

En Küçük Etkili Doz Düzeyini Belirleme Yöntemlerinin Karşılaştırmaları

Murat HÜSREVOĞLU, Hamza GAMGAM*

Gazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, İstatistik Bölümü, Teknikokullar, Ankara

Özet: Toksikolojik ve ilaç geliştirme çalışmalarında maruz kalınan hastalığı iyileştirmede kullanılacak en küçük etkili doz düzeyi bulunmak istenir. Sınır olarak alınan sıfır kontrol dozunu (placebo kontrol) aşan ilk doz düzeyi en küçük etkili doz düzeyi olarak adlandırılır. En küçük etkili doz düzeyi varyans analizinde ortalamalar arasında fark yoktur hipotezi reddedilmesinden sonra yapılan çoklu karşılaştırma testleri ile belirlenmektedir. Bu çalışmada en küçük etkili doz düzeyinin belirlenmesi için kullanılan ikili ve Helmert karşılaştırmaları ele alınıp bu yöntemlerin parametrik ve parametrik olmayan uyarlamaları karşılaştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: En küçük etkili doz, geriye doğru kapalı test yöntemi, familywise hata oranı, çoklu karşılaştırmalar.

Comparisons of the Methods for Finding the Minimum Effective Dose

Abstract: In development studies of toxicological and medicine, minimum effective dose (MED) which deal with any illness, is wanted to be found. The first dose exceeds the zero control dose (or placebo control dose) which can be taken a boundary value, is called MED. The MED is detected by multiple comparisons after the null hypothesis which is "there is no difference between the means.", is rejected in ANOVA. In this study pairwise and Helmert comparisons which is used for detecting MED are studied. For this comparisons parametric and non-parametric step-down closed analysis methods are compared according to their empirical significance levels.

Key Words: Minimum effective dose, step-down closed analyze method, familywise error rate, multiple comparisons

Giriş

İkiden fazla bağımsız örnekten derlenen veri ile ortalamaların eşitliği hipotezinin testi için bilinen tekniklerden biri Tek Faktör Varyans Analizidir. Ortalamaların eşitliği hipotezi reddedildiğinde bu ortalamaların ikili ve daha fazla terimli kombinasyonları için çoklu karşılaştırma yöntemleri kullanılır. Bu yöntemlerden yaygın olarak kullanılanlar Fisher, Scheffe ve Tukey yöntemleridir [1].

Bu çoklu karşılaştırma yöntemleri dışında Tek-Adım Yöntemi (Single-Step) ve Adımsal (Stepwise) yöntemler de önerilmiştir. Bu yöntemlerden adımsal yöntem İleriye Doğru (Step-up) ve Geriye Doğru (Step-Down) olmak üzere iki başlık altında incelenebilir [2]. Özellikle toksikolojik ve ilaç geliştirme çalışmalarında bu çoklu karşılaştırma teknikleri diğer yöntemlere göre daha sıklıkla kullanılmaktadır. Geriye doğru kapalı test yöntemi, varyans analizinden sonra çoklu karşılaştırma amaçlı kullanılabileceği gibi tek başına bir analiz yöntemi olarak da kullanılabilir. Geriye doğru kapalı test yöntemini diğer karşılaştırma yöntemlerinden ayıran özellik, bağımlı değişkeni etkileyen faktör düzeylerini belirlerken faktör düzeylerini bir sıralamaya bağlı kalarak ele almasıdır. Bu anlamda geriye doğru kapalı test yöntemi, Adımsal Regresyon ve Ayırma Analizi ile benzerlik gösterir. Bunun yanı sıra, parametrik veya parametrik olmayan varyans analizi sonucunda ortalamalar arasında anlamlı bir farklılık bulunduğu, bu farklılığa katkıda

*gamgam@gazi.edu.tr

bulunan faktör düzeylerinin belirlenmesinde de kullanılabilir. Zira bu yöntemde, her defasında ortalamalar arası farklılığa anlamlı etki yapan faktör düzeyleri modele alınmakta ve hangi faktör düzeyinin ortalamalar arası farklılığa anlamlı katkıda bulunduğu konusunda bilgiler edinilebilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu amaçla etkin ve sık kullanılan başka çoklu karşılaştırma yöntemi yoktur [3]. Bu yüzden toksikolojik ve ilaç geliştirme çalışmalarında, bir bileşime maruz kalan birimler üzerindeki etki araştırılırken genellikle geriye doğru kapalı test yöntemine başvurulmaktadır.

