10 Mayıs (9,26 pg/m³), Phl p 5 için 8 Temmuz (31,7 pg/m³), Amb a 1 için 24 Ağustos (8,40x10⁻⁴ U/m³)'dur.

Çalışma sonucunda özellikle Zonguldak ilinin topografik yapısı ve hakim rüzgar yönünün polenlerin ve daha çok alerjenlerin dağılımı üzerine etkili olduğu bulunmuştur. Öte yandan belirlenen bazı polen ve alerjen konsantrasyonlarının taşınım sonucu Zonguldak iline ulaştığına dair sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Alerjen, Polen, Zonguldak, İzleme, Bet v 1, Phl p 5, Amb a 1, ELISA

Bilim Kodu: 401.01.00.

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

MONITORING OF SOME POLLEN ALLERGENS (BET V 1, PHL P 5, AMB A 1) IN ZONGULDAK ATMOSPHERE BY USING ELISA TECHNIQUE DURING 2015 AND COMPARING WITH METEOROLOGICAL PARAMETERS.

Tuğba SARIŞAHİN

Bülent Ecevit University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Thesis Advisor: Assist. Prof. Dr. Şenol ALAN

June 2018, 70 pages

Studies of the content of the atmosphere have made great progress in the last two decades, parallel to the development of molecular biological techniques. The identification of allergens in the atmosphere is particularly important topics, since it allows identification of the source causing allergies in the sensitive patients. In this thesis, three pollen allergens (Bet v 1, Phl p 5 and Amb a 1) were sampled by using Cascade High Volume Air Sampler from atmosphere during 2015 and its amounts were measured by ELISA technique. At the same time, pollens of Betulaceae, Poaceae and *Ambrosia* which is associated with these allergens were collected by Hirst trap and were counted.

A total of 220 days of allergen and 282 days of pollen sampling were performed. Annual pollen concentrations: 1500.8 pollen / m³ for Betulaceae, 147.8 pollen / m³ for Poaceae and 717.6pollen / m³ for *Ambrosia*. The peak days and values for these allergens

ABSTRACT (continued)

respectively were 18 May (141,3 pollen/m³), 27 May (15,3 pollen/m³) and 31 August (184.9 pollen/m³).

In the result of allergen monitoring, obtained total allergen concentrations were 133.9 pg/m³ for Bet v 1, 56.7 pg/m³ for Phl p 5 and 6.84×10^{-3} U/m³ for Amb a 1. The majority of these allergens were determined on filters which collects particles greater than 10 micrometer (PM>10). The dates on which allergens are most intensively recorded; 10 May (9.26 pg / m³) for Bet v 1, 8 July (31.7pg / m³) for Phl p 5, and 24 August (8.40×10^{-4} U / m³) for Amb a 1.

As a result of the study, it was found that the topographical structure of Zonguldak province and the dominant wind direction were particularly effective on the distribution of allergens as well as pollen. On the other hand, some pollen and allergen concentrations have been found to reach by transport in Zonguldak province.

Keywords: Allergen, Pollen, Zonguldak, Monitoring, Bet v 1, Phl p 5, Amb a 1, ELISA

Science Code: 401.01.00.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilgi, öneri, yardım ve becerilerini esirgemeyen, tez çalışmama yön veren danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi şenol ALAN'a, Atmosferik polenlerin sayımında bizlere yardımcı olan Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ayşe KAPLAN'a, Ankara Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Nur Münevver PINAR'a, yine aynı bölümden Öğretim Üyesi Sayın Arş. Gör. Aydan ACAR şAHİN'e ve Tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. İşhak Özel TEKİN'e, Biyolog Nergis SEVİNÇ TEKİN'e ve Palinoloji ailesi üyelerimizden Uzm. Biyolog Derya SEÇİL'e, Dr. İbrahim ERDOĞAN'a ve bu tez çalışmasına 113Z762 numaralı proje ile destek sağlayan TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca maddi manevi benden desteklerini esirgemeyen başta babam Süleyman SARIşAHİN ve annem Fikriye SARIşAHİN olmak üzere tüm aileme çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL:.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
1.1 Polen Duvar Yapısı.....	2
1.2 Alerji Nedir?.....	4
1.3 Literatür Özeti	5
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOT	11
2.1 Araştırma Bölgesinin Konumu.....	11
2.2 Araştırma Bölgesinin Coğrafik Yapısı.....	11
2.3 Araştırma Bölgesinin Bitki Örtüsü	12
2.4 Araştırma Bölgesinin İklimi.....	13
2.5 Zonguldak Aerobiyoloji Gözlem İstasyonu	14
2.6 Atmosferik Polen Örneklerinin Hirst polen ve spor tuzağı (Burkard) ile Toplanması	15

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

2.6.1	Atmosferik Polen Örneklerinin Preparat Haline Getirilmesi	16
2.6.2	Hirst polen ve spor tuzağı (Burkard) Preparatlarının Sayımı.....	17
2.6.3	Atmosferik Alerjenlerin Toplanması.....	17
2.6.4	Kademeli Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi ile Toplanan Aeroalerjenlerin Analiz için Hazırlanması	20
2.6.5	Filtrelerin Özütleme ve ELISA Analizi için Hazırlanması	22
2.6.6	ELISA Analizinin Optimizasyon İşleminin Gerçekleştirilmesi.....	25
2.6.7	Atmosferik Alerjenlerin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi	27
2.6.8	Kalite Kontrol Süreci	31
2.6.9	Geri Yörünge Analizi.....	32
2.7	Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi.....	33
BÖLÜM 3 BULGULAR.....		34
3.1	Zonguldak İli Atmosferinin Polen Analiz Sonuçları	35
3.1.1	Etkin Polen Sezonunun Belirlenmesi	38
3.2	Atmosferik Aeroalerjen İzleme Sonuçları	39
3.2.1	Zonguldak İli Atmosferindeki Bet v 1 Alerjen Miktarları.....	40
3.2.2	Zonguldak İli Atmosferindeki Phl p 5 Alerjen Miktarları	41
3.2.3	Zonguldak İli Atmosferindeki Amb a 1 Alerjen Miktarları.....	43
3.3	Geri Yörünge Analizi Sonuçları.....	44
3.4	Verilerin Değerlendirilmesi.....	47
3.5	Polen ve Alerjen Konsantrasyonlarının Meteorolojik Verilerle Kıyaslanması.....	49
3.5.1	Zonguldak İlinde İzlenen Bet v 1 ve Betulaceae Familyası Polenlerinin Meteorolojik Parametrelerle İlişkisi.....	50
3.5.2	Zonguldak İlinde İzlenen Phl p 5 ve Poaceae Familyası Polenlerinin Meteorolojik Parametrelerle İlişkisi.....	51
3.5.3	Zonguldak İlinde İzlenen Amb a 1 ve <i>Ambrosia</i> Polenlerinin Meteorolojik Parametrelerle İlişkisi.....	52

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

BÖLÜM 4 TARTIŞMA.....	53
BOLUM 5 SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR.....	65
EK AÇIKLAMALAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	71





ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Polen duvarının şematik yapısı.	4
Şekil 2.1 Zonguldak ilinin güneye doğru yükselti profili.	11
Şekil 2.2 Zonguldak ilinin mevsim normalleri temel alınarak çizilmiş ombrotermik diyagramı.	13
Şekil 2.3 Zonguldak Aerobioloji Gözlem İstasyonunda yer alan örnekleyiciler.	15
Şekil 2.4 a. Burkard Cihazının genel görüntüsü, b. Burkard cihazının içerisinde yer alan ve şeffaf bandın sarıldığı döner disk.	16
Şekil 2.5 Burkard preparatlarının hazırlanması.	16
Şekil 2.6. Polenlerin sayımı için kullanılan tam alan sayım metodunun şematize gösterimi.	17
Şekil 2.7 BGI 900 Kademeli Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi.	18
Şekil 2.8 Soldan sağa doğru alerjenlerin toplanmasında kullanılan PM>10 ve 10>PM>2.5 poliüretan filtreler.	19
Şekil 2.9 a. Blower, b. Kademeli Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi'nin boyuna kesiti	19
Şekil 2.10 a. PM>10, b. 10>PM>2.5 Poliüretan filtrelerin boş ağırlıklarının tartımı.	20
Şekil 2.11 Değişim sonrası laboratuvara getirilen kirli filtrelerin, nem dengesini sağlamak için bekletilmesi.	21
Şekil 2.12 PM>10, 10>PM>2.5 filtre parçalarının vida yerlerinden kesimi, dolu ağırlıklarının tartımı ve saklanması.	21
Şekil 2.13 PM>10 ve 10>PM>2.5 filtrelerinin özütleme aşaması.	23
Şekil 2.14 PM>10 ve 10>PM>2.5 Hava örneklerinin liyofilize edilmesi.	24
Şekil 2.15 Ön denemede kullanılan ELISA plağının yerleşimi.	27
Şekil 2.16 Hava örneklerinin ELISA plaklarına ekimi.	28
Şekil 2.17 Phl p 5 alerjen miktarlarının hesaplanmasında kullanılan örnek standart eğri grafiği.	31

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Şekil 2.18 Aerobioloji gözlem istasyonunda Yüksek Hava Örnekleyicisinin kalibre edilmesi.....	32
Şekil 3.1 2015 yılı boyunca Zonguldak atmosferinde tez kapsamında analiz edilen polenlerin yüzdelik dağılımları.	35
Şekil 3.2 2015 yılında Zonguldak ilinde analiz edilen Betulaceae, Poaceae ve <i>Ambrosia</i> polenlerinin aylık değişimi.	36
Şekil 3.3 Tez kapsamında atmosferde izlenen polenlerin yıllık dağılımını gösteren polen takvimi.....	37
Şekil 3.4 Betulaceae familyasında yer alan cinslere ait polenlerin Zonguldak istasyonundaki aylık değişimleri.....	38
Şekil 3.5 Zonguldak ilinde 09.03.2015 - 06.06.2015 tarihleri arasında gözlenen Bet v 1 alerjenleri ile polen miktarları arasındaki değişim grafiği.	40
Şekil 3.6 Zonguldak ilinde gözlenen Phl p 5 alerjenleri ile polen miktarları arasındaki değişim grafiği.	42
Şekil 3.7 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen <i>Ambrosia</i> polenleri ile Amb a 1 alerjen konsantrasyonlarının günlük değişimi.....	43
Şekil 3.8 Betulaceae polenlerinin uzun mesafeli taşınımını gösteren 12 saatlik (a) ve 72 saatlik (b) geri yörünge analizleri.....	45
Şekil 3.9 9 Temmuz'da Phl p 5 alerjeninin kısa ve uzun mesafe taşınımını gösteren 12 saatlik (a) ve 72 saatlik (b) geri yörünge analizleri.....	46
Şekil 3.10 Zonguldak' da 09 Ağustos ve 16 Eylül 2015 tarihleri arasında kaydedilen Amb a 1 kaynaklarının olası geri yörünge analizi.	47
Şekil 3.11 Zonguldak ilindeki hakim rüzgar yönü ile alerjen belirlenen günlere ait rüzgar gülü.....	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Bitkilerin tozlaşma olayında kullandıkları vektörler için kullanılan terminoloji.	2
Çizelge 1.2 Polen duvar tabakalarının iki farklı şekilde sınıflandırılması.....	3
Çizelge 2.1 Tez kapsamında kurulan Zonguldak Aerobioloji Gözlem İstasyonuna ait bilgiler.....	14
Çizelge 2.2 Filtrelerin özütlenmesi için kullanılan tamponlar ve tüp başına kullanılan tampon miktarları.....	22
Çizelge 2.3 Örneklerin liyofilize edilmesinde kullanılan program.....	25
Çizelge 2.4 Ön denemede kullanılan örnekler ve ELISA sonuçları.....	26
Çizelge 3.1 Tez kapsamında Zonguldak ilinde alerjen izlemesi yapılan gün sayıları.....	34
Çizelge 3.2 Zonguldak illerinde 2015 yılında izlenen polenlerin aylık dağılımları.....	36
Çizelge 3.3 Betulaceae familyasına ait polenlerin toplam miktar, pik tarihi ve miktarları	38
Çizelge 3.4 %90 ve %98 metoduna göre atmosferde izlenen polenlerin etkin polen sezonları ve sezon uzunlukları.....	39
Çizelge 3.5 2015 yılında Zonguldak Gözlem İstasyonunda izlenen alerjenlerin tepe tarih ve miktarları.....	39
Çizelge 3.6 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen Betulaceae polenleri ile Bet v 1 alerjeni miktarlarının aylara göre dağılımı.....	41
Çizelge 3.7 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen Poaceae polenleri ile Phl p 5 alerjeni miktarlarının aylara göre dağılımı.....	42
Çizelge 3.8 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen <i>Ambrosia</i> polenleri ile Amb a 1 alerjeni miktarlarının aylara göre dağılımı.....	43
Çizelge 3.9 Polen başına düşen alerjen miktarları.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam ediyor)

Çizelge 3.10 Polen sezonunun tüm polenlerin %90'ı ve %98 'i dikkate alınarak hesaplandığı durumda üretilen verilerinin Kolmogorov-Smirnov normalite testi sonuçları.....	47
Çizelge 3.11 Alerjen konsantrasyon verilerinin Kolmogorov-Smirnov normalite testi sonuçları.....	48
Çizelge 3.12 Gözlem istasyonlarının karşılaştırılması için uygulanan Spearman Korelasyon analiz sonuçları.....	48
Çizelge 3.13 Zonguldak ilinde 2015 yılında kaydedilen aylık meteorolojik veriler.	49
Çizelge 3.14 Polen ve alerjen verilerinin meteorolojik veriler ile bağlantısı.....	50
Çizelge 3.15 Zonguldak ili için meteorolojik parametreler ile Betulaceae familyası cinsleri arasındaki ilişki.....	51
Çizelge 4.1 Zonguldak ilinde daha önce yapılmış olan bazı atmosferik çalışmalar ile tez çalışmasının karşılaştırmalı tablosu.....	53
Çizelge 4.2 HIALINE projesinin 2009 yılına ait Bet v 1 alerjen izleme sonuçlarının tez sonuçlarıyla karşılaştırılması.....	56
Çizelge 4.3 Farklı Avrupa ülkelerinde gerçekleştirilen Phl p 5 alerjen izleme sonuçları.....	57
Çizelge 4.4 Almanya alplerinde gerçekleştirilen çalışmaya ait alerjen verileri.	58
Çizelge 4.5 Poznań şehrinde gerçekleştirilen Amb a 1 alerjen izleme çalışma sonuçları ile tez sonuçlarının karşılaştırılması.	60

EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ

Sayfa

EK A Tez Çalışmasında Kullanılan Tamponların İçerikleri69





SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

pg	: Pikogram (10^{-12} gram)
ng	: Nanogram (10^{-9} gram)
m ³	: Metreküp
°C	: Santigrad derece
µm	: Mikrometre (10^{-6} metre)
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
g	: Yerçekimi kuvveti
kDa	: Kilodalton
m	: Metre
km ²	: Kilometrekare
ha	: Hektar
cm	: Santimetre
km	: Kilometre
N	: Kuzey
E	: Doğu
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
U	: Unite

KISALTMALAR

ELISA	: Enzime bağlı immünosorban yöntem
HYSPLIT	: Hibrid Tek Parçacık Lagrangian Entegre Yörünge Modeli
IgE	: İmmünglobulin E
PM	: Partikül büyüklüğü
BEÜ	: Bülent Ecevit Üniversitesi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

İBF	: İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi
ABTS	:(2,2'-azino-Bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) diamonyum
BSA	: Sığır Serum Albümini
PBS	: Fosfat Tamponu
PBS-T	:Tweenli Fosfat Tamponu
NOAA	: Ulusal Okyanus ve Atmosfer Dairesi (Amerika Birleşik Devletleri)
EPS	: Etkin Polen Sezonu



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Bitki morfolojisinin bir alt dalı olan palinolojinin inceleme alanı, atmosferde yer alan polen ve sporlar ile birlikte palinolojik preparatlarda gözlenen diğer partiküllerdir. Polen ve sporların atmosferdeki çeşit, miktar ve değişimleri ile birlikte bunların meteorolojik faktörler ile ilişkilerini inceleyen palinolojinin alt dalına ise aeropalinoloji adı verilmektedir.

Atmosferde büyüklüğü 0,5 ile 100 µm arasında değişen bir çok partikül bulunmaktadır. Bu partiküllerin başında polenler, sporlar, bakteriler, virüsler, hif parçacıkları, algler, böcek parçaları ve larvaları, küçük tohumlar ile protozoonlar gelmektedir. Atmosferde yer alan bu partiküllerin birçoğu hastalık etmeni olmak ile birlikte, en sık karşılaşılanları polen ve sporlardır. Ayrıca polen ve sporlar duyarlı kişilerde alerjik reaksiyonlara sebep olmaktadır. Bunların sebep olduğu solunum yolu hastalıklarına ise “polinosis” adı verilmektedir [1].

Polenler ya da çiçek tozları, tohumlu bitkiler tarafından üretilen ve içerisinde erkek gametleri barındıran yapılardır. Tozlaşma ya da polinizasyon adı verilen bir olayda rol üstlenmektedir. Anterlerde olgunlaşan polenler, bitki türüne bağlı olarak hava, su, böcek gibi uygun bir vektör yardımı ile anterden ayrılarak dişi organın stigmasına ulaşır ve orada döllenme olayını gerçekleştirirler [2]. Bu olayda iş gören vektörler, su ve hava gibi cansız (abiyotik) faktörler olabileceği gibi, böcekler ya da yarasalar gibi canlı (biyotik) etmenler de olabilir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1 Bitkilerin tozlaşma olayında kullandıkları vektörler için kullanılan terminoloji.

		Terim	Taşıyıcı
Abiyotik		Anemofil	Rüzgâr
		Hidrofil	Su
Biyotik	Entomofil	Melittofil	Arı
		Psikofil	Kelebek
		Falaenofil	Güve
		Miyofil ya da sapromiyofil	Sinek
		Ornitofil	Kuş
		Şiropiterofil	Yarasa

Polinizasyonda kullanılmak üzere bütün polenler lipid ve nişasta depolarlar. Nişastalı ve nişastasız polenler olmak üzere ikiye ayrılan polenlerden, rüzgâr ile tozlaşanlar nişastalı polenler olarak adlandırılırken, böcek ile tozlaşanlar nişastasız polenler olarak adlandırılır. Rüzgâr ile tozlaşan polenler böcek ile tozlaşan polenlere göre daha çok alerjik etkiye sebep olabilmektedir. Bu durum rüzgârla tozlaşan bitkilerin polenlerindeki nişasta tanelerinin yağmurun ve nemin etkisi ile patlayarak polenlerin dışarısına çıkması ve atmosferde uzun mesafelere taşınması ile bağlantılıdır. Bu nişasta taneleri, polenlerin aksine 1-2 μ büyüklüğünde olduklarından, alt solunum yollarına kadar giderek alerjiye ve astıma sebep olmaktadır [3]. El-Ghazaly ve arkadaşları (1996), *Betula pendula* türünde Bet v 1 alerjenlerinin, büyük bir çoğunluğunun nişasta taneleri üzerinde bulunan proteinlerin olduğunu belirlemiştir [4].

1.1 Polen Duvar Yapısı

Polen duvarına genel olarak sporoderm adı verilmektedir. Bu duvar, kimyasal ve boyanma özellikleri farklı iki temel tabakadan meydana gelmiştir. Bunlar dış duvarı oluşturan ekzin ve iç duvarı oluşturan intin tabakalarıdır. Bazı sporlarda ise bu tabakalara ilaveten perin adı verilen bir tabaka daha bulunmaktadır.

Ekzin tabakası daha dayanıklı bir tabaka olup, karetenoidlerin ve karoten esterlerinin oksidatif polimerizasyonu ile meydana gelen sporopollenin adlı bir maddeden

oluşmaktadır. Bu tabaka derişik asitler ile ani nem değişikliklerine dayanacak kadar sağlam ve esnektir.

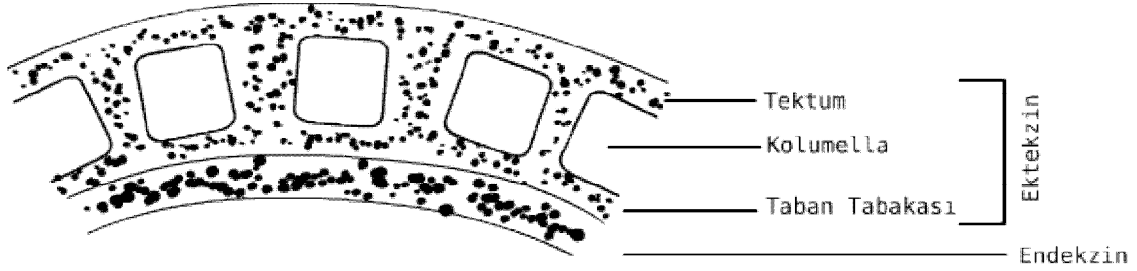
İntin ise asidik işlemlere duyarlı olan bir tabakadır. Yapısında temel olarak selüloz ve pektinler bulunmaktadır. Bu tabaka birçok proteinin ve enzimin biriktiği bir tabaka olup, kolayca zarar görebildiğinden birçok polenin tanımlanmasında ikinci düzeyde öneme sahiptir.