İlaç geliştirme çalışmaları yapılırken, canlı yaşamını olumlu ya da olumsuz etkileyen faktör veya faktörlerin etkisi saptanmak istenir. Sonra bu faktör veya faktörlerin canlı yaşamındaki etkilerini görmek ve bu etkiyi yok etmek için bir ilaç geliştirmek amaçlanır. Bu tip çalışmalarda, araştırılmak istenilen hastalığa maruz kalan birimler ilk önce rastgele olarak gruplara ayrılır. Daha sonra bu gruplardan herhangi biri bu bileşimin görülmediği bir sıfır doz düzeyi, yani kontrol düzeyi (placebo control) olarak tanımlanır ve diğer gruplara hastalığı gidermede kullanılacak olan belirli doz düzeylerinde bileşim uygulanır. Burada kontrol düzeyinin kullanım amacı, hiçbir kimyasal veya biyolojik etkisi olmayan bir maddenin, hasta için psikolojik kontrol grubunu oluşturmasıdır. Sonra maruz kalınan (doz) bileşim miktarı ile bu bileşime maruz kalındıktan sonra gözlenen vücut işlevleri veya sağlık değişiklikleri arasındaki ilişki incelenir. Bu ilişki doz-yanıt ilişkisi olarak adlandırılır.

Doz-yanıt çalışmalarında doz düzeylerinin etkileri tek yönlü bir tasarımda araştırılabilir. Burada en önemli amaç ayırma kriteri olarak alınan sıfır kontrol dozunu aşan En Küçük Etkili Doz Düzeyi'ni (EED) belirlemektir [4]. Bu çalışmada En Küçük Etkili Doz ϑ_{EED} simgesi ile gösterilmiştir. En küçük etkili doz düzeyinin belirlenmesi, kontrol doz düzeyi ortalaması ile farklı doz düzeylerindeki ortalamaların karşılaştırılması sonucunda ortaya çıkar. Literatürde ϑ_{EED} için parametrik ve parametrik olmayan birçok çoklu karşılaştırma yöntemi geliştirilmiştir. Bunlar İkili (Pairwise), Helmert, Ters Helmert, Basin, Doğrusal Bağlantı vb. karşılaştırmalarını temel alan yöntemlerdir. Doz-yanıt çalışmalarında karşılaştırmalar için tek adım, ileriye doğru ve geriye doğru yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin kullanılması ile ϑ_{EED} bulunabilir. Parametrik olmayan yöntemler ile karşılaştırmaları temel alan yöntemler, izotonik regresyonu temel alan yöntemlere göre hesaplama bakımından daha kullanışlıdır.

Williams (1971, 1972), yanıtların normal dağıldığını varsayarak ilk minimum doz bulma yöntemini önermiştir [5,6]. Önerilen bu yöntem minimum dozu bulmak için örnek ortalamaların monoton doz-yanıt ilişkisi için izotonik regresyonu temel alan Geriye Doğru Kapalı Test (Step-down closed) yöntemidir. Ruberg (1989), ϑ_{EED} için örnek ortalamalarının farklı karşılaştırma biçimlerini temel alan Tek Adım Çoklu Test yöntemini geliştirmiştir[4]. Tamhane ve ark. (1996), ϑ_{EED} için örnek ortalamalarının çeşitli karşılaştırmaları temel alan bazı adimsal kapalı test yöntemlerini daha ayrıntılı incelemişler ve İkili ve Helmert karşılaştırmaları için geriye doğru kapalı test yöntemini birleştirmişlerdir [7].

Normallik varsayımının sağlanmadığı durumlarda ise en küçük etkili doz düzeyinin belirlenmesi için birçok parametrik olmayan yöntem geliştirilmiştir. Shirley (1977), monoton doz-yanıt ilişkisi için *Kruskal-Wallis* sıra ortalamalarının izotonik regresyonu temel alan çoklu testleri önermiştir[8]. Shirley (1977) tarafından önerilen bu yöntem, Williams (1971, 1972) tarafından önerilen test yönteminin parametrik olmayan benzer bir biçimidir. Williams (1986) daha sonra Shirley (1977) tarafından önerilen test yönteminin geliştirilmiş bir biçimini önermiştir [9]. Chen ve Wolfe (1993), doz-yanıt ilişkisinin şemsiye biçimli olduğu durumlar için sıra sayılarını temel alan izotonik regresyon tahmin edicilerine dayalı çoklu test yöntemlerini önermişlerdir [10]. Chen (1999), iki örnek için *Mann-Whitney* istatistiğini temel alan bir geriye doğru kapalı test yöntemini önermiştir [11]. *Kruskal-Wallis* sıra sayıları toplamlarının farkını temel alan geriye doğru kapalı test yöntemi Jan ve Shieh (2004) tarafından çalışılmıştır [12]. Burada karşılaştırma olarak İkili ve Helmert karşılaştırmalarını kullanmışlardır.

ϑ_{EED} belirlendikten sonra bu test için literatürde *Familywise hata oranı* (Familywise Error Rate, FWE) olarak adlandırılan p -değeri bulunur. FWE, bir grup anlamlılık testi yapıldığı zaman bir veya daha fazla anlamlı test sonucunun I tip hata yapma olasılığı olarak tanımlanır.

Bu çalışmanın ikinci bölümünde en küçük etkili dozun bulunması amacıyla kullanılan karşılaştırmalardaki test istatistiklerine ilişkin temel kavramlar, parametrik ve parametrik olmayan ikili ve Helmert karşılaştırmaları ve geriye doğru kapalı test yöntemi tanıtılmıştır. Üçüncü bölümde Jan ve Shieh (2004) ile Tamhane ve ark. (1996) tarafından önerilen geriye doğru kapalı test yöntemleri bir simülasyon çalışmasıyla karşılaştırılmıştır. Son olarak dördüncü bölümde sonuç ve öneriler sunulmuştur.

Geriyeye doğru kapalı test yöntemi ile en küçük etkili doz düzeyinin belirlenmesi

Geriyeye doğru kapalı test yönteminde dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, hipotez testinde karşılaştırma yapılan faktör düzeylerinin belirli bir sıralamaya bağlı kalarak yapılmasıdır ve bu sıralamanın doğru olarak belirlenmesi gerekir. Diğer yandan, hipotez testinde karşılaştırma yapılan faktör düzeylerinin sırasının değişmesi, uygulanan testin sonucundaki yorumu da değiştirmektedir. Zira bu sıralamadaki değişiklik yanlış ϑ_{EED} 'in bulunmasına neden olabilir. Bu yüzden hipotez testindeki sıralama elde edilen sonuçları belirgin bir şekilde değiştirmektedir. Ayrıca en küçük etkili doz düzeyinden daha düşük bir doz düzeyinin belirlenmesi canlı yaşamını olumsuz etkileyebileceği için, toksikolojik ve ilaç geliştirme çalışmalarında, en küçük etkili doz düzeyi olarak belirlenen doz düzeyinden daha küçük dozların etkisi yokmuş gibi kabul edilir. Bu durum $1 \leq i_1 < i_2 < L < i_m \leq k$ için $H_{0_{i_1}} \supset H_{0_{i_2}} \supset L \supset H_{0_{i_m}} = H_{0_{i_m}}$ hipotez ailesinin kapalılık özelliğine sahip olduğunu göstermektedir. Bu bölümde *familywise hata oranı*, parametrik ve parametrik durumlarda kullanılan ikili ve Helmert karşılaştırmaları ve geriye doğru kapalı analiz yöntemi verilmiştir.

Familywise hata oranı

İkili karşılaştırmalar yapılırken $\binom{k}{2}$ kombinasyonu kadar ikili karşılaştırma yapılır. Bu

karşılaştırmaların yokluk hipotezleri bir aile olarak düşünülür ve bu ailelerden istatistiksel bir sonuç çıkarmak için bir ikili karşılaştırma hata oranına (per-comparison error rate=PCE) ihtiyaç vardır. Bu hata oranı her bir karşılaştırma için yapılan I tip hata olasılığı olarak adlandırılır ve α değerine eşittir. Fakat ne kadar çok karşılaştırma yapılırsa I tip hata olasılığı da o kadar büyük olur. Bundan dolayı ikili karşılaştırma hata oranı α düzeyinde hatalı anlamlı sonuçların olasılığını kontrol edemez. Bu sorunu ortadan kaldırmak için *familywise hata oranı* kullanılır. Bu *familywise hata oranı* bir grup anlamlılık testi yapıldığı zaman bir veya daha fazla anlamlı test sonuçlarının I tip hata yapma olasılığı olarak tanımlanır ve bu çalışmada bu hata oranı FWE olarak gösterilecektir. *Familywise hata oranı* olan $FWE = \{ \text{en az bir doğru } H_{0_i} \text{ reddedilirse} \}$ oranı

$$FWE = 1 - [1 - \Phi(F)]^{\binom{k}{2}} \quad (1)$$

ile elde edilir[13]. Burada $\Phi(F)$ standart normal dağılım fonksiyonu ve k karşılaştırılan grup sayısını ifade etmektedir.