Polen dış duvarını meydana getiren ekzin tabakası ışık mikroskobu ile incelendiğinde, az çok homojen bir şekilde görünmesine rağmen, elektron mikroskobu ile gerçekleştirilen gözlemler, bu tabakanın homojen olmadığını ortaya koymuştur. Ekzin tabakasının çeşitli alt tabakalardan meydana geldiği, ilk olarak İsveçli araştırmacı Erdtman tarafından ortaya konmuştur. Daha sonra bu araştırmacının öğrencileri olan Faegri ve Iversen de bu tabaka üzerinde araştırmalar yaparak Erdtman dan farklı bir tabakalanma sistemi ortaya koymuşlardır. Buna göre ekzin tabakası ektekin ve endekzin adı verilen iki temel yapıdan oluşmaktadır. Ektekin ise kendi içerisinde tektum, kolumella ve taban tabakası adı verilen üç ayrı tabakadan oluştuğunu belirlemişlerdir. Çizelge 1.2’de hem Erdtman, hem de Faegri ve Iversen adlı araştırmacıların ortaya koymuş oldukları ekzin tabakalanma sistemi şematik halde gösterilmiştir.

Çizelge 1.2 Polen duvar tabakalarının iki farklı şekilde sınıflandırılması

Erdtman					Faegri & Iversen					
Sporoderm	Sklerin	Perin			Perin			Ekzin	Sklerin	Sporoderm
		Ekin	Ektosekin	Sekzin	Ektekin	Tektum				
			Endosekin			Kolumella				
		Ektonekin	Nekzin	Endekzin	Taban Tabakası					
	Endonekin									
İntin	İntin			İntin						

Bir polen yukarıda belirtilen tüm duvar tabakalarını içermek zorunda değildir. Bazı polenler bu tabakalardan bir ya da birkaç tanesinden yoksun olabilir. Bu nedenle polenler arasındaki bu farklılıkları tanımlamak için özel bir terminoloji kullanılmaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Polen duvarının şematik yapısı.

Ektekzinin dışında bulunan tektum tabakası her zaman devamlı değildir. Bazı durumlarda bu tabaka ve altında yer alan kolumella tabakası hiç bulunmazken (Etektat), intektat durumunda kolumella tabakası serbest haldedir. Semitektat tipte ise tektum kesikli olarak devam etmekte yer yer serbest kolumella elementleri bulunmaktadır. Tektat olarak tanımlanan tipte ise tektum tabakası bir bütün halinde ya da serbest kolumella elementi olmayacak şekilde boşluklu düzenlenmiştir. Yukarıda da bahsedildiği üzere, bu polen duvarlarının parçalanması ile dışarıya saçılan 1-2 μ çapındaki nişasta taneleri solunum alt yollarına giderek üzerinde bulunan duyarlı bireylerde alerjik hastalıklara neden olmaktadır.

1.2 Alerji Nedir?

Alerji terimi, ilk kez 1906 yılında Von Pirquet tarafından eski Yunanca 'da değişik iş veya değişik reaksiyon anlamına gelen iki kelimenin birleştirilmesi ile oluşturulmuştur. Alerji, bağışıklık sisteminin çevremizde bulunan bazı zararsız maddelere karşı (alerjen) aşırı şekilde ve anormal bir reaksiyon göstermesidir.

Alerjik hastalıkları tetikleyen iki temel unsur bulunmaktadır. Bunlar; doğuştan gelen ve değişmeyen genetik faktörler ile genetik faktörlerin etkilerini başlatan veya alerjiye neden olan kaynağı etkileyen hava kirliliği gibi çevresel faktörlerdir. Günümüzde,

dünyada alerji hastalıklarının görülme oranının %20-25 düzeyinde olduğu belirtilmektedir. Her şekilde alerji, kişinin yaşam standardını düşüren bir hastalık olarak tanımlanabilir [5].

Alerjik hastalıkların görülme sıklığı incelendiğinde, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de son yıllarda oldukça büyük bir artış gösterdiği bilinmektedir [6]. Bunun yanı sıra alerji ve atopi terimleri sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılmakla birlikte içerdikleri anlam farklıdır. Alerji; 1. tip aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak bilinir. Yani daha önceden duyarlı hale gelmiş bir bireyin duyarlı olduğu alerjenle yeniden karşılaşmasını takiben ortaya çıkan klinik bir tablodur. Diğer taraftan atopi; bir kişinin taşıdığı genetik özellikler nedeniyle alerji gelişimine eğilimli olması halidir. Söz konusu genetik yapı, alerjenlere karşı aşırı immün yanıt vermeyi belirlemektedir [7]. Tüm bunlar göz önüne alınarak, dünya da birçok ülke de aerobiyojik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

1.3 Literatür Özeti

Polenlerin insanlar üzerindeki alerjik etkilerinin ortaya konulması ile beraber, 20. yüzyılın başından itibaren atmosferdeki polenlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. David Douglas Cunningham, 1907 yılında yayımlandığı bir çalışmada Hindistan’daki özellikle hapisane gibi insanların yoğun olduğu bölgelerde havadaki mikroorganizmaların hastalıklara yol açtığını göstermiştir [8]. Cunningham çalışmalarında aeroconiscope adı verilen bir alet kullanmıştır. Bu alet ağız kısmında bir pervane olan diğer kısmında ise ince bir ağızlık bulunan bir cihazdır. Pervaneli kısımdan alınan hava, ağız kısmından çıkarak karşısında yer alan yapışkan bir lam üzerine atmosferde yer alan partikülleri toplamaktadır. Cunningham, 24 saatlik aralıklarla örnekleme yapmış ve çoğunlukla küf mantarı sporları ve polen tanelerinden oluşan yakaladığı partikülleri mikroskobik olarak incelemiştir.

Bununla birlikte Aerobiyoji konusunda en önemli gelişmelerden bir tanesi günümüzde halen yaygın bir şekilde kullanılan Hirst tuzaklarının geliştirilmesidir. Bu tuzak, İngiliz araştırmacı John Malcolm Hirst tarafından, patates tarlalarındaki *Phytophthora* sporangiyumlarını toplamak için geliştirmiştir. Ardından Mısır’da, İsveç’te bu tür

çalışmalar devam etmiştir [9,10]. Ardından dünyanın çeşitli bölgelerinde atmosferik polen ve sporlar bu cihaz ile incelenmeye başlanmış ve günümüzde de hala devam etmektedir.

Aerobioloji nispeten yeni bir bilim dalıdır. Dünyada Birinci Uluslararası Aerobioloji (Hava biyolojisi) Kongresi 13-14 Ağustos 1978 yılında Münih'te Federal Almanya Fizik Planlama ve Çevre Bakanlığı, Uluslararası Biyolojik Bilimler Birliği (İABS) ile Uluslararası Hava Biyolojisi Derneği (İAA) tarafından düzenlenmiştir [11]. Bu etkinlik, günümüzde de çeşitli ülkelerde farklı oturumlar ile devam etmektedir.

Ülkemizde aerobiolojik çalışmalar, yurt dışındaki çalışmalar ile hemen hemen eş zamanlı olarak başlamıştır. Özkaragöz 1966 yılında, Durham aleti adı verilen, polen ve sporları yer çekimi esasına göre toplayan bir cihaz kullanarak Ankara ili atmosferindeki alerjenik 55 polen türünü ve bunların polen saçma dönemlerini tanımlamıştır [12]. Ardından İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesinden Aytuğ ve arkadaşları 1974 yılında İstanbul polen takvimi ile ilgili bir çalışma yapmış, bu çalışmada İstanbul Belgrad ormanlarında 3 yıl boyunca atmosferde yer alan polenleri volümetrik yöntem ile tespit etmiştir [13]. Bu çalışmayı takiben Yurdukoru Samsun ilinde 2 yıl süre ile izleme yapmıştır [14]. Ege Üniversitesinden Gemici ve arkadaşları ise İzmir'de izleme çalışmaları yapmıştır [15]. İnce ve Pehlivan (1990), 1985-1986 yılı arasında Antalya-Serik havasının alerjenik polenleri ile ilgili bir çalışma yapmışlardır [16]. Ankara ilindeki çalışmalar 1990 yılından itibaren başlamış ve 1990-1993 yılları arasında Ankara atmosferinde gözlenen polen konsantrasyonu İnceoğlu ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır [17]. Sonraki yıllarda Kırıkkale, Elazığ, Kayseri, Sivas, Aksaray, Ankara-Beytepe, İzmir, İzmir-Buca, Erzincan, Adana, Bartın, Zonguldak, Bilecik, Bilecik-Bozüyük, Çanakkale, Denizli, Samsun, Düzce, Karabük, Şanlıurfa, Çanakkale-Bozcaada, Trabzon, Diyarbakır, Kastamonu ve Eskişehir-Sivrihisar polen takvimleri çalışmaları tamamlanmıştır [1]. Ülkemizde atmosferik polen çalışmalarında öne çıkan bazı yayınlar şu şekildedir;

Ankara üniversitesi Pınar N.M ve arkadaşları tarafından, Atmosferik çalışmalarda başta Ankara ili olmak üzere Kastamonu[18], Adana[19], Samsun [20], Kırşehir, Kayseri,

Gümüşhane, Giresun, Sinop, Artvin, Çankırı, Niğde, Diyarbakır ili atmosferindeki birçok polen ve spor türünün izlemesini gerçekleştirmişlerdir.

Ülkemizdeki atmosferik polen çalışmalarında öne çıkan diğer bir üniversite, Uludağ Üniversitesi'dir. Bıçakçı ve arkadaşları tarafından 1991 yılında atmosferik çalışmalara başlamış olup bugüne kadar Bursa il merkezi ile İnegöl, Mudanya, Bursa Görükle Uludağ Üniversitesi Kampüsü, Mustafa Kemalpaşa, İznik ve Keles gibi ilçe ve merkezlerin atmosferindeki polen dağılımı belirleme çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Yine aynı ekip tarafından ülkemizin çeşitli merkezlerinin iş birliği ile yürütülen diğer polen çalışmaları ile Isparta, Balıkesir, Burdur, Afyon, Edirne, Uşak, Eskişehir, Kütahya, Rize, Bitlis, Manisa, Sakarya, Didim, Fethiye, Savaş Tepe, İstanbul ve Yalova gibi birçok il ve ilçe merkezlerinin polen çalışmaları tamamlamışlardır [1].

Kastamonu Üniversitesi Çeter T. ve arkadaşları tarafından, Kastamonu [21], Niğde, Ankara, Çankırı, Aksaray, Giresun, Sinop, Artvin, Gümüşhane, Kayseri, Adana, Samsun atmosferik çalışmaları ile literatüre katkı sağlamıştır.

Zonguldak ilindeki atmosferik polen çalışmaları, Kaplan ve arkadaşları tarafından başlatılmış ve 2001-2002 yıllarını kapsayan dönemde Zonguldak ilindeki atmosferik polen taneleri gravimetrik Durham cihazı ile çalışılmıştır [22]. Ardından 2003-2004 yıllarını kapsayan Zonguldak ili atmosferinin polen ve spor analizini Alan (2004) tarafından gerçekleştirilmiştir [23]. Zonguldak ilinde volümetrik Hirst tuzağı ile gerçekleştirilen ilk çalışma 2007-2009 yılları arasını kapsayan ve Özdoğan tarafından gerçekleştirilen doktora tezidir.

Bununla beraber, aerobiolojinin kapsamı son yıllarda farklı biyolojik parçacıkları içerisine alacak şekilde genişlemiştir. Özellikle polen dışı alerjen parçacıkları olarak ifade edilen serbest ya da nişasta taneleri ile taşınan alerjen moleküllerin astıma neden olduğunun gösterilmesi ile beraber, 2000'li yıllardan sonra atmosferden alerjenlerin analizine yönelik çalışmalar başlamış ve günümüzde hız kazanmıştır. Atmosferdeki aerosollerden alerjenlerin belirlenmesine yönelik öncü çalışmalar Schäppi et al. tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmasında atmosferdeki Bet v 1 ile Phl p 5 alerjen konsantrasyonlarını incelemiş, polen sayıları ile alerjen konsantrasyonu arasında

korelasyon olduğunu belirtmiştir [24]. Yine Yli□Panula ve Rantio□Lehtimäki (1995) iç ortam havasında yer alan Bet v 1 miktarlarını belirlemiştir [25].

İlerleyen dönemlerde atmosferdeki alerjenlerin belirlenmesine yönelik uluslararası projeler de hayata geçmiştir. Bunlardan Avrupa Birliği tarafından desteklenen MONALISA projesi 2008 yılında tamamlanmıştır. Coriolis cihazı ile gerçekleştirilen projede atmosferik hava, bir sıvı içerisine toplanmıştır. 8 Avrupa ülkesinin katılımıyla gerçekleştirilen projede alerjenler, ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. Proje sonucunda atmosferden alerjenlerin belirlenmesi yönteminin optimizasyonu ile ilgili önemli sonuçlar elde edilmiştir [26].

Bu projenin ardılı olarak tasarlanan ve kısaltması HIALINE olan başka bir geniş katılımlı projede, Bet v1, Phl p 5 ve Ole e 1 alerjenleri atmosferde izlenmiştir. Bu projede, tez çalışmasında kullanılan cihaza benzer, kademeli yüksek hacimli hava örnekleyicisi kullanılmıştır. Proje sonucunda atmosferdeki birim polenin ihtiva ettiği alerjen miktarının yıllara ve istasyonlara göre büyük oranda değiştiği belirlenmiştir [27]. Bu projelerin ardından birçok bölgede gerek yüksek hacimli hava örnekleyicileri gerekse de düşük hacimli hava örnekleyicileri ile atmosferik alerjen izleme çalışmaları yaygınlaşmıştır. Bunlardan öne çıkanlardan bir tanesi, İspanya’da gerçekleştirilen ve yukarıda bahsedilen iki yöntemin karşılaştırıldığı çalışmadır [28]. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, örnekleme yönteminin polen ve alerjenler arasındaki korelasyonda belirgin bir farklılığa yol açmadığı belirlenmiştir. Ayrıca bu tez kapsamında çalışılan alerjenlerden olan Amb a 1 ile yapılan bir çalışmada, bu alerjenin havada dönemler şeklinde görüldüğü belirlenmiştir [29].

Ülkemizde atmosferik aeroalerjen çalışmaları HIALINE projesi ile başlamıştır. Bu proje ekibinde yer alan Uludağ Üniversitesi, Bursa ili atmosferindeki Phl p 5 ve Ole e 1 alerjenlerini çalışmıştır. Ardından bu tez çalışmasının da bir parçası olduğu bir TÜBİTAK Projesinde Ankara ve Zonguldak illerinde üç alerjen (Bet v 1, Phl p 5 ve Amb a 1) çalışılmıştır.

Tez kapsamında çalışılan alerjenlerden Bet v 1, ilk cDNA’sı belirlenen alerjendir. Bu alerjen özellikle Kuzey Avrupa ülkelerinde yaygın bir şekilde yetişen *Betula pendula*

Roth. (Syn. *Betula verrucosa*) polenlerinden izole edilen ve 160 aminoasitten oluşan, 17 kDa molekül ağırlığındaki bir proteindir. Bu alerjen, *Betula* poleni kaynaklı alerjilerin %90'dan fazla bir kısmından sorumludur. Bet v 1 alerjeni patojen enfeksiyonuna bağlı olarak üretilen bir proteinle sekans benzerliği göstermektedir. Patojene bağlı proteinler bitkilerde savunma mekanizmasının bir parçası olarak biriktirilmektedir. Bu proteinlerin üretimi aynı zamanda bakteri, mantar enfeksiyonları ile de uyarılmaktadır [30]. Ayrıca sağlıklı bitkilerde bu proteinlerin üretimi bitki hormonları ile bazı kimyasal maddeler tarafından da uyarılabilmektedir [31–33]. Patojen bağlantılı proteinler, sağlıklı bitkilerin düşük konsantrasyonlarda çiçeklenme ve yaşlanma süreçlerinde belirlenmiştir. Bazı nematod ve mite enfeksiyonlarının da bu proteinlerin üretimini uyardığına dair çalışmalar bulunmaktadır [34].

Tez kapsamında çalışılan bir diğer alerjen ise Poaceae familyasında yer alan *Phleum pratense* bitkisinden izole edilen Phl p 5 alerjenidir. Bu alerjen Poaceae familyası kaynaklı alerjilerin neredeyse %90'ından sorumludur [35]. Phl p 5 alerjeni, Grup 5 alerjenlerine dahil olup *Lolium perenne*'den Lol p 1 gibi diğer polen alerjenleri ile yüksek oranda sekans benzerliğini paylaşmaktadır. Bu alerjen, 287 aminoasitten oluşmakta ve 32 kDa molekül ağırlığına sahiptir. Ayrıca Grup 5 alerjenlerinin ribonükleaz aktivitesi gösterdiği bilinmektedir [36]. Phl p 5 alerjeninin ait olduğu Poaceae familyası, çimen polenlerini temsil etmekte ve bu polenler dünyanın birçok yerinde polinozisin ana nedeni olarak kabul edilmektedir. Her ne kadar bölgesel frekansları farklı olsa da çimen kaynaklı polinozis Avrupa'da en sık karşılaşılan polen alerjisi türüdür. Bu polen alerjenlerine duyarlı hastaların % 95'i Grup 1'e, % 80'ni Grup 5'e duyarlıdır. Çimen polenlerinin antijenleri diğer polen antijenleri gibi ağız, burun veya göz mukozasıyla temas ettiğinde hızlı bir şekilde salınarak, duyarlı hastalarda saman nezlesi semptomlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak atmosferdeki çimen polen konsantrasyonu duyarlı hastalarda semptomların artışını etkilemektedir. İngiltere 'de yapılan bir çalışmada saman nezlesi semptomlarının görünürlüğünü tetikleyebilen en düşük atmosferik çimen poleni konsantrasyonunun 10-50 polen / m³ olduğu gösterilmiştir [37].

Tez kapsamında atmosferden çalışılan son alerjen ise *Ambrosia artemisiifolia* L. bitkisi tarafından üretilen Amb a 1 alerjenidir. Ülkemizde bu bitkinin üç türü (*A. artemisiifolia*-

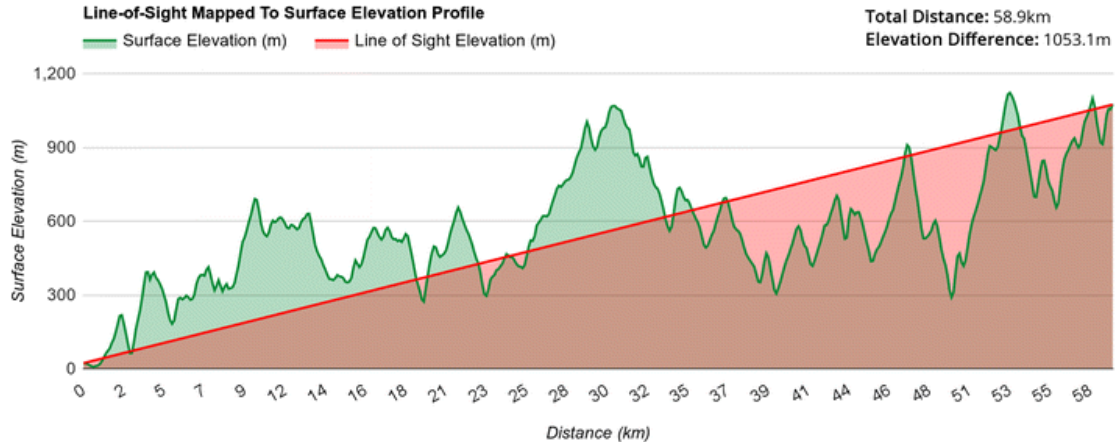
Karadeniz’de, *A. maritima* - Akdeniz’de, *A. tenuifolia*-Malatya’da) yayılış göstermektedir. *A. artemisiifolia* bitkisinin polenleri ülkemizdeki birçok çalışmada izlenmekle beraber, bitkinin varlığı ancak son yıllarda belirlenmiş ve bitki Trakya bölgesi ile beraber Zonguldak’ın komşu ili Düzce’de de gözlemlenmiştir [38–41]. *A. artemisiifolia* bitkisi çok fazla tohum ve polen üretmesi ve bunların uzun mesafelere taşınması, istilacı olması ile beraber polenlerinin oldukça alerjenik olmasından dolayı özellikle üzerinde durulan bir bitkidir. Polen alerjenlerinden bazılarının enzim olarak iş gördüğü ya da enzimlerle yüksek derecede sekans benzerliklerine sahip olduğu gösterilmiştir. *A. artemisiifolia*’dan elde edilen Amb a 1, mantar pektat liyaz enzimi ile %45 sekans benzerliği göstermektedir [42]. *A. artemisiifolia* poleninde ki bazı bileşenlerin sistatin benzeri bir sistein proteaz inhibitörüne sahip olduğu da gösterilmiştir[43].

BÖLÜM 2

MATERYAL ve METOT

2.1 Araştırma Bölgesinin Konumu

Zonguldak ili, Batı Karadeniz Bölgesi'nde, 45,5° Kuzey, 31,8 ° Doğu enlemleri arasında yer almaktadır. Denize kıyısı olan bir il olmak ile birlikte, şehir merkezinin yüksekliği deniz seviyesi ile 150 m arasında değişmektedir. Deniz seviyesinden güneye doğru gidildikçe yükseklik hızla artmaktadır [36]. Zonguldak, 3481 km² 'lik yüz ölçümüyle Türkiye topraklarının binde altısını kaplamaktadır. Karadeniz kıyılarından başlayan il toprakları, kuzeyden Karadeniz, kuzeydoğudan Bartın, doğudan Karabük, güneyden Bolu, batıdan ise Düzce illeri ile çevrilidir [44]. Zonguldak ili, Merkez ilçe, Alaplı, Çaycuma, Gökçebey, Devrek ve Karadeniz Ereğli ilçelerinden oluşmaktadır [23].



Şekil 2.1 Zonguldak ilinin güneye doğru yükselti profili.

2.2 Araştırma Bölgesinin Coğrafi Yapısı

Zonguldak ilinin Jeomorfolojik yapı bakımından engebeli bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. İl alanının % 56'sı dağlar ile kaplı iken, %31'i platolar, %13'ü ise ovalar

ile kaplıdır. Akarsu vadileri ile yer yer parçalanmış olan il toprakları, orta yükseklikteki dağlardan oluşmaktadır [23]. Dağlar hiç bir yerde 2000m'yi aşmamaktadır. En yüksek dağlarından bazıları Bacaklıyayla tepesi (1637m) ve Soğukoluk tepesi (1268m)'dir. En önemli akarsuları ise Filyos çayı, Güllük, Alaplı çayları ve Üzülmez deresidir [45]. Dağlar kıyıya paralel üç sıradan oluştuğundan, kıyı ile iç kesimler arasında ulaşım oldukça zordur (Şekil 2.1). Kıyıya yakın yükseltilerin oluşturduğu dağ sırasının altında zengin taş kömürü yatakları vardır.

Zonguldak il toprakları sıkı bir vadi ağı ile parçalanmıştır. Bu vadiler kimi kesimlerde genişleyerek düzlükler oluştursa da il de büyük denebilecek bir ova yer almamaktadır. Çatalağzı ile Değirmenağzı ırmakları arasında bulunan Zonguldak, metropolit alanı yaklaşık 80 km²'dir [46]. Bitki coğrafyası olarak Avrupa - Sibiryaya fitocoğrafik bölgesinin öksin zonunda yer almaktadır. Zonguldak-Kozlu sert kömür havzası, Kuzey Anadolu Dağları boyunca çeşitli faylar ve topoğrafik düzensizliklerden oluşan geç Paleozoyik-Mesozoyik çağın bir oluşumudur [47].

2.3 Araştırma Bölgesinin Bitki Örtüsü

Karadeniz Bölgesi özellikle yapraklı ormanların yer alması açısından oldukça önemli bir değere sahiptir. Zonguldak il topraklarının %52' si ormanlar ile kaplı olmak ile birlikte, ormanlar Merkez ilçe, Devrek, Karadeniz Ereğli, Alaplı ilçelerinde yoğunlaşmış durumdadır. 180.000 ha'lık bu alanın %94'ünü koruluklar, %6'sını da baltalık alanlar oluşturmaktadır. Geriye kalan %48'lik alan ise fundalık ve çayırılık alanlardan oluşmaktadır. *Carpinus betulus* L., *Platanus orientalis* L., *Fagus orientalis* Lipsky., *Alnus orientalis* Decne., *Corylus colurna* L., *Ostrya carpinifolia* Scop., *Tilia tomentosa* Moench, *Castanea sativa* Miller., gibi yaprak döken ağaçlar yoğun olarak görülmek ile birlikte, bunlar ormanlık alanının %70'ini kapsamaktadır [23]. Ormanlık alanın geriye kalan %30'luk kısmını ise iğne yapraklı türler oluştururken, bunlardan en yoğun görülenleri; *Pinus nigra* subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe'dır [48].

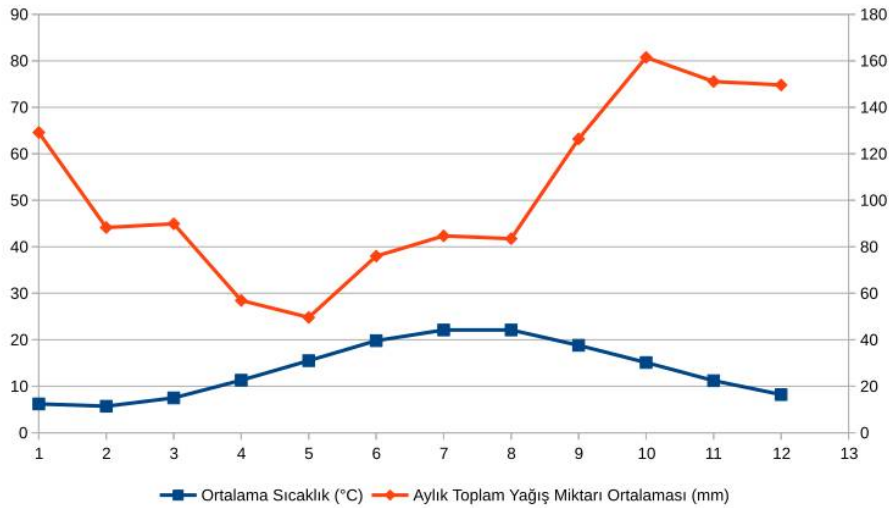
Sahil kenarına yakın bölgeler de ise *Cistus creticus*, *Cistus salviifolius*, *Hypericum calycinum*, *Pinus pinaster*, *Antirrhinum majus*, gibi türler bulunmaktadır. Bununla beraber Zonguldak'ın doğal vejetasyonuna ek olarak park ve bahçelerde ise *Cornus mas*

L., *Olea europaea* L., *Salix babylonica* L., *Thuja* sp. L., *Juglans regia* L., *Cedrus libani* A.Rich., *Cupressus sempervirens* L., *Fraxinus excelsior* L. gibi türler yer almaktadır [23].

2.4 Araştırma Bölgesinin İklimi

Dünya üzerindeki ekosistemlerin gelişmesinde iklimin önemli bir etkisi vardır. Bitki ve hayvan türlerinin hayatlarını devam ettirebilmeleri için çeşitli iklim şartlarına olan dayanıklılıkları oldukça önemlidir. Yerküre üzerinde yer alan bazı bitki toplulukları ile karakterize edilen iklimler mevcuttur [44].

Zonguldak'ta, dağlar kıyıya paralel yer aldığından, kıyılardan iç kesimlere gidildikçe iklim yapısında önemli değişiklikler görülmektedir. Bu iklim değişimlerinden yola çıkılarak Zonguldak ilinin kuzeyinden güneyine doğru Oseyanik iklim görülmele birlikte, farklı vejetasyon tipleri de görülmektedir [48].



Şekil 2.2 Zonguldak ilinin mevsim normalleri temel alınarak çizilmiş ombrotermik diyagramı.

Zonguldak ilinin her mevsimi yağışlı ve ılık olmak ile birlikte, kurak bir mevsime rastlanılmamaktadır (Şekil 2.2) [49]. En çok yağışı, kışın ve sonbaharda almaktadır. İlde mevsimsel ve gece-gündüz olarak önemli bir sıcaklık farkı bulunmamaktadır. Deniz kenarlarından iç kesimlere gidildikçe iklim biraz daha sertleşmekte ancak kıyı

kesimlerde sıcaklık -10°C den aşağı dūřmemektedir. Haziran, Temmuz, Ađustos ayları en sıcak aylar olarak görülmektedir. Bu aylarda deniz sıcaklığı ise ortalama olarak 20°C zerindedir. Yıllık ortalama sıcaklık $13,4^{\circ}\text{C}$, yıllık ortalama yağış $1184,4\text{ kg/cm}^2$ 'dir, yıllık ortalama nem ise %66'dır [45].

2.5 Zonguldak Aerobiyoloji Gözlem İstasyonu

Tez alışması Zonguldak il merkezinde kurulan bir aerobiyoloji gözlem istasyonundan elde edilen veriler ile hazırlanmıştır. Bu gözlem istasyonu, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Farabi Kampüsü'nde yer alan İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Binası çatısında yerden yaklaşık olarak 48m ykseklige konumlandırılmıştır (izelge 2.1).

Çizelge 2.1 Tez kapsamında kurulan Zonguldak Aerobiyoloji Gözlem İstasyonuna ait bilgiler.

No	İstasyon Adı	Koordinatlar		Ykseklilik	Adres
		N	E		
1	Zonguldak	41°27'13.3"	31°45'42.4"	48 m	BE, İBF Binası

Bu binanın seçilmesinin nedeni, hem nnn açık olması hem de filtre ve melineks bant değişimlerinin kolay olmasıdır. Gözlem istasyonu, bir tanesi Hirst polen ve spor tuzağı (Burkard) diğeri ise Kademeli Yüksek Hava rnekleyicisinden (YHH) (MesaLab BGI900) olmak üzere iki rnekleyiciden oluşmaktadır. Bu cihazlar, gözlem istasyonunda birbirlerinden en az 5 metre aralıkla yerleştirilmiştir. Bu sayede birbirlerinin örnekleme verimlerini etkilemeleri engellenmiştir (şekil 2.3). Ayrıca, her iki cihazında hava emme açıklıklarının aynı yükseltide olması sağlanarak homojen bir örnekleme yapılmasına gayret edilmiştir.



Şekil 2.3 Zonguldak Aerobioloji Gözlem İstasyonunda yer alan örnekleyiciler.

2.6 Atmosferik Polen Örneklerinin Hirst polen ve spor tuzağı (Burkard) ile Toplanması

Burkard cihazı, ön kısmında yer alan, 14 mm eninde, 2 mm genişliğinde dikdörtgen şekilli bir açıklıktan, 24 saatte 14,4 metreküp, saatte ise 10 metreküp (0,6), dakikada ise 10 litre hava çekmektedir. Atmosferden çekilen bu hava içerisindeki polen ve sporlar, açıklığın karşısında bulunan zemberek mekanizması üzerindeki yapıştırıcı ortam sürülmüş, şeffaf bir bant üzerine toplanmaktadır. Bu zemberek 1 saatte 2 mm, 24 saatte 48 mm yol kat ederek, devrimini 1 haftada tamamlamaktadır. Bant üzerine polen ve sporların yapışması için Mowiol adı verilen bir karışım sürülmektedir. Bu karışım bir fırça yardımı ile ince bir tabaka halinde uygulanmıştır. Daha sonra bandın sarılı olduğu tambur, Burkard cihazının içerisindeki disk üzerine yerleştirilmiş ve bir haftalık devimini sağlamak için özel bir anahtar ile kurulmuştur. Bir haftanın sonunda tambur, yeni bir tambur ile değiştirilmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 a. Burkard Cihazının genel görüntüsü, b. Burkard cihazının içerisinde yer alan ve şeffaf bandın sarıldığı döner disk.

2.6.1 Atmosferik Polen Örneklerinin Preparat Haline Getirilmesi

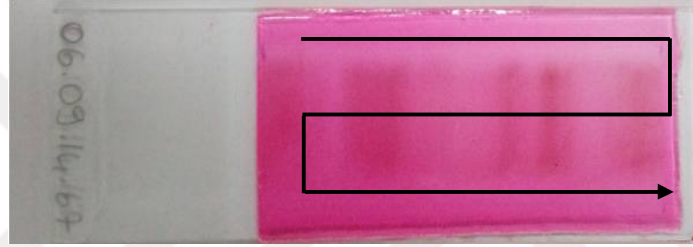
Melineks bant, her biri 1 güne karşılık gelen 48 mm boyunda 7 eşit parçaya bölünmüştür. Bölme işleminin doğru yapılması için bant, 48 mm aralıklarla işaretlenmiş plastik bir blok üzerine konularak işaretli bölgelerden kesilmiştir. Kesilen şeritler, gliserin-jelatin karışımı sürülmüş temiz bir lam üzerine dikkatli bir şekilde yapıştırıldıktan sonra, üzerine safraninli gliserin-jelatin karışımı damlatılarak temiz bir 24x50 mm'lik lamel ile kırk beş derecelik açıyla hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılarak preparat haline getirilmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Burkard preparatlarının hazırlanması.

2.6.2 Hirst polen ve spor tuzağı (Burkard) Preparatlarının Sayımı

Burkard cihazından elde edilen polen örneklerinin analizi, Nikon Eclips 200 marka ve model ışık mikroskobu yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Polenlerin teşhisinde çeşitli kitap ve atlasların yanı sıra, daha önceden hazırlanmış olan referans preparatlarından yararlanılmıştır. *Ambrosia* cinsi ile birlikte Poaceae ve Betulaceae familyalarına ait polenlerin sayımı tüm lam alanının sayılması ile belirlenmiştir. Polenlerin sayımı, lamın başlangıç köşesinden başlanarak tüm alandaki polenlerin x40 büyütmeyle sahip objektif ve x10 büyütmeyle sahip oküler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Polenlerin sayımı için kullanılan tam alan sayım metodunun şematize gösterimi.

Burkard cihazı günlük 14,4 metreküp hava çektiğinden, preparatların sayımı ile elde edilen rakam, 14,4'e bölünerek, bir metreküp havada bulunan polen sayısına dönüştürülmüştür. Bu katsayı, Burkard cihazının 24 saat boyunca çektiği metreküp cinsinden hava miktarına karşılık gelmektedir.

2.6.3 Atmosferik Alerjenlerin Toplanması

Atmosferik alerjenlerin toplanması için, 113Z762 numaralı TÜBİTAK projesi ile edinilen BGI900 Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi (Şekil 2.7) kullanılmıştır.



Şekil 2.7 BGI 900 Kademeli Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi.

Bu cihaz, üst üste yer alan ve her biri farklı büyüklükteki partikülleri tutan katmanlardan meydana gelmektedir. Cihaz, havadaki partikülleri poliüretan filtreler üzerine toplamaktadır. Cihazın üst katmanı $10\ \mu\text{m}$ 'den büyük olan partikülleri ($\text{PM} > 10$) toplarken, altta yer alan katman büyüklüğü $10 - 2,5\ \mu\text{m}$ olan partikülleri ($10 > \text{PM} > 2.5$) toplamaktadır (Şekil 2.8).

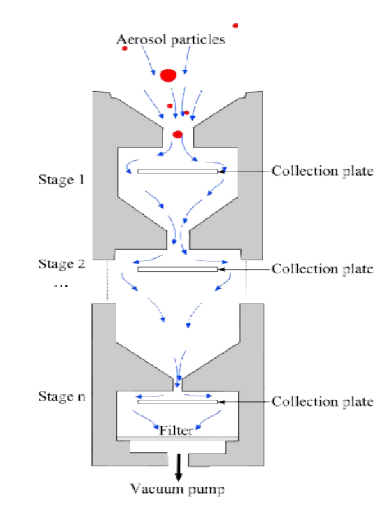


Şekil 2.8 Soldan sağa doğru alerjenlerin toplanmasında kullanılan $PM>10$ ve $10>PM>2.5$ poliüretan filtreler.

Cihaz dakikada 900 L hava emme kapasitesinde olup, hava blower adı verilen özel bir elektrik motoru ile sağlanmaktadır. Motor en üstte yer alan katmanın olduğu bölgeden emilen havayı, her bir kademenin üzerinde bulunan ve belli bir açı ile konumlandırılmış yarıklar üzerinden akmasını sağlayarak, poliüretan filtreler yönlendirmektedir (Şekil 2.9).



a



b

Şekil 2.9 a. Blower, b. Kademeli Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi'nin boyuna kesiti

Bu sayede partikül büyüklüğü kademenin tutma eşiğinden küçük olanlar filtre üzerinden sekerek bir alt katmana geçmekte ve geri kalanlar aynı prensip ile kademeli olarak filtrelenmektedir.

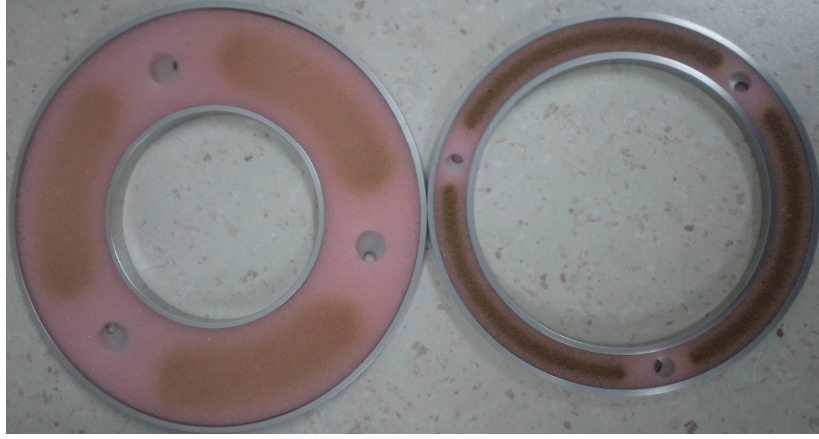
Tez çalışması boyunca, poliüretan filtreler 2015 yılının Mart-Ekim ayları arasında her gün öğlen saat 12:00'da değiştirilmiştir. Filtreler değişiminin hemen öncesinde laboratuvar ortamında hem $PM_{>10}$ hem de $10 > PM_{>2.5}$ filtrelerin boş ağırlıkları tartılarak bir bulut ortamına kaydedilmiştir (Şekil 2.10). Cihaz yüksek miktarda hava çektiği için katmanlarda biriken kurum ve benzeri partiküllerin kontaminasyona sebep olmaması için filtrelerin değişimi sırasında kasetlerde biriken kurum, toz ve partiküller ıslak mendil ile silinmiş, ayrıca toz ile çamur birikintisi olmaması için kâğıt havlu ile kurulanmıştır.



Şekil 2.10 a. $PM_{>10}$, b. $10 > PM_{>2.5}$ Poliüretan filtrelerin boş ağırlıklarının tartımı.

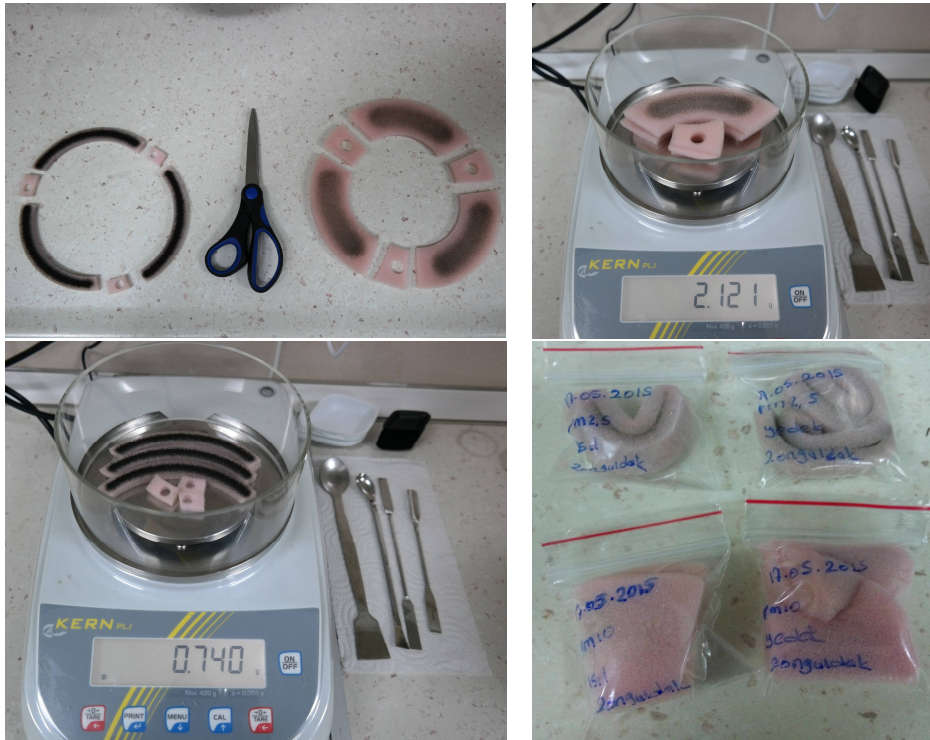
2.6.4 Kademeli Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi ile Toplanan Aeroalerjenlerin Analiz için Hazırlanması

Değişimden sonra laboratuvara getirilen filtreler, nem içeriklerine bağlı olarak 1 - 4 saat boyunca oda ısısında bekletilerek nem dengesinin oda koşullarına gelmesi sağlanmıştır (Şekil 2.11). Ayrıca filtreler yağmur ve benzeri durumlarda çok fazla ıslandığından proteinlerin bozulma ihtimaline karşı filtreler, 1 - 4 saat süre ile 25 °C'lik etüvde filtrelerdeki nemin uzaklaşması için bekletilmiştir.



Şekil 2.11 Değişim sonrası laboratuvara getirilen kirli filtrelerin, nem dengesini sağlamak için bekletilmesi.

Daha sonra filtreler ($PM>10$, $10>PM>2.5$) vida sıkıştırma yerlerinden üç eşit parçaya bölünerek, toplanan partikül miktarının belirlenmesi için bir kez daha tartılmıştır (Şekil 2.12). Tartımın ardından filtrelerin dolu ağırlıkları da bulut ortamına kaydedilmiştir. Bu şekilde, filtrelerin hem boş hem de dolu ağırlıklarını bulut ortamından takip ederek atmosferde yer alan partiküllerin günlük olarak ne kadar değiştiği de izlenmiştir.



Şekil 2.12 $PM>10$, $10>PM>2.5$ filtre parçalarının vida yerlerinden kesimi, dolu ağırlıklarının tartımı ve saklanması.

Üç eşit parçaya bölünen filtrelerden her katman için biri yedek, diğer ikisi analiz edilmek üzere, üzerinde o günün tarihi ve filtrenin büyüklüğünün ($PM > 10 \mu m$ ve $10 \mu m > PM > 2.5 \mu m$) yer aldığı ayrı kilitli poşetlere konarak, kullanılmaya kadar $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ de saklanmıştır (Şekil 2.12).