İkili (Pairwise) karşılaştırma

Varyans analizi sonucundan "ortalamalar arasında fark yoktur" hipotezi reddedildikten sonra yapılan karşılaştırmalardan biri ikili (Pairwise) karşılaştırmalardır. İkili karşılaştırma hipotezleri

$$H_{0i} : a_{i0}\mu_0 + a_{i1}\mu_1 + \dots + a_{ik}\mu_k = 0$$

ve

$$, i = 1, 2, \dots, k \quad (2)$$

$$H_{1i} : a_{i0}\mu_0 + a_{i1}\mu_1 + \dots + a_{ik}\mu_k \neq 0$$

biçiminde ifade edilir. Doz-yanıt çalışmalarında ikili karşılaştırmaların amacı kontrol doz düzeyi ile etkisi araştırılan doz düzeyi arasında bir farkın olup olmadığının belirlenmesidir. Yani etkisi araştırılan doz düzeyine ait ağırlık katsayısı 1 ve kontrol düzeyine ait ağırlık katsayısı -1 değerini alır ve geriye kalan doz düzeylerine ait ağırlık katsayıları sifıra eşit olur. i . doz düzeyi için ikili karşılaştırma ağırlık katsayıları

$$a_{ij} = \begin{cases} -1, & j = 0 \\ 1, & j = i \\ 0, & j = d.h. \end{cases}, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (3)$$

ile elde edilir. Bu karşılaştırmaya ilişkin test istatistiği parametrik ve parametrik olmayan durumlar için iki farklı biçimdedir. Parametrik durumlar için Tamhane ve ark. (1996) tarafından önerilen ikili karşılaştırma yöntemi, etkisi araştırılmak istenen i . doz düzeyi ortalaması ile kontrol doz düzeyi ortalamasına dayalıdır. Bu test istatistiği j . doz düzeyine ilişkin ortalama \bar{x}_j , varyans s_j^2 ve bu doz düzeyindeki örnek hacmi n_j olmak üzere

$$TP_i = \frac{\sum_{j=0}^k a_{ij}\bar{x}_j}{\sqrt{\left[\frac{s_0^2(n_0 + 1) + s_j^2(n_j + 1)}{n_0 + n_j - 2} \right] \left[\frac{a_{i0}^2}{n_0} + \sum_{j=1}^k \frac{a_{ij}^2}{n_j} \right]}} \quad (4)$$

ile verilir[7]. TP_i test istatistiği, $v = \sum_{j=0}^k n_j - (k + 1)$ serbestlik dereceli ve $\{\rho_{ij}\}$ korelasyon matrisine sahip çok değişkenli t dağılımına sahiptir.

Parametrik olmayan durumlarda ise Jan ve Shieh (2004) tarafından önerilen İkili ve Helmert karşılaştırmalarında kullanılacak olan test istatistikleri tanımlanırken önce doz düzeylerindeki gözlemlere *Kruskal-Wallis* sıra sayıları atanır. Bu sıra sayılarını kullanarak test istatistiği, karşılaştırma yapılacak i . doz düzeyi için, s . doz düzeyine atanan sıra sayıları toplamı olan

$$R_s^{(i)} = \sum_{j=1}^{n_i} R_{sj}^{(i)} \quad (5)$$

ile verilir. Daha sonra i . doz düzeyindeki sıra sayılarının toplamından kontrol düzeyindeki sıra sayılarının toplamının farkı alınarak P_i istatistiği

$$P_i = R_i^{(i)} - R_0^{(i)} \quad (6)$$

ile elde edilir [12]. P_i istatistiğine ilişkin varyans N_i birleştirilmiş örnek hacmi olmak üzere

$$Var(P_i) = \frac{n_i N_i (N_i + 1)}{6}, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (7)$$

ile hesaplanır. Eğer N_i hacimli birleştirilmiş örnekte aynı değeri alan gözlemler varsa (7) eşitliğindeki $N_i + 1$ teriminin yerine Düzeltme Terimi

$$DT = N_i + 1 - \frac{\sum_{j=1}^g t_j (t_j^2 - 1)}{[N_i (N_i - 1)]}, \quad j = 1, 2, \dots, g \quad (8)$$