2.6.5 Filtrelerin Özütlenmesi ve ELISA Analizi için Hazırlanması

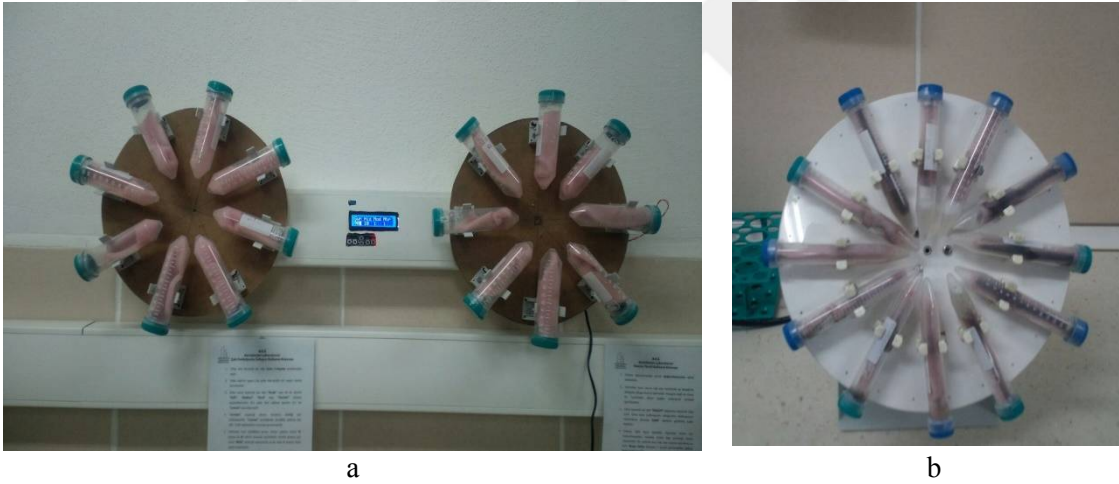
Filtrelerin özütlenmesi için iki farklı yöntem denenmiştir. Bunlardan bir tanesi filtre parçalarının 10 ml kapasiteli bir enjektör içerisine konularak 5 ml örnekleme tamponu ile 5 dk boyunca enjeksiyon haznesinin doldurulup boşaltılmasıdır. Bu yöntem daha az özütlenme tamponu kullanılması açısından avantajlıdır. Diğer ise filtre parçalarının döner karıştırıcı ile 4 saat süre çalkalanmasıdır.

İkinci yöntem HIALINE projesinde de kullanılan yöntem olması nedeni ile denenmiştir. Aynı güne ait bir filtre parçası boyuna eşit bir şekilde bölünmüş ve iki yöntemle de özütlenmiştir. Sonuçta elde edilen sıvılar santrifüj edilerek, toplam protein miktarları florometrik olarak ölçülmüştür. Ölçüm sonucunda, döner karıştırıcı ile özütlenen filtre parçalarının daha yoğun miktarda protein içerdiği belirlenmiştir. Ancak toplam protein içeriğinin her zaman alerjen miktarını ifade edemeyebileceği göz önüne alınarak bu örneklerin içerdikleri Bet v 1 miktarları ELISA yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta yine döner karıştırıcı ile yapılan özütlemenin daha etkili olduğu görüldüğünden, HIALINE projesinde kullanılan yöntem tercih edilmiştir. Bu yöntemin detayları aşağıda sunulmuştur.

Çizelge 2.2 Filtrelerin özütlenmesi için kullanılan tamponlar ve tüp başına kullanılan tampon miktarları.

	Tampon	Miktar (ml)
PM>10	+ BSA (%0,1)	15 ml
10>PM>2.5	+ BSA (%0,1)	6 ml

Her güne ve her katmana ait iki parçaya özütleme işlemi uygulanmış, diğer parça ise yedek olarak saklanmıştır. Her bir $PM > 10$ filtre parçası 50 ml'lik kapaklı santrifüj tüpleri içerisine 15 ml, her bir $10 > PM > 2.5$ filtre parçası için ise 15 ml lik kapaklı santrifüj tüpleri içerisine 6 ml 0,1 M'lık Amonyum bikarbonat tamponu (PH 8.1) ilave edilmiştir (Çizelge 2.2). Özütleme için kullanılan, Amonyum bikarbonat tamponunun tamponun içeriği Ek A'da sunulmuştur. Tüpler üzerine ait oldukları tarihler yazılarak ağızları sıkıca kapatılmıştır. Daha sonra tüplerin ağızlarının sızdırma ihtimaline karşı parafilm ile sıkıca sarılmıştır. Ağızları iyice kapatılan tüpler, tamponun filtre yüzeyindeki partiküllere homojen dağılması için 1-2 dk. vortekslenmiştir. Ardından örneklerin karanlık bir ortamda özütlenmeleri için her bir tüp alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra tüpler, dakikada 60 devir yapan bir döner karıştırıcı ile oda ısısında 4 saat boyunca özütleme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.13). Özütleme işleminin ardından tüpler tekrardan vortekslenmiştir.



Şekil 2.13 $PM > 10$ ve $10 > PM > 2.5$ filtrelerinin özütleme aşaması.

Özütleme işlemi biten filtreler tüpler içerisinden çıkartılarak, her bir filtre parçası bir enjektör içerisine konularak emmiş oldukları tampondan ayrılmaları ve iyice süzülmeleri sağlanmıştır. Kontaminasyon olmaması için her bir filtre parçasında enjektör değiştirilmiştir. Daha sonra bu sıvılar her bir $PM > 10$ filtre parçası için 10 ml 'lik tüplere 5 er ml olacak şekilde üç alikota (bölüntü) bölünürken, $10 > PM > 2.5$ filtre parçası için ise 6 ml kullanıldığından herhangi bir bölme işlemi uygulanmadan tamamı 10 ml lik tüplere konmuştur. Ardından, 10 ml lik tüplere bölünen sıvılar 6000 rpm'de 4

dakika boyunca santrifüj edilerek içerisindeki kaba parçalardan ayrılması sağlanmıştır. Süpernatant kısmı önceden üzerlerine tarih, filtre boyutu ($PM > 10 - 10 > PM > 2.5$), tüp numarası ve istasyon adı yazan etiket yapıştırılmış 8 ml lik cam filakonlara, 5'er ml olacak şekilde bölünmüştür. Bu sıvıların cam filakonlara konulmadan hemen önce filakonların diplerine alerjen örneklerin bozulmaması ve alerjen kararlılığının artırılması için 2'şer mikrolitre %10 luk BSA çözeltilisi konulmuştur.



Şekil 2.14 $PM > 10$ ve $10 > PM > 2.5$ Hava örneklerinin liyofilize edilmesi.

Flakonlar ortası delik bir kapak ile kapatıldıktan sonra, en az bir gece $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ de iyice donması sağlanmıştır. Ardından Telstar marka liyofilizatör kullanılarak 24 saat boyunca liyofilize edilmiştir (Şekil 2.14). Liyofilizasyon için kullanılan program Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3 Örneklerin liyofilize edilmesinde kullanılan program.

No	Aşama	Vakum (mbar)	Süre (saat)	Raf Sıcaklığı (°C)
1	Vakum ve Soğutma	0,200	0,5	-
2	Vakum + Raf ısıtma	0,200	1	20
3	Vakum + Raf ısıtma	0,200	12	20
4	Vakum + Raf ısıtma	0,200	12	25

Liyofilizasyon işleminden sonra örneklerin nem almaması için, ağızları sıkı bir şekilde kapatılarak, kullanılana kadar -20 °C’de saklanmıştır. Her güne ait PM>10 filtresi için 6 tüp hazırlanırken, 10>PM>2.5 filtreleri için ise 2 tüp hazırlanmıştır. Herhangi bir aksilik olması durumuna karşı PM>10 filtrelerine ait liyofilize tüplerden 2 tanesi yedek olarak ayrılırken, 10>PM>2.5 filtrelerine ait olanlardan ise 1 tanesi yedek olarak ayrılmıştır.

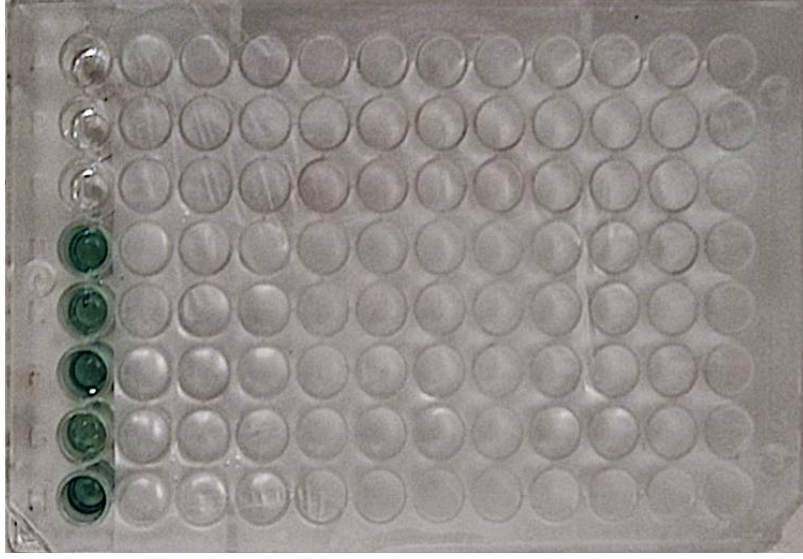
2.6.6 ELISA Analizinin Optimizasyon İşleminin Gerçekleştirilmesi

Tez kapsamında Zonguldak atmosferinde yer alan Bet v 1, Phl p 5 ve Amb a 1 alerjenlerinin ölçülmesi amacıyla kullanılacak olan ELISA kitlerinin alım işlemi, örnekleyicilerin kurulmasının hemen ardından gerçekleştirilmiştir. Kitlerin son kullanım ömürleri olduğundan, optimizasyon işlemleri için şu şekilde bir yol izlenmiştir. ELISA kitlerinin bozulmadan ulaştığının ve yöntemin kit ile uygunluğunun belirlenmesi amacıyla ön optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla Betulaceae familyası polenlerinin atmosferde yer almadığı Kasım ayına bir gün negatif kontrol olarak çalıştırılmış ve bir sonraki gün ise cihazın yanında daha önceden arazi çalışmalarında toplanan *Betula pendula* polenleri uçurulmuştur. Bu iki günden elde edilen filtreler ile 2 farklı özütleme yönteminin karşılaştırılması ve ELISA kitlerinin optimizasyonu için sırası ile negatif ve pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. ELISA plağındaki ekim sırası Çizelge 2.4’de verilmiştir.

Çizelge 2.4 Ön denemede kullanılan örnekler ve ELISA sonuçları

Kuyucuk No	Filtre	Denemeler	Kontrol	Yöntem	Absorbans Değeri (405 nm)
A1	PM>10	Polen uçurulmayan	Negatif	Rotator	0,037
B1	PM>10	Polen uçurulmayan	Negatif	Şırınga	0,042
C1	PM>10	PBS tamponu	Negatif	Kontrol	0,007
D1	PM>10	Polen uçurulan	Pozitif	Rotator	0,026
E1	PM>10	Polen uçurulan	Pozitif	Rotator	0,989
F1	PM>10	Polen uçurulan	Pozitif	Şırınga	0,751
G1	PM>10	Polen uçurulan	Pozitif	Şırınga	0,009
H1	PM>10	Polen uçurulan	Pozitif	Rotator	1,500

Toplanan filtreler yukarıda belirlenen şekilde ön hazırlık aşamalarından geçirilmiş ve 1 ml'lik özütün liyofilizasyonu ile elde edilen örnek, pH'ı 7,4 olan 100 µl %0,05 Tween 20 içeren PBS tamponu ile çözündürülmüş, ardından da ELISA kitinin kullanım kılavuzunda yazdığı oranda seyreltme (1:50) yapılmıştır. Bu deneme sonucunda negatif kontrol olarak kullanılan PBS ve *Betula* poleni uçurulmayan örneğin yer aldığı kuyucuklarda reaksiyon gözlenmezken, polen uçurulan güne ait örneğin yer aldığı kuyucuklarda ise pozitif reaksiyon gözlenmiştir (Şekil 2.15). Ancak absorbans değerleri incelendiğinde reaksiyon düzeyinin ELISA kiti kullanım kılavuzunda yer alan 2,0 - 2,4 düzeyinde olmadığı belirlenmiştir. Yine bir gün için PM>10 için toplam 30 ml, 10>PM>2.5 için 12 ml özütleme tamponu kullanıldığı düşünüldüğünde, özütlerin 1 ml'lik tüplerde saklanması derin dondurucu kapasitesini çok aşacağından, seyreltme oranlarının azaltılması yerine daha yüksek başlangıç miktarı ile devam edilmesine karar verilmiştir. Bu nedenle örnekler 5 ml'lik flakonlarda liyofilize edilmiştir.



Şekil 2.15 Ön denemede kullanılan ELISA plağının yerleşimi.

2.6.7 Atmosferik Alerjenlerin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi

Zonguldak ili atmosferinde izlenen üç alerjenden Bet v 1, Phl p 5 ve Amb a 1 alerjenlerin, atmosferde olup olmadıkları varsa ne kadar miktarda olduklarını belirlemek amacı ile sandviç ELISA metodu kullanılmıştır. Bet v 1, Phl p 5 ve Amb a 1 alerjenleri için kitler, Indoor Biotechnologies firmasından temin edilmiştir. Bet v 1 ve Phl p 5 için monoklonal antikorlar kullanılırken, Amb a 1 için poliklonal antikorlar kullanılmıştır. Kit içeriğinde yer alan ve üretici firmanın belirttiği protokol uygulanarak çalışmalar gerçekleştirilmiş ve alerjen hesaplamaları Bet v 1 ile Phl p 5 için pg/ml, Amb a 1 için ise U/ml olarak alerjen miktarları hesaplanmıştır.

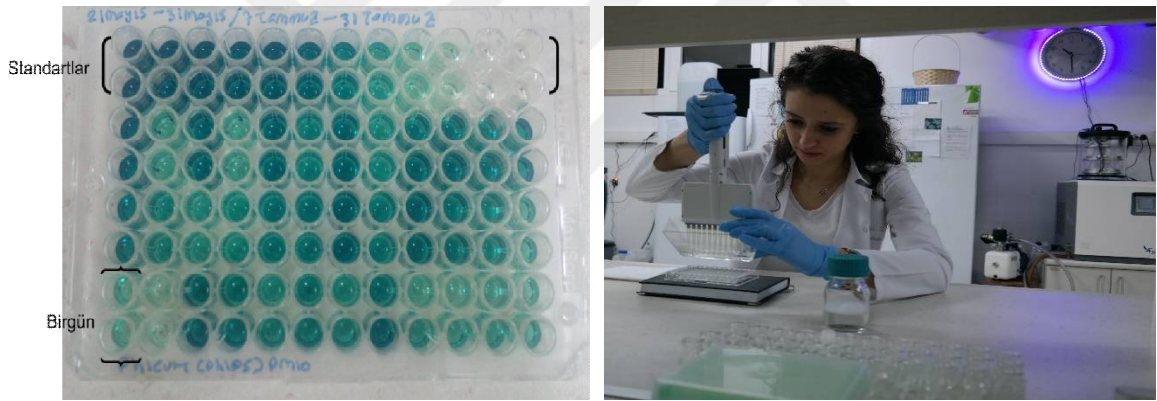
Liyofilizasyon işlemi ile kurutulan atmosfer örnekleri, her flakon için ELISA çalışmasının hemen öncesinde 500 µl %0,5 Tween 20 içeren fosfat tamponu (PBS-T) ile sulandırılmıştır. Tamponun içeriği EK A'da sunulmuştur. Örneklerin bir tanesi doğrudan olmak üzere 1:2 ve 1:4 oranında (PBS-T) ile seyreltme işlemleri uygulanarak çalışılmıştır. Seyreltme oranları Hirst polen ve spor tuzağından elde edilen polen sayımlarına göre belirlenmiştir.

ELISA plaklarının ilk iki sırasının ilk 10 kuyusuna (A1-A10 ile B1-B10 kuyuları) protokolda belirtilen oranlarda seyreltilen standartlar ekilirken, A11-A12 ile B11-B12

kuyularına negatif kontrol amacı ile %0,5 Tween 20 ve % 0,1 lik BSA içeren fosfat tamponu (TBS-T-BSA) ekilmiştir. ELISA yapım aşamaları detaylı bir şekil de aşağıda verilmiştir.

Her bir tarihe ait hava örnekleri kontrol amaçlı alt alta gelecek şekilde ekimleri yapılmış ve ekimi yapılan o iki kuyunun alerjen miktarlarının ortalamaları alınarak hesaplanmıştır. Bu şekilde deney hatalarının azaltılması amaçlanmıştır. Yine elde edilen optik yoğunluk değerleri arasında %20'den fazla fark olan örnekler tekrardan çalışılmıştır.

Hesaplama aşamasında en yüksek ölçülebilecek absorbans değerinin üzerinde olan hava örnekleri gerekli seyreltme işleminin ardından tekrar çalışılmıştır. ELISA plağına hava örneklerinin ekimi Şekil 2.16'de gösterilmektedir.



Şekil 2.16 Hava örneklerinin ELISA plaklarına ekimi.

Atmosfer de yer alan alerjenlerin miktarlarının belirlenmesi için aşağıda belirtilen ELISA yöntemi kullanılmıştır;

1. Ticari olarak (Indoor Biotechnologies) satın alınan kit içerisindeki antikor, pH'ı 9,6 olan 50mM karbonat/bikarbonat tamponu ile 1/1000 oranında seyreltikten sonra, boş bir ELISA plağına, her kuyuya 100 µl olacak şekilde konulmuştur. Bu plak bir gece boyunca +4 °C'de çalkalanmıştır. Tampon içeriği Ek A'da sunulmuştur.

2. Ertesi gün plak, 3 kez içerisinde %0,05 oranında Tween 20 bulunan Fosfat Tamponu (PBS-T) ile yıkanmıştır.
3. Daha sonra kuyularda özgül olmayan bağlanmaları engellemek için %1 oranında Sığır Serum Albümini (BSA) içeren PBS-T tamponu ile 30 dakika süreyle kapatma işlemi gerçekleştirilmiştir.
4. Fazla BSA'yı gidermek için plak 3 kez PBS-T tamponu ile yıkanmıştır.
5. %1'lik BSA PBS-T tamponu ile seyreltilen standart alerjenler ve hava örnekleri kuyulara ekilmiş ve 1 saat süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
6. Kuyular tekrardan 3 kez PBS-T tamponu ile yıkandıktan sonra, yine kit içerisinde yer alan biyotin konjuge edilmiş antikor ile 1 saat süre ile işaretlenmiştir. Bu antikor da %1 BSA içeren PBS-T tamponu ile 1/1000 oranında seyreltikten sonra kullanılmıştır.
7. İnkübasyon sonrasında plak, 3 kez PBS-T tamponu ile yıkanmıştır.
8. Antijen-antikor birliğini göstermek amacı ile streptoavidin-peroksidaz kompleksi kullanılmıştır. 1/1000 oranında %1'lik BSA PBS-T tamponunda seyreltilen kompleks, kuyulara ilave edilerek, 30 dakika beklenmiştir.
9. Kuyular son kez 3 defa PBS-T tamponu ile yıkanmıştır.
10. Kuyulara sitrik asit tamponunda hazırlanmış ABTS ilave edilerek, oluşan reaksiyon 405 nm dalga boyunda ELISA okuyucu ile okunmuştur.

Absorbansların okunmasıyla elde edilen bir mililitre sıvı içerisinde bulunan alerjen miktarları, bir metreküp havada bulunan alerjen miktarlarına dönüştürülmüştür. Bu amaçla aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$A = B * (a*b*1,5) / 432$$

A: Metreküpteki alerjen miktarı

B: Ölçülen 1 ml'deki alerjen miktarı

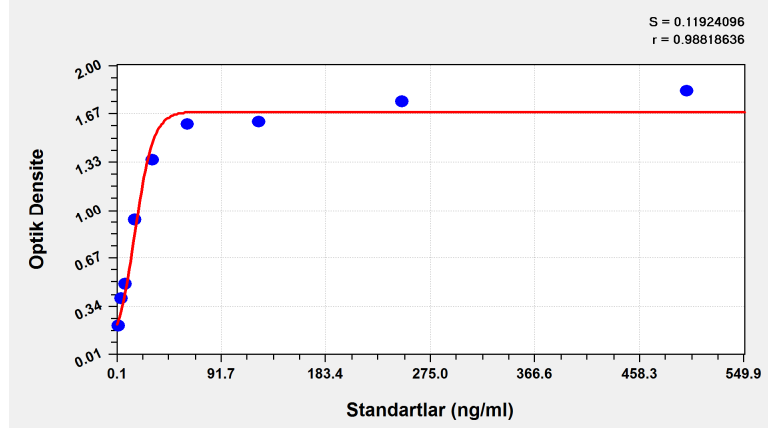
a: Her filtre parçası başına hazırlanan tüp sayısı

b: Sulandırma miktarı (ml)

Bu formülle elde edilen miktarlar 1000 ile çarpılarak Bet v 1 ve Phl p 5 için nanogram değerleri pikograma çevrilirken, Amb a 1 için Unit olarak verilmiştir.

Elde edilen sonuç, seyreltme katsayısı ile çarpılarak bir mililitredeki alerjen miktarları hesaplanmıştır. PM₁₀ için 3, 10>PM_{2.5} için 1 tüp hazırlandığından elde edilen sayı, tüp sayısı ve sulandırma katsayısı ile çarpılarak bir filtre parçasındaki alerjen miktarı hesaplanmıştır. YHÖ cihazı günde 1296 m³ (dakikada 900 L) hava emdiğinden metreküpte yer alan alerjen miktarını hesaplanması için elde edilen rakam 432'ye (filtre başı çekilen hava miktarı) bölünmüştür.

Atmosferde yer alan alerjenlerin belirlenmesinde çok sayıda ELISA plağı kullanılmıştır. Atmosferdeki alerjen miktarları, seri seyreltme ile hazırlanan standartlara ait optik densite değerleriyle oluşturulan bir grafik üzerinden belirlenmiştir. Bu nedenle tüm plaklar için ayrı ayrı hazırlanan standart eğri grafiği yerine örnek bir grafiğe bu tezde yer verilmiştir (Şekil 2.17). Regresyon analizi için 4 parametrelili lojistik regresyon kullanılmıştır. Determinasyon katsayısı (R²) 0,95'den az olan plaklar tekrardan çalışılmıştır.



Şekil 2.17 Phl p 5 alerjen miktarlarının hesaplanmasında kullanılan örnek standart eğri grafiği.