biçimde elde edilir [12]. (8) eşitliğinde g aynı değeri alan gözlem gruplarının sayısı, t_j ise aynı değerli gözlemlerin j . gruptaki birim sayısı olarak ifade edilir. Aynı değerli gözlemlere ortalama sıra sayılarının verilmesi, test istatistiğinin beklenen değerini etkilemezken, varyansın küçülmesine neden olur. Varyansın küçülmesinin test istatistiğinin dağılımı üzerindeki etkisi DT ile ortadan kaldırılır. Hesaplanan P_i istatistiği ve bu P_i istatistiğine ilişkin varyans formülü kullanılarak, Jan ve Shieh (2004) tarafından önerilen standartlaştırılmış ikili karşılaştırma test istatistiği, JP_i

$$JP_i = \frac{P_i}{\sqrt{\text{Var}(P_i)}}, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (9)$$

ile elde edilir [12]. H_{0k} , "Doz düzeyleri aynı dağılıma sahiptir" hipotezinin doğruluğu altında, JP_i test istatistiklerinin dağılımları sıfır ortalamalı ve varyans-kovaryans matrisinin köşegen elemanları "1" ve diğer elemanları "0" olan çok değişkenli normal dağılıma yaklaşır [14]. Bu iki test istatistiği için korelasyon katsayısı

$$\rho_{ij} = \frac{n_i}{n_0 + n_i}, \quad 1 \leq i \neq j \leq k \quad (10)$$

ile elde edilir [13]. Örnek hacimleri eşitken korelasyon katsayısı 0.5 olur. Korelasyon katsayısı ilgili istatistiğin kritik değeri belirlenirken kullanılmaktadır.

Helmert karşılaştırması

İkili karşılaştırmanın alternatifi olan bir karşılaştırma da Helmert karşılaştırmasıdır. Helmert karşılaştırma test istatistiğinin ikili karşılaştırma test istatistiğinden farkı, karşılaştırılmak istenilen doz düzeyinin, kontrol doz düzeyi dahil olmak üzere bu doz düzeyinden küçük tüm doz düzeyleri ile birlikte karşılaştırılmasıdır. i . Helmert karşılaştırması, i . doz düzeyinden küçük tüm doz düzeylerinin ortalaması ile (kontrol düzeyi dâhil) i . doz düzeyinin ortalamasının karşılaştırmasıyla yapılır.

Bu karşılaştırma için hipotezler

$$H_{0i} : \mu_0 + \mu_1 + \dots + \mu_{i-1} = i\mu_i \quad (11)$$

ve

$$H_{1i} : \mu_0 + \mu_1 + \dots + \mu_{i-1} \neq i\mu_i$$

biçiminde ifade edilir. Helmert karşılaştırmasının katsayıları

$$a_{ij} = \begin{cases} -1, & j = 0, 1, \dots, i-1 \\ i, & j = i \\ 0, & j = i+1, \dots, k \end{cases}, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (12)$$

ile elde edilir. Helmert karşılaştırması test istatistiği de İkili karşılaştırma test istatistiği gibi parametrik ve parametrik olmayan olarak ikiye ayrılır. Parametrik olan durumlar için Tamhane ve ark. (1996) tarafından önerilen Helmert karşılaştırma yöntemi, i . doz düzeyi ortalaması ile bu doz düzeyinden küçük doz düzeylerinin ortalamasının birlikte karşılaştırılmasına dayalıdır. Helmert karşılaştırma test istatistiği

$$TH_i = \frac{\sum_{j=0}^k a_{ij} \bar{x}_j}{S_{\text{birleştirilmiş}(i)} \sqrt{\frac{a_{i0}^2}{n_0} + \sum_{j=1}^k \frac{a_{ij}^2}{n_j}}}, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (13)$$

ile verilir[7]. Burada $S_{\text{birleştirilmiş}(i)}^2$, birleştirilmiş örneğe ilişkin varyansı ifade etmektedir ve

$$S_{\text{birleştirilmiş}(i)}^2 = \frac{KT_{\text{hata}}}{(N_k - k - 1)} \quad (14)$$

ile hesaplanır. TH_i test istatistiği, $v = \sum_{j=0}^k n_j - (k + 1)$ serbestlik dereceli ve $\{\rho_{ij}\}$ korelasyon matrisine sahip çok değişkenli t dağılımına sahiptir.

Parametrik olmayan durumlarda ise Tamhane ve ark.(1996) önerdiği test istatistiğindeki örnek ortalamalarının yerine doz düzeylerindeki gözlemlere atanan Kruskal-Wallis sıra sayılarının her doz düzeyi için toplamları kullanılarak test istatistiği hesaplanır. Bu test istatistiği $i = 1, 2, \dots, k$ için

$$H_i = iR_i^{(i)} - (R_0^{(i)} + \dots + R_{i-1}^{(i)}) \quad (15)$$

ile verilir. H_i istatistiğine ilişkin varyans

$$Var(H_i) = \frac{iN_i^2(N_i + 1)}{12} \quad (16)$$

ile hesaplanır. Parametrik olmayan ikili karşılaştırmada belirtildiği gibi aynı değerli gözlemler varsa gerekli olan düzeltme terimi ve $N_i + 1$ terimi kullanılarak düzeltilmiş varyans hesaplanır. Daha sonra hesaplanan H_i ve $Var(H_i)$ değerleri kullanılarak Helmert test istatistiği

$$JH_i = \frac{H_i}{\sqrt{Var(H_i)}}, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (17)$$

ile verilir[12]. H_{0k} , yokluk hipotezinin doğruluğu altında, tüm JH_i test istatistiklerinin dağılımları, (JH_1, \dots, JH_k) , sıfır ortalamalı ve varyans-kovaryans matrisinin I olan çok değişkenli normal dağılıma yaklaşır[14]. TH_i ve JH_i istatistiklerine ilişkin korelasyon katsayıları örnek hacimlerinin eşit olduğu durumlarda sıfıra eşit olur. Bu durumda korelasyon matrisi

$$R = \begin{bmatrix} 1 & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & 1 \end{bmatrix}_{k \times k} \quad (18)$$

ile verilir[13]. Bu korelasyon katsayıları kritik değerlerin bulunmasında kullanılır.

Geriye Doğru Kapalı Analiz Yöntemi

Parametrik ve parametrik olmayan durumlar için İkili ve Helmert test istatistikleri hesaplandıktan sonra en küçük etkili doz düzeyini belirlenmesi için test işlemi geriye doğru

kapalı analiz yöntemi kullanılarak yapılır. Geriye doğru kapalı analiz yöntemi parametrik ve parametrik olmayan yöntemler için farklı biçimde yapılmaktadır.

Parametrik yöntemler için bu analiz işlemi aşağıdaki adımlar doğrultusunda gerçekleştirilir.

Adım 1: İlk olarak kontrol düzeyi ile en son doz düzeyi olan k . doz düzeyi ele alınır ve $k_1 = k$ olarak belirlenir.

Adım 2: Her bir doz düzeyi için ikili karşılaştırma yapılacaksa TP_i istatistik değerleri, Helmert karşılaştırması yapılacaksa TH_i test istatistik değerleri hesaplanır ($i = 1, 2, \dots, k$).

Adım 3: TP_i ya da TH_i değerleri hesaplandıktan sonra yeni bir değişken olan $T_{(k_1)}$ tanımlanır. Burada

$$T_{(k_1)} = \max(TP_1, \dots, TP_{k_1}) \quad \text{ya da} \quad T_{(k_1)} = \max(TH_1, \dots, TH_{k_1}) \quad (19)$$

olarak verilir.

Adım 4: Belirlenen $T_{(k_1)}$ değerine karşılık gelen doz düzeyi numarası $k_1 = k$ ' nın anti rankı olarak alınır ve bu da $d(k_1)$ olarak tanımlanır. Bu durumda $T_{(k_1)} = T_{d(k_1)}$ olur.

Adım 5: $n_o = n$ iken TP_i ve TH_i test istatistikleri için kritik değerler sırasıyla Dunnett (1955) tarafından oluşturulan tablolardan elde edilir [15].

Adım 6: $T_{(k_1)}$ değeri belirlendikten sonra $t_{k_1, v, \rho}^\alpha$ kritik değeriyle karşılaştırılır. Eğer $T_{(k_1)} \geq t_{k_1, v, \rho}^\alpha$ ise $i = d(k_1), \dots, k_1$ için H_{0i} hipotezi reddedilir. $k_2 = d(k_1) - 1$ alınarak Adım 2' ye gidilir ve diğer adımlar tekrar edilir. Eğer $T_{(k_1)} < t_{k_1, v, \rho}^\alpha$ ise H_{0i} yokluk hipotezi kabul edilir ve test işlemi sonlandırılır.