2.6.8 Kalite Kontrol Süreci

Kalite kontrol süreci, tez süresince elde edilen verilerin güvenilirliği ve karşılaştırılabilirliğini sağlamak için ön planda tutulmuştur. Öncelikle verilerin gözlemlenebilirliğinin sağlanması için yapılan çalışmalar süresince üretilen tüm çıktılar bir bulut sistemi içerisinde tutulmuştur. Aynı zamanda tez süresince gerçekleştirilen filtre değişimleri, bu esnada karşılaşılan durumlar ve hava durumuna ait bilgiler de bu sistem üzerinde tutulmuştur. Bulut sistemine polen sayımları eş zamanlı girilmiş ve yine gerçek zamanlı oluşturulan grafiklerle veriler sürekli takip edilmiştir.

Aerobioloji gözlem istasyonunda yer alan cihazların 3 ayda bir kalibrasyonları yapılmıştır (Şekil 2.18). Böylelikle cihazlar ile gerçekleştirilecek hataların minimum düzeyde tutulması hedeflenmiştir. Ayrıca kademeli Yüksek Hava Örnekleyicisinin emiş ayarı için kullanılan vananın önünde yer alan filtre, haftalık olarak değiştirilerek, cihazın fazla hava çekmesi engellenmiştir.



Şekil 2.18 Aerobioloji gözlem istasyonunda Yüksek Hava Örnekleyicisinin kalibre edilmesi.

Alerjen miktarlarının belirlenmesi sırasında, polen sezonuna ait tüm günlerin mümkün olduğu sürece aynı plakta çalışılmasına özen gösterilmiştir. Bu şekilde farklı standart eğrilerinden konsantrasyon elde edilmesinden kaçınılmıştır.

2.6.9 Geri Yörünge Analizi

Atmosferde belirlenen polen ve alerjenlerin muhtemel kaynağının belirlenmesi için veri toplanan günlerdeki hava kütlelerinin hareketlerinin geriye dönük olarak izlenmesine dayalı yörünge analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analiz için NOAA web sitesinden yararlanılmıştır. 72 ve 12 saatlik analizler gerçekleştirilmiştir. 6 saat aralıklarla gerçekleştirilen ve 12 yörünge için çizildiği analiz için yükseklik değeri 70m olarak verilmiştir.

2.7 Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

Tez süresince, 02 Ocak-10 Ekim tarihleri arasında 282 gün atmosferik polen, 01 Mart - 06 Ekim tarihleri arasında toplam 220 gün atmosferik örnekleme gerçekleştirilmiştir. Öncelikle uygun karşılaştırma ve korelasyon analizinin seçilebilmesi için elde edilen verilere normalite testi uygulanmıştır. Bu amaçla “Kolmogorov-Smirnov” normalite testi kullanılmıştır. Test sonucunda Spearman korelasyon analizinin kullanılmasına karar verilmiştir. İstatistiksel analizler için R programlama dili kullanılmıştır [50].



BÖLÜM 3

BULGULAR

Tez çalışmasında 2015 yılında, 1 Mart - 6 Ekim tarihleri arasında BGI Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi ile alerjenler, 02 Ocak-10 Ekim tarihleri arasında Burkard polen ve spor tuzağı ile polen örnekleme yapılmıştır. Betulaceae ve Poaceae familyaları ile *Ambrosia* polen sezonuna göre, Poaceae familyası atmosferde 162 gün ile en uzun süre gözlenen polen tipi olmuştur. Bunu sırasıyla 138 gün ile Betulaceae familyası ve 108 gün ile *Ambrosia* polenleri izlenmiştir.

Betulaceae familyasına ait polen sezonun başlaması ile BGI 900 Yüksek Hacimli Hava Örnekleyicisi ile alerjen örnekleme çalışmalarına başlanmıştır. Tez kapsamında toplam 220 gün atmosferik partikül örnekleme gerçekleştirilmiştir.

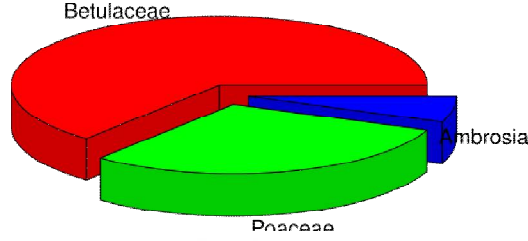
Buna karşın ELISA analizinin yapıldığı gün sayısı Bet v 1 için 94, Phl p 5 için 126 ve Amb a 1 için 74 gündür (Çizelge 3.1). Phl p 5 için elde edilen ilginç sonuçlar nedeniyle analiz gün süresi uzun tutulmuştur. Analiz edilen tarih aralıklarının üst üste gelmesi nedeniyle toplamda 294 güne ait hava örneklerinde ELISA analizi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1 Tez kapsamında Zonguldak ilinde alerjen izlemesi yapılan gün sayıları

Alerjen	Başlangıç	Bitiş	Gün sayısı
Bet v 1	05.03.2015	06.06.2015	94
Phl p 5	01.05.2015	03.09.2015	126
Amb a 1	25.07.2015	06.06.2015	74
Toplam			294

3.1 Zonguldak İli Atmosferinin Polen Analiz Sonuçları

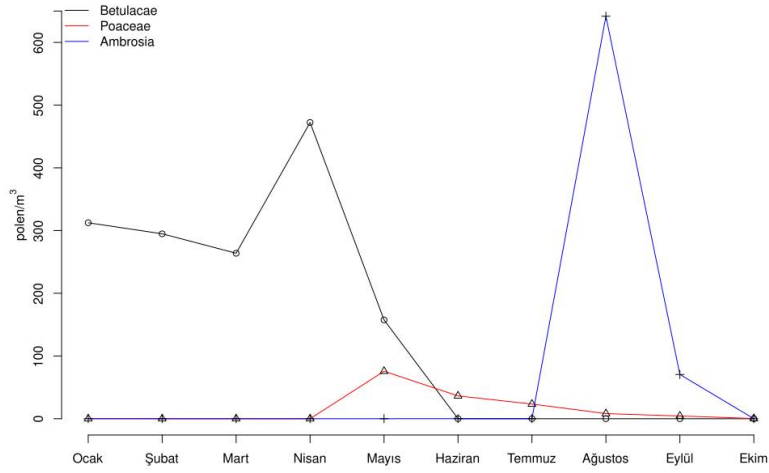
Analiz süresince toplam 2367,1 polen/m³ polen gözlenmiştir. Bunların %64'ü (1500,8 polen/m³) Betulaceae familyasına ait iken, %6'sı (147,8 polen/m³) Poaceae familyasına, % 30'u (718,1 polen/m³) ise *Ambrosia* cinsine ait polenlerden oluşmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 2015 yılı boyunca Zonguldak atmosferinde tez kapsamında analiz edilen polenlerin yüzdelik dağılımları.

Tez süresince Betulaceae polenleri Poaceae polenlerine göre daha kısa bir dönemde atmosferde görünmesine rağmen konsantrasyon olarak en yoğun görülen polenlerdir. Betulaceae polenlerinin sıra dışı bir şekilde yüksek konsantrasyonda görüldüğü tarih, 18 Mayıs tarihidir (141,3 polen/m³). Öte yandan Poaceae polenleri, tez kapsamında atmosferde izlenen diğer iki polene göre daha az konsantrasyonda izlenmiştir. Atmosferde en yoğun şekilde 27 Mayıs tarihinde (15,3 polen/m³) Poaceae polenleri belirlenmiştir. *Ambrosia* polen konsantrasyonu ise en yüksek düzeye 31 Ağustos'ta 184,9 polen/m³'e ulaşmıştır (Şekil 3.2).

Zonguldak ili atmosferinde 2015 yılında incelenen toplam Poaceae polen konsantrasyonu 147,8 polen/m³'dür. Atmosferde toplam 162 gün gibi uzun bir süre bu polenlere rastlanmıştır. En yoğun polen kaydedildiği tarih ise 27 Mayıs (15,3 polen/m³) tarihidir. Polenlerin aylık dağılımı incelendiğinde, en yoğun şekilde görüldüğü ayların sırasıyla, Mayıs ve Haziran ayları olduğu görülmektedir.



Şekil 3.2 2015 yılında Zonguldak ilinde analiz edilen Betulaceae, Poaceae ve *Ambrosia* polenlerinin aylık değişimi.

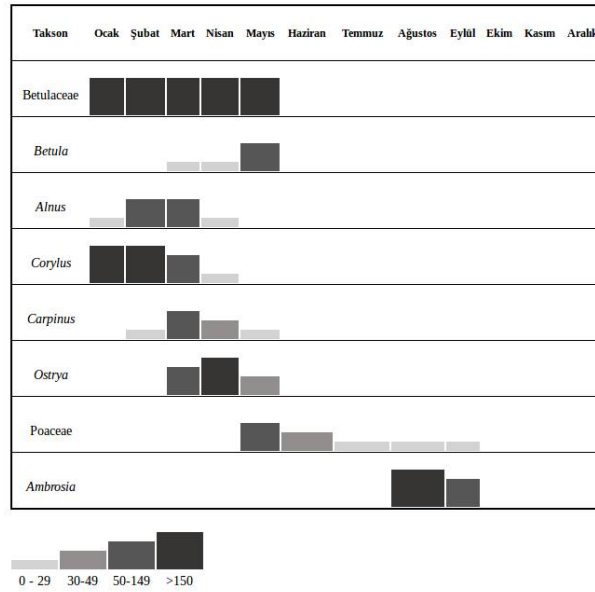
Zonguldak ilinde 2015 yılı boyunca atmosferde izlenen Betulaceae, Poaceae ve *Ambrosia* polenlerine ait aylık dağılımı Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. Bu çizelgede kış ve erken bahar aylarında çoğunlukla *Corylus* ve *Alnus* polenlerinin yoğun olduğu, ilkbahar ve geç ilkbahar döneminde ise *Carpinus*, *Betula* ve *Ostrya* polenlerinin yoğun bir şekilde izlendiği görülmektedir. Poaceae polenleri ise geç ilkbahar ve yaz aylarında en yoğun şekilde görülürken, *Ambrosia* polenleri en yoğun şekilde yaz aylarında izlenmiştir.

Çizelge 3.2 Zonguldak illerinde 2015 yılında izlenen polenlerin aylık dağılımları.

	Betulaceae	Poaceae	<i>Ambrosia</i>	Toplam	<i>Betula</i>	<i>Alnus</i>	<i>Corylus</i>	<i>Carpinus</i>	<i>Ostrya</i>
Ocak	312,4	0,0	0,1	312,5	0,0	6	306,3	0,0	0,0
Şubat	294,8	0,0	0,0	294,8	0,0	135,3	158,8	1,1	0,0
Mart	263,8	0,0	0,0	263,8	27	68,4	60	49,9	58
Nisan	472,3	0,0	0,0	472,3	28	5,5	9,2	46,2	383,3
Mayıs	157,5	75,8	0,0	233,3	101,3	0,0	0,4	17,6	38,1
Haziran	0,0	36,4	0,1	36,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Temmuz	0,0	23,3	0,2	23,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ağustos	0,0	8	641,8	649,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Eylül	0,0	4,3	70,6	74,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ekim	0,0	0,3	5,3	5,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Toplam	1500,8	148,2	718,1	2367	156,3	215,2	534,7	114,8	479,4

Yüzdelik	63,4	6,3	30,3	100,0	10,43	14,35	35,63	7,65	31,95
----------	------	-----	------	-------	-------	-------	-------	------	-------

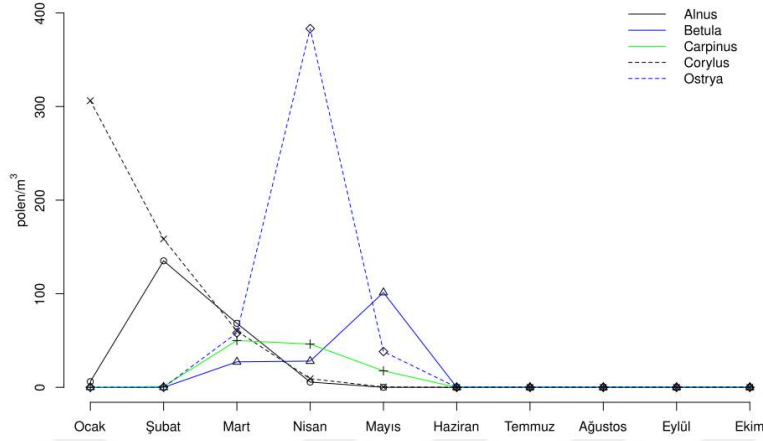
Tez kapsamında ele alınan polen türlerinin aylık konsantrasyonları temel alınarak ayrıca bir polen takvimi de oluşturulmuştur. Şekil 3.3’de yer alan bu takvim incelendiğinde, üç polen tipinden en az bir tanesinin Ekim, Kasım ve Aralık ayları dışında atmosferde izlendiği ve sadece Temmuz ayının bu üç polen tipi açısından en az polen izlenen ay olduğu görülmektedir.



Şekil 3.3 Tez kapsamında atmosferde izlenen polenlerin yıllık dağılımını gösteren polen takvimi.

Betulaceae polenlerinin cins bazında atmosferdeki dağılımlarına bakıldığında, iki farklı dönemde atmosferde arttığı görülmüştür. Bu dönemlerden ilki kış aylarına denk gelen Şubat-Mart aylarıdır. Bu dönem *Corylus* cinsi polenlerinin polinizasyon dönemine karşılık gelmektedir. Bu dönemde *Corylus* cinsine ait polenler en yoğun izlendiği ay 306,3 polen/m³ ile Ocak ayıdır. İkinci dönem ise *Ostrya* polenlerinin en yoğun görüldüğü Mart-Nisan ayını kapsayan polinizasyon dönemidir. Bu dönemde *Ostrya* polenleri en yoğun, 10 Nisan tarihinde (81,8 polen/m³) ile atmosferde izlenmiştir (Şekil 3.4). Diğer cinslerin atmosferdeki toplam konsantrasyonları sırasıyla: *Alnus* cinsi (215,3 polen/m³), *Betula* cinsi (156,5 polen/m³), ve *Carpinus* (114,8 polen/m³) cinsi

şeklindedir (Şekil 3.4). Çizelge 3.3’de polenlerin toplam dağılım miktarları ve tepe miktarları ile pik tarihleri detaylı bir şekilde verilmiştir.



Şekil 3.4 Betulaceae familyasında yer alan cinslere ait polenlerin Zonguldak istasyonundaki aylık değişimleri.

Çizelge 3.3 Betulaceae familyasına ait polenlerin toplam miktar, pik tarihi ve miktarları

Polen tipi	Toplam Miktar	En yoğun dönem ve miktar
<i>Alnus</i>	215,3 polen/m ³	28.02.2015 / 21,4 polen/m ³
<i>Betula</i>	156,5 polen/m ³	18.04.2015 / 92,5 polen/m ³
<i>Carpinus</i>	114,8 polen/m ³	28.03.2015 / 16,0 polen/m ³
<i>Corylus</i>	534,5 polen/m ³	02.02.2015 / 95,9 polen/m ³
<i>Ostrya</i>	479,5 polen/m ³	10.04.2015 / 81,8 polen/m ³

3.1.1 Etkin Polen Sezonunun Belirlenmesi

Yukarıda sunulan veriler ham polen konsantrasyonları olup, etkin polen sezonu (EPS) göz önüne alınmamıştır. Normalite ve diğer analizler için ham polen verileri yerine EPS verileri temel alınmıştır. Değişkenlerin arasındaki korelasyonu daha iyi belirleyebilmek için EPS’nin belirlenmesinde %98 ve %90 metodu kullanılmıştır. Sezonun belirlenmesi için tüm yıl belirlenen toplam miktarının %90 ya da %98’ini kapsayan kısmı seçilmiştir. Bu amaçla polen sezonu öncesi ve sonrası %90 metodu için %’5’lik, %98 metodu için

ise %1'lik kısım analiz dışında bırakılmıştır. Polen verileri ile ilgili EPS tarihleri ve sezonda belirlenen polen sayımları Çizelge 3.4'de sunulmuştur.

Çizelge 3.4 %90 ve %98 metoduna göre atmosferde izlenen polenlerin etkin polen sezonları ve sezon uzunlukları.

	%90 metoduna göre			%98 metoduna göre		
	Başlangıç	Bitiş	Gün	Başlangıç	Bitiş	Gün
Betulaceae	21.01.2015	16.05.2015	115	17.01.2015	16.05.2015	119
Poaceae	08.05.2015	27.08.2015	111	02.05.2015	12.09.2015	133
<i>Ambrosia</i>	11.08.2015	30.08.2015	19	02.08.2015	13.09.2015	42

%90 metoduna göre en uzun polen sezonu Betulaceae familyası polenlerine aittir. %98 metoduna göre ise en uzun süre Poaceae familyası polenleri izlenmiştir.

3.2 Atmosferik Aeroalerjen İzleme Sonuçları

Üç farklı alerjen 2015 yılı boyunca atmosferden 01 Mart - 06 Ekim tarihleri arasında izlenmiş ve miktarları ELISA analizi ile belirlenmiştir. İstasyonda izlenen alerjenlerden Bet v 1 ve Phl p 5 alerjen miktarları bir metreküp havada pikogram olarak hesaplanırken, Amb a 1 ise ünite olarak hesaplanmıştır.

Çalışılan alerjenlerden sadece Amb a 1 için iki güne ait PM>10 örneklerinde seyreltme işlemi yapılmıştır. Üç alerjenin 2015 yılında atmosferde en yüksek konsantrasyonda izlendiği günler ve tespit edilen miktarlar aşağıdaki Çizelge 3.5'de verilmiştir.

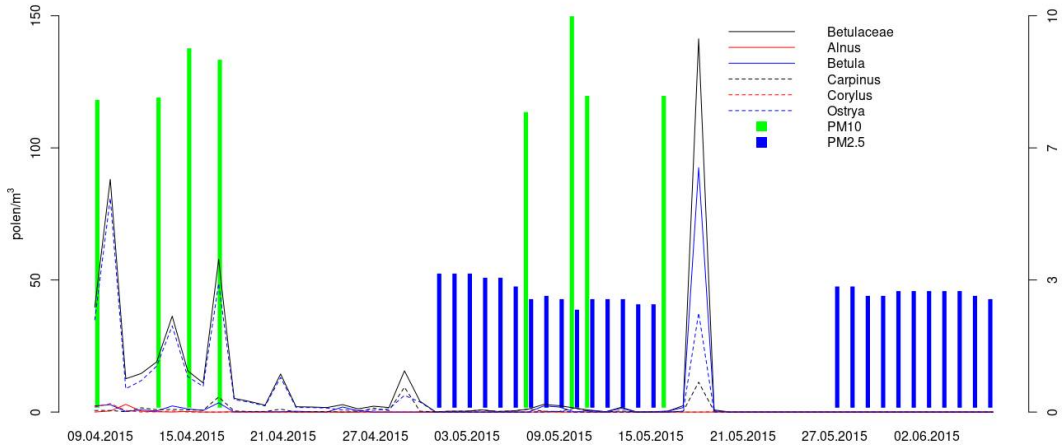
Çizelge 3.5 2015 yılında Zonguldak Gözlem İstasyonunda izlenen alerjenlerin tepe tarih ve miktarları.

		Toplam Alerjen	En yoğun izlendiği miktar/ tarihi
Bet v 1	*PM>10	62,3	9,25/10.05.2015
	*10 > PM > 2.5	71,6	3,18/01.05.2015
Phl p 5	*PM>10	49,3	31,70/08.07.2015
	*10 > PM > 2.5	7,4	4,24/08.07.2015
Amb a 1	**PM>10	$5,59 \times 10^{-3}$	$8,40 \times 10^{-4}/24.08.2015$
	**10 > PM > 2.5	$1,25 \times 10^{-3}$	$1,05 \times 10^{-4}/06.09.2015$

*pg/m³ , ** U/m³

3.2.1 Zonguldak İli Atmosferindeki Bet v 1 Alerjen Miktarları

Zonguldak ilinde 2015 yılında ölçülen Bet v 1 miktarı 133,9 pg/m³'dür. Bunun %46,6'sı (62,3 pg/m³) PM>10 filtrelerinde belirlenirken, geri kalan %53,4'ü (71,6 pg/m³) 10 > PM > 2,5 filtrelerinde belirlenmiştir. Bet v 1 alerjeni için tepe noktasına PM>10 filtrelerinde 10 Mayıs (9,26 pg/m³) da ulaşılırken, 10 > PM > 2,5 filtrelerinde ise 1 Mayıs tarihinde (3,18 pg/m³) ulaşılmıştır. Bet v 1 alerjeninin, Zonguldak gözlem istasyonundaki PM>10 ve 10 > PM > 2,5 filtrelerindeki değişimi Şekil 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3.5 Zonguldak ilinde 09.03.2015 - 06.06.2015 tarihleri arasında gözlenen Bet v 1 alerjenleri ile polen miktarları arasındaki değişim grafiği.