Parametrik olmayan yöntemler için geriye doğru kapalı analiz aşağıdaki adımlar doğrultusunda yapılır.

Adım 1: İlk olarak kontrol düzeyi ile en son doz düzeyi olan k . doz düzeyi ele alınır ve $k_1 = k$ olarak belirlenir.

Adım 2: i . doz düzeyi için yeni bir değişken olarak Z_i tanımlanır. Burada Z_i her bir i . doz düzeyi için hesaplanan standartlaştırılmış test istatistiğine karşılık gelmektedir ($i = 1, 2, \dots, k$). Böylece ikili karşılaştırma için $Z_i = JP_i$, Helmert karşılaştırması için $Z_i = JH_i$ olarak tanımlanır.

Adım 3: Belirlenen bu Z_i değerleri arasında en büyük değer

$$Z_{(k_1)} = \max(Z_1, \dots, Z_{k_1}) \quad \text{ile tanımlanır.} \quad (20)$$

Adım 4: Belirlenen $Z_{(k_1)}$ değerine karşılık gelen doz düzeyi $k_1 = k$ eşitliğinin anti rankı olarak tanımlanır ve bu da $d(k_1)$ olarak ifade edilir. Bu durumda $Z_{(k_1)} = Z_{d(k_1)}$ olur.

Adım 5: $n_o = n$ iken JP_i ve JH_i test istatistikleri için kritik değerler sırasıyla Gupta ve ark. (1973) tarafından oluşturulan tablolardan elde edilir [16].

Adım 6: Bulunan $Z_{(k_1)}$ değeri ile $Z_{k_1, \rho}^\alpha$ kritik değeri karşılaştırılır. Eğer, $Z_{(k_1)} > Z_{k_1, \rho}^\alpha$ ise $i = d(k_1), \dots, k_1$ için H_{0i} hipotezi reddedilir. H_{0i} hipotezi reddedildikten sonra bir sonraki adımdaki hipotez testi için $k_2 = d(k_1) - 1$ alınır. Sonra k_2 'den sonraki doz düzeyleri çıkartılarak Adım 2' ye gidilir ve diğer adımlar tekrar edilir. Eğer, $Z_{(k_1)} \leq Z_{k_1, \rho}^\alpha$ ise H_{0i} yokluk

hipotezi kabul edilir ve test işlemi bu adımda sonlandırılır. Her iki durum için test işlemi m . adımda sonlandırıldıysa, en küçük etkili doz düzeyi $k_m + 1$ veya $d(k_{m-1})$ olarak tanımlanır.

Böylece $\mathcal{V}_{EED}^{\mathcal{D}} = k_m + 1 = d(k_{m-1})$ (21) olur.

Simülasyon Çalışması

Bu bölümde en küçük etkili doz düzeyinin belirlenmesi için geriye doğru kapalı test yönteminde kullanılan İkili ve Helmert karşılaştırmalarının parametrik ve parametrik olmayan uyarlamaları, her bir doz düzeyine ilişkin örnek hacmi olan n değerinin, doz düzeyi sayısı olan k değerinin ve gerçekte olması gereken en küçük etkili doz düzeyinin farklı durumları için gerçek en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranı bakımından simülasyon yöntemi ile karşılaştırılmıştır.

Bu bölümdeki simülasyon çalışmasında veri üretmek için Jan ve Shieh (2004) tarafından yapılan çalışmadaki veri üretme yönteminden yararlanılmıştır. Jan ve Shieh (2004) simülasyon çalışmasında, kontrol doz düzeyi dahil olmak üzere her bir doz düzeyindeki örnek hacmi olan n_i değerlerini $n_0 = n_1 \cdots = n_k = n = 5$ olarak, kontrol düzeyi hariç doz düzeyi sayısı olan k değerini ise sırasıyla 4 ve 5 olarak almıştır. Fakat bu çalışmada yapılan simülasyonda, $n_0 = n_1 \cdots = n_k = n$ olmak üzere, bu örnek hacminin ve doz düzeyi sayısı olan k değerinin farklı durumları için veri üretilmiştir. Simülasyon yapılırken MATLAB2008a programından yararlanılmıştır.