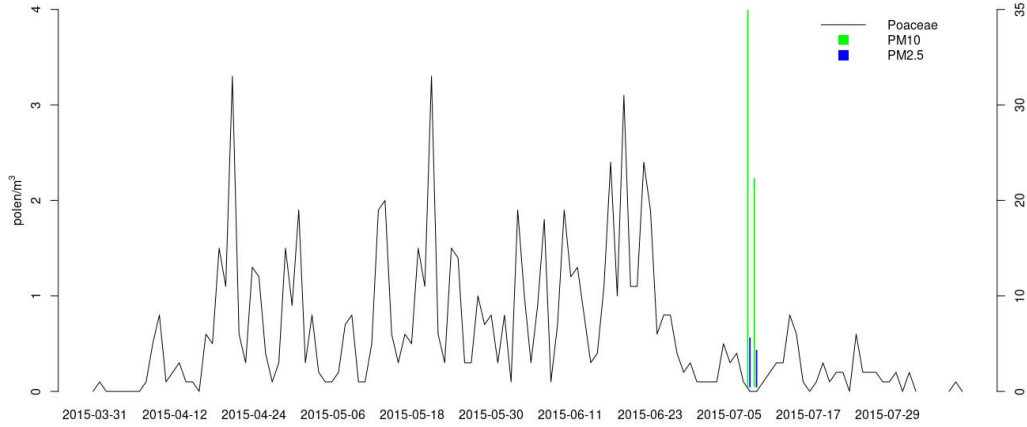
Alerjenlerin polenlerden önce havada görüldüğü genel bir eğilim olduğu tez süresince elde edilen verilerdendir. Ancak, 18 Mayıs tarihinde atmosferde izlenen yüksek Betulaceae polenlerine ait alerjenlerin, haziran ayının ilk günlerinde izlenebileceği ihtimaline karşı, havada polen olmamasına rağmen, ELISA analizi haziran ayının ilk haftasına kadar uzatılmıştır. Bet v 1 alerjeninin aylık dağılımı incelendiğinde, alerjenlerin büyük bir kısmının Mayıs ayında gözlemlendiği görülmektedir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen Betulaceae polenleri ile Bet v 1 alerjeni miktarlarının aylara göre dağılımı.

	Polen (polen/m ³)						Bet v 1 (pg/m ³)		Polen başına alerjen Miktarı
	Tüm	<i>Betula</i>	<i>Alnus</i>	<i>Carpinus</i>	<i>Corylus</i>	<i>Ostrya</i>	PM>10	10>PM>2.5	
Ocak	312,3	0,0	6	306,3	0,0	0,0	0	0	0
Şubat	295,2	0,0	135,3	158,8	1,1	0,0	0	0	0
Mart	263,3	27	68,4	60	49,9	58	0	0	0
Nisan	472,2	28	5,5	9,2	46,2	383,3	31,34	0	0,06
Mayıs	157,4	101,3	0,0	0,4	17,6	38,1	31	55,24	0,54
Haziran	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	16,32	16,32

3.2.2 Zonguldak İli Atmosferindeki Phl p 5 Alerjen Miktarları

Zonguldak istasyonunda Poaceae familyası polenlerinin yoğun olarak görüldüğü 01.05.2015 - 03.09.2015 tarihlerini kapsayan dönemde Phl p 5 alerjeni taraması yapılmıştır. Bu süre aralığında sadece iki gün Phl p 5 alerjeni gözlenmiştir. Bu tarih aralığında, ölçülen toplam 56,7 pg/m³ Phl p 5 alerjeninin %86,9'u (49,3 pg/m³) PM>10 filtrelerinde, %13,1'i (7,4 pg/m³) ise 10>PM>2,5 filtrelerinde belirlenmiştir. Phl p 5 alerjenlerinin değişimi Şekil 3.6'de verilmiştir. Bu alerjenlerin en yüksek tepe noktasına ulaşılan gün olarak hem PM>10 (31,7 pg/m³) hem de 10>PM>2,5 (4,24 pg/m³) için 8 Temmuz tarihi olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.6 Zonguldak ilinde gözlenen Phl p 5 alerjenleri ile polen miktarları arasındaki değişim grafiği.

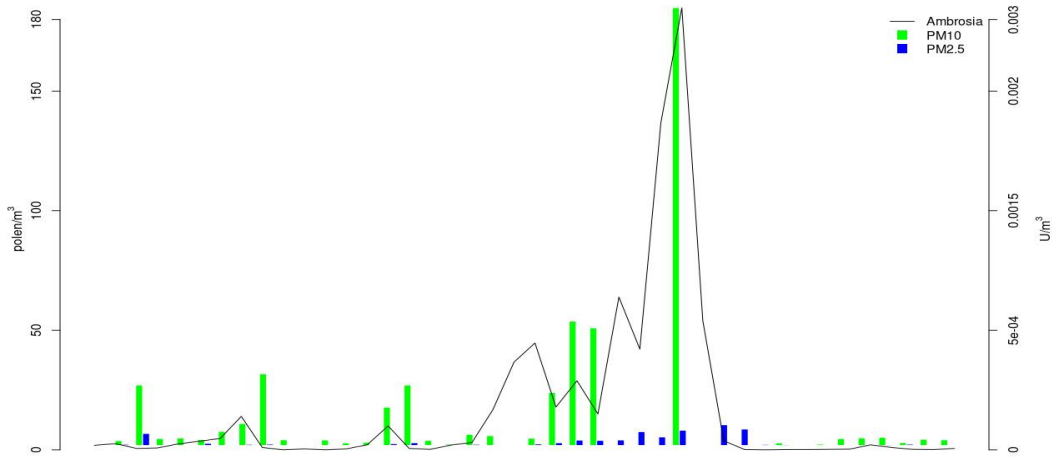
Polen ve alerjenlerin aylık dağılımlarına bakıldığında, polenlerin büyük bir kısmı Mayıs ayında görülürken, alerjenler ise Temmuz ayında elde edilmiştir. Buna bağlı olarak da aylık polen başına düşen alerjen miktarlarında da büyük farklılıklar meydana gelmiştir (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen Poaceae polenleri ile Phl p 5 alerjenleri miktarlarının aylara göre dağılımı.

	Polen (polen/m ³)	Phl p 5 (pg/m ³)		Polen başına alerjen Miktarı
		PM>10	10>PM>2,5	
Mayıs	74,2	0	0	0
Haziran	36,4	0	0	0
Temmuz	23,3	49,3	7,4	2,43
Ağustos	8	0	0	0
Eylül	3,3	0	0	0
Toplam	145,2	49,3	7,4	2,43

3.2.3 Zonguldak İli Atmosferindeki Amb a 1 Alerjen Miktarları

Amb a 1 alerjisi 2015 yılında Zonguldak gözlem istasyonunda yoğun şekilde izlenmiştir. Toplam $8,43 \times 10^{-3} \text{ U/m}^3$ alerjen belirlenmiştir. Bunun %90'ı ($7,58 \times 10^{-3} \text{ U/m}^3$) $\text{PM}>10$ filtrelerinde, geriye kalan %10'u ($8,5 \times 10^{-4} \text{ U/m}^3$) ise $10>\text{PM}>2,5$ filtrelerinde belirlenmiştir. Alerjenlerin günlere göre değişimi Şekil 3.7'de yer almaktadır. Bu alerjen için tepe günleri olarak hem $\text{PM}>10$ filtreleri ($3,06 \times 10^{-3} \text{ U/m}^3$), hem de $10>\text{PM}>2,5$ filtreleri ($2,96 \times 10^{-3} \text{ U/m}^3$) için 30 Ağustos tarihidir.



Şekil 3.7 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen *Ambrosia* polenleri ile Amb a 1 alerjen konsantrasyonlarının günlük değişimi.

Amb a 1 alerjenlerinin en yoğun görüldüğü ay Ağustos ayı olmakla beraber, aylar arasındaki miktar farklılığı $\text{PM}>10$ filtrelerinde daha belirgindir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8 2015 yılında Zonguldak atmosferinde izlenen *Ambrosia* polenleri ile Amb a 1 alerjisi miktarlarının aylara göre dağılımı.

	Polen (tane/m ³)	Amb a 1 (U/m ³)		Polen başına alerjen Miktarı
		PM>10	10>PM>2,5	
*Ağustos	641,8	$7,27 \times 10^{-3}$	$5,61 \times 10^{-4}$	$1,22 \times 10^{-5}$
Eylül	66,3	$3,08 \times 10^{-4}$	$2,89 \times 10^{-4}$	9×10^{-6}
Toplam	708,1	$7,58 \times 10^{-3}$	$8,5 \times 10^{-4}$	$1,19 \times 10^{-5}$

*31 Temmuz dahil

Son zamanlarda artış gösteren aeroalerjen çalışmalarında, polen potansiyeli adı da verilen polen başına düşen alerjen miktarları da hesaplanmaktadır. Bu değer aslında atmosferde alerjik reaksiyonları başlatacak en düşük değerin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Bu tez çalışmasında da bu değer hesaplanmıştır. Bu değer hesaplanmasında etkin polen sezonu verileri ile toplam alerjen miktarları kullanılmıştır. Polen başına düşen alerjen miktarları Çizelge 3.9'de verilmiştir.

Çizelge 3.9 Polen başına düşen alerjen miktarları.

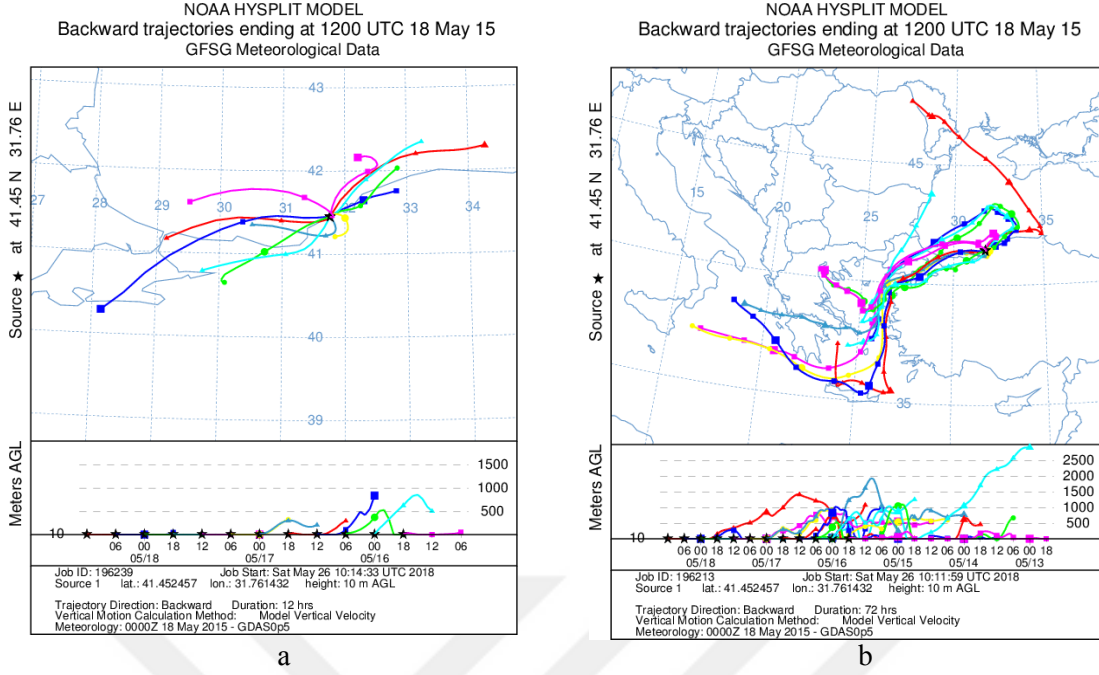
	*Bet v 1	*Phl p 5	**Amb a 1
Polen potansiyeli	0,089	0,38	$9,53 \times 10^{-6}$

* $\mu\text{g}/\text{m}^3/\text{polen}$, ** $\text{U}/\text{m}^3/\text{polen}$

3.3 Geri Yörünge Analizi Sonuçları

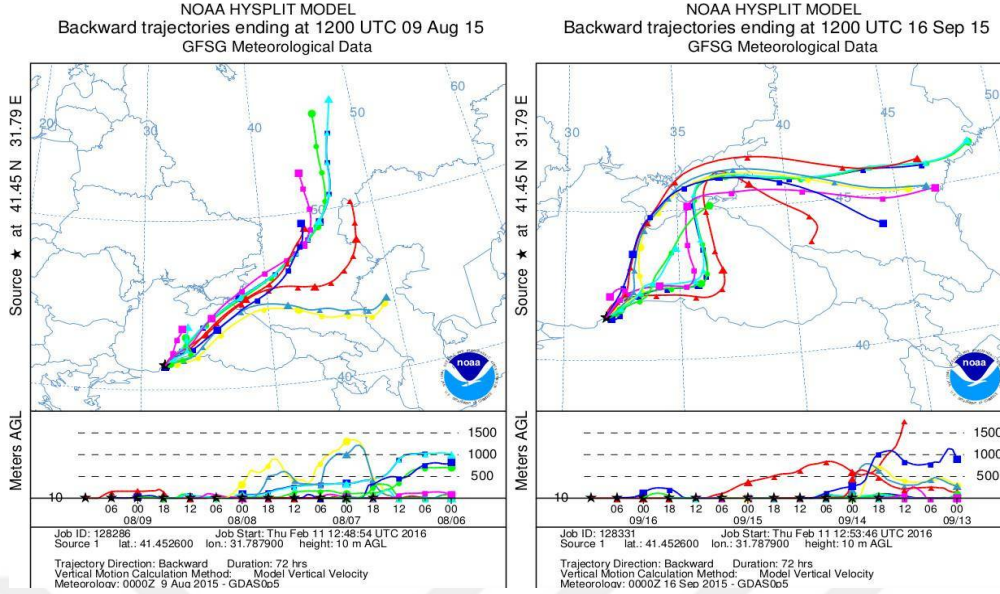
Tez çalışması süresince elde edilen verilerin bir kısmını salt meteorolojik değişimlerle açıklamak mümkün olamamıştır. Bu nedenle polen ya da alerjen belirlenen günlerdeki hava kütlelerinin hareketi, geri yörünge analizi ile belirlenerek polen ya da alerjenin kaynağı belirlenmeye çalışılmıştır.

18 Mayıs tarihinde izlenen ancak ardından yeterli miktarda alerjen tespit edilemeyen Betulaceae polenlerinin kaynağını belirlemek için HYSPLIT analizine başvurulmuştur. Analiz sonucunda bu polenlerin Ege denizi ve Marmara Bölgesi üzerinden taşındığı ortaya koymuştur (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Betulaceae polenlerinin uzun mesafeli taşınımını gösteren 12 saatlik (a) ve 72 saatlik (b) geri yörünge analizleri.

Phl p 5 alerjenleri Zonguldak ilinde çok az izlendiğinden bu alerjenlerin kaynağını belirlemek için alerjen gözlenen 8 Temmuz tarihine ait 72 ve 12 saatlik geri yörünge analizi uygulanmıştır (Şekil 3.9). 72 saatlik analiz sonucunda bu alerjenlerin uzaktan taşınımını için iki muhtemel yol belirlenmiştir Bunlardan bir tanesi Kırım Bölgesi'nden taşınım, diğeri ise Karadeniz'in doğu kısımlarıdır. Buna karşın 12 saatlik yörünge analizleri ise bu yörüngelerden hemen hepsinin doğrudan Zonguldak il merkezine ulaşmadığını, hava kütlelerinin Zonguldak çevresinden dolandıktan sonra şehir merkezi üzerine geldiğini ortaya koymuştur.



Şekil 3.10 Zonguldak' da 09 Ağustos ve 16 Eylül 2015 tarihleri arasında kaydedilen Amb a 1 kaynaklarının olası geri yörünge analizi.

3.4 Verilerin Değerlendirilmesi

Tez çalışması süresince polen ve alerjen verileri olmak üzere iki farklı veri üretilmiştir. Bu verilerin karşılaştırılması için uygun istatistiğin belirlenebilmesi amacıyla, bütün verilere normalite testi uygulanmıştır. Verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri “Kolmogorov-Smirnov” normalite testi ile araştırılmıştır. Testler, polen sezonunun tüm polenlerin hem %90’nı hem de %98’i dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu test sonuçları Çizelge 3.10’da sunulmuştur.

Çizelge 3.10 Polen sezonunun tüm polenlerin %90’ı ve %98 ‘i dikkate alınarak hesaplandığı durumda üretilen verilerinin Kolmogorov-Smirnov normalite testi sonuçları.

	%90 kuralına göre	%98 kuralına göre
Polen	Normalite Test Sonucu (p-değeri)	Normalite Test Sonucu (p-değeri)
Betulaceae	3.085×10^{-13}	$< 2.2 \times 10^{-16}$
Poaceae	0.01304	$< 2.2 \times 10^{-16}$
<i>Ambrosia</i>	3.085×10^{-13}	5.394×10^{-10}

Çizelge 3.10'den görüldüğü üzere polen türlerinin hiç biri normal dağılım göstermemektedir. Bu nedenle verilerin birbirleri ile karşılaştırılması için parametrik olmayan testlerin kullanılmasına karar verilmiştir.

Polenlerde olduğu gibi alerjen konsantrasyonları için de uygun istatistiksel metodun belirlenmesi için öncelikle normalite testi uygulanmıştır. 10>PM>2.5 verileri genellikle az sayıda olduklarından, PM>10 alerjen verileri ile toplanarak toplam alerjen miktarları analizlerde kullanılmıştır. Analiz sonucunda hiçbirinin normal dağılıma uymadıkları belirlenmiştir. Bu normalite test sonuçları Çizelge 3.11'de sunulmuştur.

Çizelge 3.11 Alerjen konsantrasyon verilerinin Kolmogorov-Smirnov normalite testi sonuçları.

Alerjen	Normalite Test Sonucu (p-value)
Bet v 1	3.364×10^{-14}
Phl p 5	$2,052 \times 10^{-16}$
Amb a 1	$3,085 \times 10^{-13}$

Ancak polen ve alerjen konsantrasyon değişimlerinin birbirleri ile ilişkisinin belirlenmesi için Spearman'ın sıralama korelasyon testi uygulanmıştır. Parametrik olmayan veriler için uygulanan bu test için verilerin normal dağılıma uygunluğu aranmamaktadır. Ayrıca polen ve alerjen verilerinin meteorolojik faktörlerle bağlantısının belirlenmesi amacıyla da bu testten yararlanılmıştır. Ayrıca korelasyon analizi için hem polen hem de alerjen konsantrasyonunun elde edildiği günler seçilmiştir. Bu analize ait sonuçlar Çizelge 3.12'de yer almaktadır.

Çizelge 3.12 Gözlem istasyonlarının karşılaştırılması için uygulanan Spearman Korelasyon analiz sonuçları.

	Zonguldak
--	------------------

	Betulaceae / Bet v 1	Poaceae / Phl p5	Ambrosia / Amb a 1
2015	-0.172	-	0.622**

*p<0.05, **p<0.01

Çizelge 3.12'deki korelasyon analiz sonuçlarına bakıldığında sadece Amb a 1 ile Ambrosia polenleri arasında anlamlı bir korelasyon elde edilebilmiştir.

3.5 Polen ve Alerjen Konsantrasyonlarının Meteorolojik Verilerle Kıyaslanması

Tez kapsamında atmosferden elde edilen polen ve alerjen konsantrasyon verileri aynı zamanda meteorolojik verilerle karşılaştırılmış olup aralarında korelasyon olup olmadığı tespit edilmiştir. Gözlem istasyonuna ait meteorolojik veriler, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden elde edilmiştir (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.13 Zonguldak ilinde 2015 yılında kaydedilen aylık meteorolojik veriler.

	Mak. Sıcaklık	Min. Sıcaklık	Ort. Sıcaklık	Nispi Nem	Basınç	Toplam Yağış	Rüzgar Hızı
Ocak	10,0	4,0	6,4	71,1	1002,3	173,8	2,5
Şubat	9,6	3,9	6,5	77,1	999,1	166,8	2,5
Mart	10,3	5,2	7,3	81,0	1003,0	62,8	1,8
Nisan	14,2	6,5	10,1	67,4	1000,9	103,0	2,1
Mayıs	19,4	12,7	15,8	78,0	999,8	51,4	1,6
Haziran	21,8	15,6	18,8	88,4	997,7	88,0	1,6
Temmuz	25,1	17,8	21,5	79,9	998,3	23,2	1,8
Ağustos	26,4	19,0	22,7	81,2	998,4	9,2	1,9
Eylül	24,7	18,0	21,2	81,9	-	65,8	1,7
Ekim	18,2	12,5	15,0	89,6	1002,8	196,2	2,1
Kasım	16,0	10,1	12,8	70,4	1003,9	3,8	2,1
Aralık	9,5	3,9	6,4	75,1	1012,9	39,2	2,0

Zonguldak iline ait aylık meteorolojik veriler aşağıda verilmiştir. Alınan meteorolojik verilerden güneşlenme süresine ait veriler Zonguldak ilinde neredeyse hemen hemen hiç kaydedilmediğinden, değerlendirilmeye tabi tutulmamıştır. Yine en yüksek ve en düşük sıcaklıklar, ortalama sıcaklıkla bağlantılı veriler olduğundan sadece günlük ortalama sıcaklık verisi istatistiksel analizlerde kullanılmıştır.

Çizelge 3.14 Polen ve alerjen verilerinin meteorolojik veriler ile bağlantısı.

	Ort. Sıc	Min. Sıc.	Mak. Sıc.	Basınç	Nis. Nem	Rüz. Hızı	Yağış
Betulaceae	-0,308	0,307	-0,238	0,266	-0,167	0,229	0,194
Bet v 1	0,038	0,041	-0,013	-0,089	0,153	-0,112	0,030
Poaceae	0,548	-0,498	-0,529	0,134	0,185	0,03	0,1
Phl p 5	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ambrosia</i>	0,06	-0,149	-0,0189	0,629	-0,3109	0,545	-0,061
Amb a 1	0,218	0,059	0,31308	0,191	-0,348	0,230	-0,0363

Analiz sonuçları incelendiğinde, hem Betulaceae hem de Bet v 1 alerjeninin belirgin olarak hiçbir meteorolojik parametre ile beraber değişim göstermediği belirlenmiştir. Buna karşın Poaceae polenlerinin ortalama sıcaklık ile doğru, minimum ve maksimum sıcaklık ile ters orantı gösterdiği belirlenmiştir. *Ambrosia* polenleri basınç ve rüzgar hızı ile doğru nem ile ters orantılı olarak değiştiği belirlenmiştir. Amb a 1 alerjen miktarının sadece maksimum sıcaklık ve rüzgar hızı ile doğru, nispi nem ile ters orantılı bir şekilde değişim gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 3.14).

3.5.1 Zonguldak İlinde İzlenen Bet v 1 ve Betulaceae Familyası Polenlerinin Meteorolojik Parametrelerle İlişkisi

Zonguldak ilinde polenler ile meteorolojik faktörler arasındaki ilişkiyi gösteren Çizelge 3.14'de görüldüğü üzere belirgin bir meteorolojik faktör ile değişim göstermemektedir. Cinsler bazında ele alındığında kısa bir dönem atmosferde izlenen *Betula* polenlerinin de herhangi bir meteorolojik faktörden anlamlı bir şekilde etkilenmediği göze çarpmaktadır. Geç kış döneminde çiçeklenen cinslerin (*Alnus* ve *Corylus*) sıcaklıkla ters orantılı olarak değişim gösterdiği görülmektedir. Bunun dışında atmosferde uzun süre izlenen *Carpinus* ve *Ostrya* cinslerine ait polenler ise sıcaklıktan olumlu yönde etkilenmektedir. Bunun yanı sıra sadece *Corylus* cinsi polenlerinin ikinci bir meteorolojik faktör ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu cinse ait polenler rüzgar hızının artışından olumlu yönde etkilenmektedir.

Zonguldak ilinde 2015 yılında Betulaceae polen konsantrasyonuna etki eden en önemli meteorolojik faktörlerin günlük ortalama sıcaklık, nem ve rüzgar hızı olduğu görülmektedir. Özellikle familya düzeyinde bakıldığında, ortalama nispi nemin

olumsuz, rüzgar hızının ise olumlu etki yapmaktadır. Buna karşın Bet v 1 alerjenlerin herhangi bir meteorolojik faktörle bağlantısı bulunamamıştır (Çizelge 3.15).

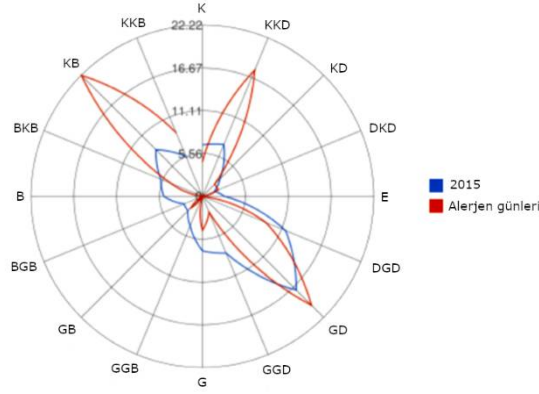
Çizelge 3.15 Zonguldak ili için meteorolojik parametreler ile Betulaceae familyası cinsleri arasındaki ilişki.

	<i>Betula</i>	<i>Alnus</i>	<i>Carpinus</i>	<i>Corylus</i>	<i>Ostrya</i>
Ort. Sıcaklık	0,165	-0,325**	0,309**	-0,212*	0,188*
Ort. Nispi Nem	-0,089	0,109	-0,119	-0,006	-0,178
Toplam Yağış	-0,003	0,037	-0,119	-0,024	0,052
Ort. Rüzgar Hızı	0,035	0,151	-0,125	0,271**	0,055
Rüzgar Yönü	-0,098	0,076	0,012	0,088	0,034

3.5.2 Zonguldak İlinde İzlenen Phl p 5 ve Poaceae Familyası Polenlerinin Meteorolojik Parametrelerle İlişkisi

2015 yılında Phl p 5 alerjen miktarı çok az olduğundan meteorolojik faktörlerle açıklamak oldukça zordur. Ancak Poaceae familyası ile ortalama sıcaklıkla doğru, maksimum ve minimum sıcaklık ile ters ilişkili olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.14). Nispi nem de Poaceae polenlerinin değişimine olumlu etki yapan etmen olarak görülmektedir.

Phl p 5 alerjenleri için istatistiksel bir meteorolojik faktör belirlenememiştir. Ancak alerjen gözlenen günlerdeki rüzgar yönlerinin Zonguldak ilindeki hâkim rüzgar yönlerinden farklı olduğu belirlenmiştir. Zonguldak ilinde 2015 yılındaki hâkim rüzgar yönü güney ve güneyin ara yönleri iken, alerjen belirlenen günlerde hâkim rüzgar yönünün kuzey kuzeybatı (KKB), kuzey kuzeydoğu (KKD) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 Zonguldak ilindeki hakim rüzgar yönü ile alerjen belirlenen günlere ait rüzgar gülü.

3.5.3 Zonguldak İlinde İzlenen Amb a 1 ve *Ambrosia* Polenlerinin Meteorolojik Parametrelerle İlişkisi

Analizler sonucunda *Ambrosia* polenlerinin basınç, nispi nem ve rüzgar hızı değişimlerinden etkilendiği belirlenmiştir. Bu polen tipi nispi nem ile ters orantılı bir değişim gösterirken, diğer iki parametre ile doğru orantılı bir değişim göstermektedir. Amb a 1 alerjeni için ise maksimum sıcaklık ile doğru, nispi nem ile ters orantı belirlenmiştir. Bu açıdan meteorolojik faktörlerle bağlantısı belirlenen tek alerjen olarak göze çarpmaktadır. Bununla beraber, nispi nem hem *Ambrosia* poleni hem de Amb a 1 alerjeninin aynı yönde etkileyen meteorolojik faktör olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.14).

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

2015 yılı boyunca Zonguldak ili atmosferindeki üç alerjen ile bu alerjenlerle bağlantılı polen tipleri izlenmiştir. Zonguldak ilinde 2001 yılından beri atmosferik polenlerin izlemesi yapılmakla beraber, bu tez çalışması ile Zonguldak atmosferinde gerçekleştirilen ilk aeroalerjen izleme çalışmasıdır.

Zonguldak ili atmosferinde yer alan polenlerle ilgili Burkard cihazının kullanıldığı en geniş kapsamlı çalışma, Doç. Dr. Ayşe KAPLAN'ın danışmanlığında, Dr. Yasin ÖZDOĞAN tarafından gerçekleştirilen tez çalışmasıdır. Bu tez çalışmasında 2007-2009 yılları arasında Zonguldak ili atmosferinde yer alan polenler izlenmiştir. Yine Serap Şahin tarafından gerçekleştirilen bir başka tez çalışmasında ise, 2014 yılında Betulaceae, Poaceae ve *Ambrosia* polenlerinin saatlik değişimleri belirlenmiştir. Bu tez temmuz ayından itibaren çalışıldığından, sadece *Ambrosia* verilerine yer verilmiştir. Bu iki tez çalışması ile beraber 2015 yılında belirlenen Poaceae, Betulaceae ve *Ambrosia* polenlerinin aylık değişimleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Zonguldak ilinde daha önce yapılmış olan bazı atmosferik çalışmalar ile tez çalışmasının karşılaştırmalı tablosu.

Yıl	Betulaceae	Poaceae	<i>Ambrosia</i>
2007	788	158	94
2008	734	212	193
2009	1028	444	171
2014	-	-	982,2
2015	1500,8	147,8	712,5

Zonguldak ilinde yapılan çalışmalar ele alındığında, Poaceae familyası dışında yer alan polenlerin yıllar içerisinde belirgin bir artış gösterdiği görülmektedir. Bu durum özellikle *Ambrosia* polenleri için oldukça çarpıcıdır. Bu sonuç, bitkinin Batı Karadeniz Bölgesinde görüldüğü ile ilgili raporlarla beraber değerlendirildiğinde, istilacı *Ambrosia artemisiifolia* bitkisinin yayılış alanının genişlediğini söylemek mümkündür.

Buna karşın son yıllarda Zonguldak il merkezinde ve Kozlu ilçesinde belirgin bir yapılaşma dikkati çekmektedir. Zonguldak ilinin engebeli yapısı da göz önüne alındığında, bu yapılaşmanın Poaceae familyası üyelerinin yaygın olduğu nispeten düzlük alanlarda yoğunlaşmakta ve bu bitkilerin yayılışını kısıtlamaktadır. Benzer sonuçlar Ankara ilinde yapılmış olan uzun süreli Poaceae polen gözlemlerinde de vurgulanmıştır. Ankara ilindeki Poaceae polen miktarındaki azalma kentleşme ile bağlantılı olduğuna vurgu yapılmıştır [51]. Bu durum duyarlı kişilerin polen maruziyetini azaltması açısından yararlı olmakla birlikte, çiftlikte yaşayan çocuklarda alerjik hastalıkların daha az görüldüğü ile ilgili çalışmalar mevcuttur [52]. Bu bakımdan Poaceae polenlerindeki bu azalma özellikle çocukların alerjen ile karşılaşma olasılığını düşürdüğünden, doğal immünite oluşması bakımından olumsuz etkileri olacaktır. Genel kaide olarak polen konsantrasyonu ile sıcaklık arasında doğru bir orantı bulunmaktadır [53–56]. Tez kapsamında elde edilen sonuçlar bu durumu destekler niteliktedir.

Betulaceae familyası için cins bazında sıcaklık ile elde edilen korelasyonlar daha belirgindir. Sırasıyla en yoğun şekilde Ocak ve Şubat aylarında izlenen *Corylus* ve *Alnus* polenlerinin bahar aylarında azalmasına karşın sıcaklıklar arttığından elde edilen sonuçlar tutarlıdır. Ancak bahar aylarındaki sıcaklık artışı ile birlikte erken baharda çiçeklenen *Ostrya* ve *Carpinus* polenleri de arttığından pozitif korelasyon görülmesi mantıklıdır. *Betula* polenleri ile belirgin bir korelasyonun elde edilememesi ise bu polenlerin az miktarda ve kısa sürede izlenmesi ile bağlantılı olabilir. Bir çok çalışmada, Betulaceae polenleri ile sıcaklık arasında pozitif korelasyon bulunmuştur [57]. Bu açıdan elde edilen değerler literatüre büyük oranda uyum göstermektedir.

Alerjen ve polen konsantrasyonlarının ele alındığı çalışmalarda polen potansiyeli adı verilen bir değer hesaplanmaktadır. Bu değer, kabaca bir polen başına düşen alerjen miktarını ifade etmektedir. Tez kapsamında polen başına düşen alerjen miktarları

hesaplandığında, Zonguldak gözlem istasyonundaki değerlerin diğer Avrupa ülkelerine göre oldukça düşük olduğu görülmektedir. Polen potansiyeli değeri hesaplanırken diğer çalışmaların aksine *Betula* polen konsantrasyonu değil, familya polen konsantrasyonu temel alınmıştır. Zonguldak ilinde Bet v 1 alerjeninin izole edildiği *Betula* cinsine ait polenler oldukça az miktarda izlenmiştir. Ancak Şekil 3.4’de *Ostrya* cinsi polenlerin ise yoğun bir şekilde görüldüğü ve alerjen miktarları ile az çok paralel gittiği görülmektedir. Bu durum Betulaceae familyası alerjenleri arasındaki çapraz reaktivite olgusu ile uyumludur. Bu durumun daha iyi gösterilebilmesi amacıyla bir deney planlanmıştır. Bu deneme için Betuloideae alt familyasını temsilen *Alnus*, Coryloideae alt familyasını temsilen *Carpinus* cinsi polenleri özütlenmiş ve Bet v 1 antikoru ile ELISA analizi yapılmıştır. Polen başına düşen alerjen miktarları ihmal edildiği bu çalışma sonucunda, *Alnus* polenlerinin daha yüksek optik densite değerine sahip olduğu görülmüştür. Bu nedenle kit antikorlarının Betuloideae alt familyasına daha çok bağlanma eğilimi gösterdiği konusunda önemli bir veri elde edilmiştir. Bu şekilde Zonguldak ili atmosferinde *Ostrya* cinsi alerjenleri Bet v 1 ELISA kiti ile belirlenmiş olmasına rağmen, kitin içerisindeki antikorların tam anlamı ile bu alerjene özgül olmamasından ötürü, Ost c 1 alerjeninin atmosferde ölçülenden daha fazla olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu alerjen ile yapılan karşılaştırmalarda sadece bu cinse ait polenler yerine tüm familya polen sayıları kullanılmıştır.

Ayrıca Zonguldak ilinin %52’si yaprak döken ağaçların oluşturduğu ormanlarla kaplıdır. Bu ormanların, büyük bir kısmını ise tez de polenleri izlenen *Corylus*, *Ostrya*, *Carpinus* ve *Alnus* cinsleri üyelerinden oluştuğundan, polen potansiyeli hesaplanmasında toplam polen konsantrasyonunun kullanılması elde edilen polen potansiyeli değerinin düşük olmasına neden olmuştur.

Dünya da atmosferik alerjen çalışmalarında en önemli sonuçlar HIALINE ekibi tarafından ortaya konmuştur. Beş Avrupa ülkesinde 2009 yılında gerçekleştirilen Bet v 1 izleme çalışma sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 HIALINE projesinin 2009 yılına ait Bet v 1 alerjen izleme sonuçlarının tez sonuçlarıyla karşılaştırılması.

	İngiltere	Fransa	Almanya	Finlandiya	İtalya	Zonguldak
Toplam Polen	2586	1705	3144	2923	235	156,5*/1500,8**
Bet v 1						
Mak.	755	986	2299	978	82	13,48
Toplam	5969	7046	13030	7634	681	70,7

* *Betula* poleni, ** Betulaceae poleni

Zonguldak ili atmosferindeki *Betula* poleni konsantrasyonu oldukça düşüktür. HIALINE projesindeki birçok istasyonda *Betula* bitkisinin yaygın olduğu göz önüne alındığında polen konsantrasyonunun düşük olması şaşırtıcı değildir. Ancak Çizelge 4.2'deki alerjen/polen oranlarına bakıldığında Zonguldak İlinde bu oranın 1'in altında diğerlerinde ise üstünde olduğu görülmektedir. Yukarıda sunulan deney verileri ışığında, Zonguldak ili atmosferinde belirlenen alerjenlerin belki de büyük bir kısmının Ost c 1 gibi alerjenlerden kaynaklandığı ancak ölçüm için kullanılan antikörlerin yeteri kadar özgül olmadığından ise Atmosferik *Ostrya* polen konsantrasyonunu yansıtabilecek düzeyde alerjen belirlenmesi yapılmadığı söylenebilir.

Tez sonucunda elde edilen bir diğer ilginç sonuç 18 Mayıs tarihinde belirlenen yüksek Betulaceae polen miktarıdır. Analizler sonucunda bu polenin gözlenmesinden sonra, belirgin bir alerjen konsantrasyonu belirlenmemiştir. Bu nedenle 16 Mayıs tarihinde belirlenen alerjenlerin 18 Mayıs günü atmosferde izlenen polenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan tez çalışması ile benzerlik gösteren HIALINE projesinden elde edilen sonuçlara bakıldığında, Bet v 1 miktarının genellikle polen pikleri ile birlikte gözlenmiştir [27]. Bu bakımdan elde edilen sonuçlar oldukça ilginçtir. Geri yörünge analizleri ise bu polenlerin Marmara bölgesinden taşınmış olabileceğine dair kanıtlar ortaya koymuştur. Marmara bölgesi ile Batı Karadeniz bölgesi arasındaki hava kütlelerinin hareketi ile ilgili bir başka bulgu ise *Ambrosia* polenleri ile ilgilidir. Biçakçı ve Tosunoğlu, 2015 Bursa ilinde yaptıkları çalışmada izledikleri polenlerin Batı Karadeniz'den taşınabileceğini ortaya koymuşlardır [39].

Öte yandan tez kapsamında atmosferde izlenen diğer bir alerjen olan Phl p 5 alerjeni için yine HIALINE ekibi tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 2009, 2010 ve 2011 yıllarındaki atmosferik Poaceae ve Phl p 5 alerjen miktarları incelenmiştir. Bu çalışmada elde edilen yıllık metreküpteki polen indeks değerlerinin bu tezde elde edilen değerlerden oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Farklı Avrupa ülkelerinde gerçekleştirilen Phl p 5 alerjen izleme sonuçları

	2009		2010		2011		Üç yıl
	Pİ	AP	Pİ	AP	Pİ	AP	AP
Avusturya	-	-	2,604	3,546	2,411	2,941	3,244
Finlandiya	654	1,592	738	1,992	782	1,535	1,706
Fransa	10.420	2,405	7,130	2,403	6,708	2,937	2,582
Almanya	2,041	3,042	1,821	2,127	2,184	2,133	2,434
İtalya	4,135	1,508	4,362	2,871	5,409	0,821	1,733
Polonya	6,078	2,703	7,898	3,398	4,482	1,996	2,699
Portekiz	5,725	2,144	17,113	1,499	22,815	1,545	1,729
İspanya	4,014	2,268	8,693	4,149	5,888	2,423	2,947
Türkiye (Bursa)	1,881	-	2,892	3,126	3,812	-	3,126
İngiltere	4,885	5,906	5,141	3,570	3,531	4,178	4,551

Pİ: Polen indeksi, AP: Alerjen potansiyeli

Ayrıca bu çalışmada, polen başına düşen alerjen miktarlarının hesaplanmasında günlük 10 polen/m³'ün altındaki konsantrasyonlar göz ardı edilmiş ve makalede toplam alerjen miktarlarına yer verilmemiştir. Bu nedenle toplam alerjen miktarlarının karşılaştırılması mümkün olamamıştır. Tez çalışmasında elde edilen polen konsantrasyonları oldukça düşük olduğundan, hesaplama dahil edilme için herhangi bir eşik değeri kabul edilmemiştir. Yine makalede polen başına düşen alerjen miktarları doğrusal regresyon denkleminin eğimlerine göre hesaplanmıştır. Phl p 5 alerjenlerinde gözlenen ilginç dağılım nedeniyle polen başına düşen alerjen miktarının hesaplanmasında regresyon eğimi yerine, toplam polen ve alerjen miktarları kullanılmıştır. Çalışmada polen başına

alerjen salınım değerleri 1,5 ila 5,9 arasında değişirken, yapılan çalışmada Zonguldak istasyonunda hesaplanan değerler, yukarıdaki çalışmada verilen değerlerin çok altındadır.

Zonguldak ilinde Phl p 5 alerjenlerinin bu denli düşük olmasının olası nedeni Zonguldak İlının topografik yapısı ile bağlantılı olabilir. Şekil 2.1'e bakıldığında Zonguldak İlinde yükseltinin güneye doğru hızla arttığı görülmektedir. Hakim rüzgar yönünün Güney ve ara yönleri olması, rüzgarla taşınan parçacıkların, yükseltelerin eteklerinde yer alan şehir merkezine ulaşmasına engel olmuş olabilir. Zaten alerjen belirlenen günlerdeki rüzgar gülleri incelendiğinde rüzgar yön rejiminin normalden farklı olduğu görülmektedir. Kuzeyden esen rüzgar il merkezi üzerinden denize doğru sürüklenen alerjenlerin şehre doğru geri gelmesine neden olmuş olabilir.

Hem Bet v 1 hem de Phl p 5 alerjenlerinin ele alındığı başka bir çalışmaya ait sonuçlar 2015 yılında yayınlanmıştır [58]. Almanya alplerinde iki istasyonda yapılan çalışmanın özet sonuçları Çizelge 4.4'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Almanya alplerinde gerçekleştirilen çalışmaya ait alerjen verileri.

	<i>Betula</i>				Poaceae			
	İst. 1 2009	İst. 2 2009	İst. 1 2010	İst. 2 2010	İst. 1 2009	İst. 2 2009	İst. 1 2010	İst. 2 2010
Top. All.(pg/m ³)	971,4	540,6	3618,1	650,8	-	166,9	42989,1	596,8
Polen pot. (pg/pollen)	3,3	3,7	1,8	1,1	-	0,7	5,7	1,5
Polen İndex	1481	343	1977	583	9535	403	4646	372

Yukarıdaki tablo incelendiğinde hem polen hem de alerjen verilerinin hem yıllar hem de istasyonlar arasında büyük değişiklikler gösterdiği görülmektedir. Ancak bu değişim oranları polen başına düşen alerjen (polen potansiyeli) miktarlarında bu denli göze çarpmamaktadır. Bu nedenle alerjen izleme çalışmalarının da polen takvimi oluşturma çalışmaları gibi uzun süre devam ettirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Zonguldak gözlem istasyonunun atmosferik polen yüküne katkı yapan polen tiplerinden bir tanesi de *Ambrosia* polenleridir. İstilacı bu bitki polenleri 2015 yılında atmosferde oldukça yoğun gözlenmiştir. Buna karşın, polen başına düşen alerjen miktarı göz önüne alındığında, atmosferik polen yükünü ifade edecek miktarda alerjen, Zonguldak istasyonundan elde edilememiştir. Bu durum, Zonguldak istasyonunun ortalama nem miktarı ve rüzgar yönü ile bağlantılı olabilir. Çalışmada elde edilen alerjen konsantrasyonlarının büyük bir kısmı, PM₁₀ olarak adlandırılan ve 10 µm'den büyük parçacıkların tutulduğu filtrelerde belirlenmiştir. Farklı bir bakış açısından bakılırsa, izlenen alerjenler serbest alerjenlerden ziyade polenin içerisinde ya da polenle beraber taşınan yahut polenler gibi aerodinamik çapa sahip parçacıklardan elde edilen alerjenlerdir.

Ambrosia polenleri basınç ve nem ile bağlantılı olarak değiştiği bulunmuştur. Alçak basınç sistemleri genellikle yağış ile ilişkilendirilmektedir [59]. Aynı zamanda yağış öncesi nemin artışı da iyi bilinen bir olgudur. Tez sonucunda elde edilen veriler ışığında yağmur öncesi bu polenlerin azalma eğiliminde olduğu söylenebilir. Özellikle nem artışı polenlerin ağırlığını artırarak, çökmelerine neden olmuş olabilir. Amb a 1 için de nemin olumsuz etkileri belirlenmiştir.

Ambrosia polen ve alerjenleri ile ilgili en detaylı çalışma, 2016 yılında gerçekleştirilmiştir. Polonya'nın Poznań kentinde gerçekleştirilen bu çalışmada HIALINE projesinde kullanılan ChemVol cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz tez kapsamında kullanılan cihaz ile aynı mantıkla toplama yapmakla beraber, dakikada 800L hava çekmektedir. Bu çalışma ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5 Poznań şehrinde gerçekleştirilen Amb a 1 alerjen izleme çalışma sonuçları ile tez sonuçlarının karşılaştırılması.

	Poznań	Zonguldak
	2011	2015
Toplam PM>10 alerjen (pg)	819,9	5590,96
Toplam 10>PM>2.5 alerjen (pg)	118	1253,58
Toplam Alerjen (pg)	937,8	6844,55
Toplam Polen (polen/m ³)	252	712,5
Polen potansiyeli	4,3	9,66

Çalışmada alerjen miktarları pikogram cinsinden verilmiştir. Tezde ise alerjenler ünite olarak verildiğinden tabloda tez verilerinin pikograma dönüşümü yapılmıştır. Amb a 1 alerjen miktarının belirlenmesinde kullanılan ELISA kiti içeriğinde miktarlar ünite olarak yer aldığından tez de bu şekilde verilmiştir. Ancak bu çalışma ile karşılaştırma yapmak için dönüşüm yapılmak zorunda kalınmıştır. Temel olarak bir ünite/ml Amb a 1 alerjeni bir mikrogram/ml'ye eş değer olarak kabul edilmektedir.

Sonuçlara bakıldığında Polonya gibi *Ambrosia* istilasını ile mücadele eden bir ülkeden daha fazla polen ve alerjen içeriği belirlenmiştir. Zonguldak istasyonu ortalama olarak Poznań'dan iki kat daha fazla polen başına alerjen içeriğine sahiptir.

Ambrosia artemisiifolia tarafından eksprese edilen Amb a 1 alerjeni, *Artemisia vulgaris* alerjenleri ile çapraz reaktivite göstermektedir. Yapılan bir çalışmada 60 Amb a 1 ya da Art v 6 duyarlı hastanın 38 tanesinin her iki alerjene de duyarlı olduğu gösterilmiştir [60]. Çalışmada atmosferik Amb a 1 konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılan ELISA kitlerinden sadece Amb a 1 kiti poliklonal antikorlar içermektedir. Bu nedenle kit içerisindeki antikorların aynı zamanda *Artemisia* alerjenlerine bağlanmış olma olasılığı da oldukça yüksektir. Bu senaryonun doğru olduğu durumda, polen başına düşen alerjen miktarının daha az olması gerekmektedir. Bu açıdan Zonguldak İli

atmosferinde gözlenen polenlerinin taşınan ve alerjen içeriğini kaybetmiş polenler olabileceği ihtimalini arttırmaktadır.





BOLUM 5

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması ülkemizdeki öncü çalışmalardan olmakla beraber, aeroalerjen dağılımı ve taşınımı konusunda önemli sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin atmosferik polen içeriğinin alerjen içeriğini yansıtmadığı ve bu konuda örnekleme istasyonunun coğrafik yapısının oldukça önemli olduğu ortaya konmuştur.

Öte yandan istilacı *A. artemisiifolia* bitkisinin henüz Zonguldak il sınırları içerisinde varlığı gösterilmemesine rağmen, gerek polen başına düşen alerjen miktarları gerekse toplam alerjen ve polen konsantrasyonu bakımından bu bitki ve poleni ile mücadele eden Polonya gibi ülkelerden bile yüksektir. Bu nedenle Zonguldak İlinde bu bitkinin yayılımının araştırılması ve mücadele edilmesi sadece bu İl için değil, başta Batı Karadeniz olmak üzere tüm ülkemiz için oldukça önem arz etmektedir.

Son yıllarda artan alerjen izleme çalışmalarının birçoğu çapraz reaktivite olgusu üzerinde durmaktadır. Amb a 1 düzeylerindeki, başka alerjen kaynaklı bu sapma monoklonal antikor kullanımı ile giderilebilir. Ancak aeroalerjen çalışmaları insanlardaki alerjik reaksiyonların şiddet ve tipini belirlemeye yönelik çalışmalar olduğundan, alerjen izleme çalışmalarında *Artemisia* ve diğer sistematik olarak benzer bitki polen ile alerjenlerin de izlenmesi gereklidir. Ayrıca onlara özgül antikorlar ile bu tür çalışmalar da yapılmalıdır.



KAYNAKLAR

- [1] **Biçakçı A, Altunoğlu M K, Bilişik A, Çelenk S, Canitez Y, Malyer H, and Sapan N** (2009) Türkiye'nin atmosferik polenleri. *Asthma Allergy Immunol. Allerji Immunoloji*, 7 (1): 1.
- [2] **Alan Ş, Yıldırım Ö, and Pınar N M** (2010) Starch Grains in Turkish Betula (Birch) and Corylus (Hazel) Pollens. *Asthma Allergy Immunol.*, 8 (2): 108–111.
- [3] **Suphioglu C** (1998) Thunderstorm asthma due to grass pollen. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 116 (4): 253–260.
- [4] **El-Ghazaly G, Nakamura S, Takahashi Y, Cresti M, Walles B, and Milanese C** (1996) Localization of the major allergen Bet v 1 in Betula pollen using monoclonal antibody labelling. *Grana*, 35 (6): 369–374.
- [5] **TAHAMİLER R, EDİZER D T, and ÇANAKÇIOĞLU S** (2006) Sürekli Alerjik Rinit ve Etkilenen Yaşam Kalitesi. *Turk. Klin. J. Intern. Med. Sci.*, 2 (6): 31–34.
- [6] **Erkara I P** (2008) Concentrations of airborne pollen grains in Sivrihisar (Eskisehir), Turkey. *Environ. Monit. Assess.*, 138 (1–3): 81–91.
- [7] **Hershey G K K, Friedrich M F, Esswein L A, Thomas M L, and Chatila T A** (1997) The association of atopy with a gain-of-function mutation in the α subunit of the interleukin-4 receptor. *N. Engl. J. Med.*, 337 (24): 1720–1725.
- [8] **Chanda S and Caulton E** (1999) David Douglas Cunningham (1843–1914): a biographical profile. *Aerobiologia*, 15 (4): 255–258.
- [9] **Saad S I** (1959) Studies in atmospheric pollen grains and fungus spores at Alexandria. *Egypt J Bot*, 17–27.
- [10] **Nilsson S and Persson S** (1981) Tree pollen spectra in the Stockholm region (Sweden), 1973–1980. *Grana*, 20 (3): 179–182.
- [11] **Chanda S** (1991) Presidential address: aerobiology—science in progress. *Grana*, 30 (1): 5–8.
- [12] **Karamanoglu K and Ozkaragöz K** (1967) A preliminary report on the allergenic plants of Ankara. *Ann. Allergy*, 25 (1): 23.
- [13] **AYTUĞ B, AYKUT S, MEREV N, and Gülten E** (1974) Belgrat Ormanı'nın ve İstanbul Çevresi Bitkilerinin Polinizasyon Olayının Tesbiti ve Değerlendirilmesi.
- [14] **Yurdukoru S** (1979) Samsun ili havasındaki allerjenik polenler. *Ank. Tıp Bül.*, 1: 37–44.
- [15] **Gemici Y, Seçmen Ö, and Ünal E** (1989) İzmir yöresinin polinizasyon takvimi. III. *Ulus. Allerjik Hastalık Kongresi 1987 Çeşme İzmir*, .
- [16] **Ali İ and PEHLİVAN S** (1990) Serik (Antalya) Havasının Alerjenik Polenleri ile İlgili Bir Araştırma. *Gazi Med. J.*, 1 (1): .
- [17] **İnceoğlu Ö, Pınar N M, Şakiyan N, and Sorkun K** (1994) Airborne pollen concentration in Ankara, Turkey 1990–1993. *Grana*, 33 (3): 158–161.
- [18] **Çeter T and Pınar N M** (2008) Kastamonu ili (Merkez) atmosferi polen ve sporları ve bunların meteorolojik faktörlerle değişimi (Ocak 2006-Aralık 2007)[Tez]. *Ank. Ank. Üniversitesi*, .
- [19] **Beyoğlu S** (2006) Cladosporium Link ve Alternaria Nees ex Wallroth sporlarının Adana atmosferindeki miktarları ve meteorolojik faktörlerin spor miktarı üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi. *Fen Bilim. Enstitüsü Ank.*, .
- [20] **Erkan M L, Çeter T, Atıcı A G, Özkaya Ş, Alan Ş, Tuna T, and Pınar N M** (2006) Samsun ilinin polen ve spor takvimi. *XIII Ulus. Allerji Ve Klin. İmmünoloji Kongresi 6-10 Kasım 2006 Antalya*, .

- [21] **Çeter T, Pinar N M, Güney K, Yildiz A, Aşçı B, and Smith M** (2012) A 2-year aeropalynological survey of allergenic pollen in the atmosphere of Kastamonu, Turkey. *Aerobiologia*, 28 (3): 355–366.
- [22] **Kaplan A** (2004) Airborne pollen grains in Zonguldak, Turkey, 2001-2002. *ACTA Bot. Sin.-Engl. Ed.*, 46 (6): 668–674.
- [23] **Alan Ş and Kaplan A** (2004) Zonguldak ili atmosferinin polen ve spor analizi (2003-2004)[Tez]. *Zonguldak Karaelmas Üniversitesi*, .
- [24] **Schäppi G F, Monn C, Wüthrich B, and Wanner H-U** (1996) Direct determination of allergens in ambient aerosols: methodological aspects. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 110 (4): 364–370.
- [25] **Yli-Panula E and Rantio-Lehtimäki A** (1995) Birch-pollen antigenic activity of settled dust in rural and urban homes. *Allergy*, 50 (4): 303–307.
- [26] **Buters J T M, Weichenmeier I, Ochs S, Pusch G, Kreyling W, Boere A J F, Schober W, and Behrendt H** (2010) The allergen Bet v 1 in fractions of ambient air deviates from birch pollen counts. *Allergy*, 65 (7): 850–858.
- [27] **Buters J T, Thibaudon M, Smith M, Kennedy R, Rantio-Lehtimäki A, Albertini R, Reese G, Weber B, Galan C, and Brandao R** (2012) Release of Bet v 1 from birch pollen from 5 European countries. Results from the HIALINE study. *Atmos. Environ.*, 55: 496–505.
- [28] **Plaza M P, Alcázar P, Hernández-Ceballos M A, and Galán C** (2016) Mismatch in aeroallergens and airborne grass pollen concentrations. *Atmos. Environ.*, 144: 361–369.
- [29] **Bogawski P, Jenerowicz D, Czarnecka-Operacz M, Šikoparija B, Skjøth C A, and Smith M** (2016) Mesoscale atmospheric transport of ragweed pollen allergens from infected to uninfected areas. *Int. J. Biometeorol.*, 60 (10): 1493–1500.
- [30] **Roby D, Broglie K, Cressman R, Biddle P, Chet I L, and Broglie R** (1990) Activation of a bean chitinase promoter in transgenic tobacco plants by phytopathogenic fungi. *Plant Cell*, 2 (10): 999–1007.
- [31] **Lotan T and Fluhr R** (1990) Function and regulated accumulation of plant pathogenesis-related proteins. *Symbiosis Rehovot*, 8 (1): 33–46.
- [32] **Malamy J, Carr J P, Klessig D F, and Raskin I** (1990) Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science*, 250 (4983): 1002–1004.
- [33] **Van de Rhee M D, Van Kan J A, González-Jaén M T, and Bol J F** (1990) Analysis of regulatory elements involved in the induction of two tobacco genes by salicylate treatment and virus infection. *Plant Cell*, 2 (4): 357–366.
- [34] **Westphat E, Dreger F, and Bronner R** (1990) The gall mite *Aceria cladophthirus*. I. Life-cycle, survival outside the gall and symptoms' expression on susceptible or resistant *Solanum dulcamara* plants. *Exp. Appl. Acarol.*, 9 (3–4): 183–200.
- [35] **Flicker S, Vrtala S, Steinberger P, Vangelista L, Bufe A, Petersen A, Ghannadan M, Sperr W R, Valent P, and Norderhaug L** (2000) A human monoclonal IgE antibody defines a highly allergenic fragment of the major timothy grass pollen allergen, Phl p 5: molecular, immunological, and structural characterization of the epitope-containing domain. *J. Immunol.*, 165 (7): 3849–3859.

- [36] Alan Ş, Şahin A A, Sarışahin T, Şahin S, Kaplan A, and Pınar N M (2018) The effect of geographical and climatic properties on grass pollen and Phl p 5 allergen release. *Int. J. Biometeorol.*, 1–13.
- [37] D'amato G, Cecchi L, Bonini S, Nunes C, Annesi-Maesano I, Behrendt H, Liccardi G, Popov T, and Van Cauwenberge P (2007) Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62 (9): 976–990.
- [38] Zemmer F, Karaca F, and Ozkaragoz F (2012) Ragweed pollen observed in Turkey: detection of sources using back trajectory models. *Sci. Total Environ.*, 430: 101–108.
- [39] BIÇAKÇI A and TOSUNOĞLU A (2015) Allerjenik Ambrosia (zaylan) polenlerinin Türkiye'deki dağılımları. *Asthma Allergy Immunol. Allerji Immunoloji*, 13 (1): .
- [40] Ozaslan C, Onen H, Farooq S, Gunal H, and Akyol N (2016) Common ragweed: an emerging threat for sunflower production and human health in Turkey. *Weed Biol. Manag.*, 16 (1): 42–55.
- [41] Behçet L (2004) A new record for the flora of Turkey: *Ambrosia tenuifolia* Spreng.(Compositae). *Turk. J. Bot.*, 28 (1–2): 201–203.
- [42] Turich M P, Hamilton D A, and Mascarenhas J P (1993) Isolation and characterization of pollen-specific maize genes with sequence homology to ragweed allergens and pectate lyases. *Plant Mol. Biol.*, 23 (5): 1061–1065.
- [43] Stewart G A and Thompson P J (1996) The biochemistry of common aeroallergens. *Clin. Exp. Allergy*, 26 (9): 1020–1044.
- [44] Keçeli T (2004) Batı Karadeniz Bölgesi (Bolu-Zonguldak-Bartın-Kastamonu) Ciğerotları (Hepaticae) Florası. *Doktora Tezi*, .
- [45] Sözen M (2008) Zonguldak İli Biyoçeşitliliği. *Artiodactyla Çift Toynaklılar TC Çevre Ve Orman Bakanl. Zonguldak İl Müdürlüğü Doğa Koruma Ve Milli Park Şube Müdürlüğü Bakanl. Yayın*, (362): 543–546.
- [46] Karacan C Ö and Okandan E (2000) Fracture/cleat analysis of coals from Zonguldak Basin (northwestern Turkey) relative to the potential of coalbed methane production. *Int. J. Coal Geol.*, 44 (2): 109–125.
- [47] Can E, Kuşcu Ş, and Kartal M E (2012) Effects of mining subsidence on masonry buildings in Zonguldak hard coal region in Turkey. *Environ. Earth Sci.*, 66 (8): 2503–2518.
- [48] ALATAŞ M, EZER T, KARA R, and BATAN N (2015) Beldibi ve Babadağ Ormanlarının Epifitik Briyofitleri (Zonguldak, Türkiye). *Anatol. Bryol.*, 1 (1): 10–17.
- [49] Akman Y (1999) İklim ve Biyoiklim, Kariyer Matbaacılık Ltd. *Şti Ank.*, .
- [50] Team R C (2013) R: A language and environment for statistical computing. .
- [51] ACAR A, ALAN Ş, KAPLAN A, BAYSAL E Ö, DOĞAN C, and PINAR N M (2017) General trends in atmospheric pollen concentration in the high populated city of Ankara, Turkey. *Karaelmas Fen Ve Mühendis. Derg.*, 7 (1): 40–46.
- [52] Von Mutius E and Vercelli D (2010) Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat. Rev. Immunol.*, 10 (12): 861.
- [53] Puc M (2012) Artificial neural network model of the relationship between *Betula* pollen and meteorological factors in Szczecin (Poland). *Int. J. Biometeorol.*, 56 (2): 395–401.
- [54] Rodriguez-Rajo F J, Frenguelli G, and Jato M V (2003) Effect of air temperature on forecasting the start of the *Betula* pollen season at two contrasting sites in the south of Europe (1995–2001). *Int. J. Biometeorol.*, 47 (3): 117–125.

- [55] **Docampo S, Recio M, Trigo M M, Melgar M, and Cabezudo B** (2007) Risk of pollen allergy in Nerja (southern Spain): a pollen calendar. *Aerobiologia*, 23 (3): 189.
- [56] **Fernández-Rodríguez S, Tormo-Molina R, Maya-Manzano J M, Silva-Palacios I, and Gonzalo-Garijo Á** (2014) Comparative study of the effect of distance on the daily and hourly pollen counts in a city in the south-western Iberian Peninsula. *Aerobiologia*, 30 (2): 173–187.
- [57] **Donders T H, Hagemans K, Dekker S C, de Weger L A, and de Klerk P** (2014) Region-Specific Sensitivity of Anemophilous Pollen Deposition to. .
- [58] **Jochner S, Lüpke M, Laube J, Weichenmeier I, Pusch G, Traidl-Hoffmann C, Schmidt-Weber C, Buters J T, and Menzel A** (2015) Seasonal variation of birch and grass pollen loads and allergen release at two sites in the German Alps. *Atmos. Environ.*, 122: 83–93.
- [59] **Türkeş M** (2000) Hava, İklim, Şiddetli Hava Olayları ve Küresel Isınma. *TC Başbakanlık Devl. Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü*, 187–205.
- [60] **Jahn-Schmid B, Hauser M, Wopfner N, Briza P, Berger U E, Asero R, Ebner C, Ferreira F, and Bohle B** (2012) Humoral and cellular cross-reactivity between Amb a 1, the major ragweed pollen allergen, and its mugwort homolog Art v 6. *J. Immunol.*, 188 (3): 1559–1567.

EK AÇIKLAMALAR

EK A: Tez Çalışmasında Kullanılan Tamponların İçerikleri

Özütleme Tamponu:

Amonyum bikarbonat	3,95
gr		
Amonyak (%25'lik)	210 µl
BSA (PM>10 için)	0,5 gr
BSA (10>PM>2.5 için)	1,25
gr		
Saf su	500
ml		

50mM karbonat/birkarbonat Tamponu:

Sodyum bikarbonat	2,93 gr
Sodyum karbonat	1,59 gr
Saf su	1000
ml		

Tween'li Fosfat Tamponu (Yıkama Tamponu)

Sodyum klorür	8 gr
Potasyum fosfat monobazik	0,2 gr
Sodyum fosfat dibazik	1,15 gr
Potasyum klorür	0,2 gr
Tween 20	0,5 ml
Thimerosal	0,1 gr
Saf su	1000 ml

Yukarıda ki kimyasallar tartılır ve 500 ml de çözüldükten sonra içerisine 0,05 ml Tween 20 konularak PH 7,4 e ayarlanır 1000 ml tamamlanır. ELISA işlemlerinin yapım

aşamalarında kullanılmak üzere hazırlanan tamponun içerisinde 50 ml si alınır ve içerisine 0,5 gr BSA eklenerek kullanılmaya kadar +4 C⁰ ye kaldırılır. Geriye kalan 950ml tamponda yıkama işlemlerinde kullanılır.

Substrat Tamponu

Sitrik asit	0,57 gr
Sodyum fosfat dibazik	1,79 gr
ABTS*	0,055 gr
Hidrojen peroksit	5,82

µl/10ml

*(2,2'-Azino-Bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) diammonium

MOWIOL Çözeltisinin Hazırlanması

35 g MOWIOL, 100 ml distile su içerisinde sürekli karıştırılarak 70°C'de eritilmiştir. Karışım 2 gün oda sıcaklığında bekletilmiş, daha sonra karışıma 50 ml gliserol ve 2 gr fenol eklenerek karışımın krem şekline dönmesi sağlanmıştır (Fokkema ve Jan 1971, Baschong vd. 2001).

Gliserin-Jelatin Hazırlanması

1 gr jelatin 6 ml saf su içerisine konular ve 2 saat beklenerek yumuşaması sağlanır. Bunun üzerine 7 ml gliserin ilave edilerek 50 °C'lik sıcak su banyosuna konur ve 10-15 dk süre ile topaklaşma olmaması için karıştırılır. Karışıma dezenfektan olarak küçük bir timol kristali veya yoğun fenol çözeltisinden birkaç damla damlatılır. Karışım soğumadan cam pamuğundan süzülür. Soğuyan karışım katılaştır. Kullanılacağı zaman 50-60 °C'lik sıcak su banyosunda eritilir. Bu karışım 48 mm uzunluğundaki bant parçasını lam üzerine yapıştırmak için kullanılır.

Hazırlanan bu gliserin-jelatin içine polen ve sporları boyamak üzere spatül ucuyla çok az miktarda safranin ilave edilerek safraninli gliserin-jelatin hazırlanabilir.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladıktan sonra, lisans eğitimini ise Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2009-2013 yılları arasında tamamladı. 2014 yılından beri palinoloji ve moleküler aerobioloji konularında çalışmalarını sürdürmektedir. 113Z762 numaralı TÜBİTAK projesinde bursiyer olarak görev almış ve bugüne kadar 2 adet SCI indeks kapsamında yayın ile çok sayıda poster bildirileri bulunmaktadır.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
Aeroalerjen Laboratuvarı, 67100 İncivez/Zonguldak

Tel: (+90) 372 291 15 47

E-posta: tsarisahin@gmail.com