Simülasyon çalışması yapılırken önce kontrol doz düzeyi dahil olmak üzere önceden belirlenen gerçek en küçük etkili doz düzeyine kadar olan her bir doz düzeyi için n gözlem değeri, ortalaması $\mu_i = 0$ ve varyansı $\sigma_i^2 = 1$ alınarak normal dağılımdan üretilmiştir ($i = 0, 1, \dots, EED - 1$). Sonra kontrol doz düzeyinden farklı olan doz düzeylerine ilişkin gözlem değerleri, ortalaması $\mu_i = i + 1$ ve varyansı $\sigma_i^2 = 1$ alınarak normal dağılımdan üretilmiştir ($i = EED, \dots, k$). Daha sonra en küçük etkili doz düzeyini belirlemek için kullanılan parametrik ve parametrik olmayan durumlardaki ikili ve Helmert karşılaştırmaları, $\alpha = 0.05$ anlamlılık düzeyi için, önceki bölümde belirtilen adımlar doğrultusunda yapılmış ve en küçük etkili doz düzeyi belirlenmiştir. Bu deneme de 10000 kez tekrarlanmış ve ele alınan bu yöntemlerin gerçek en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranları elde edilmiştir.

Bu çalışmada yapılan simülasyonda ilk olarak kontrol doz düzeyi hariç, doz düzeyi sayısının $k = 4$ olduğu durum ele alınmış ve n değerinin farklı durumları için simülasyon sonuçları Tablo1' de verilmiştir.

Tablo 1' deki sonuçlar incelendiğinde gerçek en küçük etkili doz düzeyi 3 iken TP , JP ve JH istatistiklerine dayalı yöntemlerin bu doz düzeyini belirleme oranlarının örnek çapı arttıkça arttığı görülmektedir. Bununla birlikte gerçek EED düzeyi 3 iken TH istatistiğine dayalı olarak bu doz düzeyini saptama oranında büyük bir değişim gözlenmemektedir. Gerçek EED düzeyi 2 iken tüm yöntemler için en küçük etkili doz düzeyini saptama oranları örnek hacmi arttıkça artmaktadır. Bu saptama oranları gerçek EED düzeyi 1 iken hesaplanamaz. Çünkü bu durumda en küçük etkili doz düzeyinin ele alınan ilk doz düzeyinden düşük bir doz düzeyi olma ihtimali doğar. Nitekim bundan sonraki durumlar için de bu söz konusudur. $k = 4$ iken elde edilen sonuçlar genel olarak incelendiğinde farklı örnek hacimlerinde parametrik yöntemler olan TP ve TH yöntemleri ile parametrik olmayan yöntemler olan JP ve JH yöntemleri arasında en küçük etkili doz düzeyini saptama oranı bakımından büyük bir fark olmadığı görülmektedir.

Bir başka durum olan $k = 5$ iken, n ' nin farklı değerleri için elde edilen simülasyon sonuçları Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 1. $k = 4$ iken kontrol doz düzeyinden farklı doz düzeylerine ilişkin ortalamaların farklı olduğu durumda en küçük etkili doz düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin gerçek en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranları.

$k = 4$	μ_0	μ_1	μ_2	μ_3	μ_4	Gerçek <i>EED</i>	<i>TP</i>	<i>TH</i>	<i>JP</i>	<i>JH</i>
$n = 5$	0	0	0	4	5	3	0,9684	0,9468	0,9369	0,9664
	0	0	3	4	5	2	0,9906	0,9964	0,9832	0,9988
	0	2	3	4	5	1	-	-	-	-
$n = 6$	0	0	0	4	5	3	0,9690	0,9457	0,9744	0,9724
	0	0	3	4	5	2	0,9980	0,9988	0,9957	0,9997
	0	2	3	4	5	1	-	-	-	-
$n = 7$	0	0	0	4	5	3	0,9702	0,9440	0,9802	0,9737
	0	0	3	4	5	2	0,9996	0,9993	0,9992	0,9999
	0	2	3	4	5	1	-	-	-	-
$n = 8$	0	0	0	4	5	3	0,9743	0,9476	0,9836	0,9727
	0	0	3	4	5	2	0,9999	0,9997	0,9998	1
	0	2	3	4	5	1	-	-	-	-

Tablo 2. $k = 5$ iken kontrol doz düzeyinden farklı doz düzeylerine ilişkin ortalamaların farklı olduğu durumda en küçük etkili doz düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin gerçek en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranları.

$k = 5$	μ_0	μ_1	μ_2	μ_3	μ_4	μ_5	Gerçek <i>EED</i>	<i>TP</i>	<i>TH</i>	<i>JP</i>	<i>JH</i>
$n = 5$	0	0	0	0	4	5	4	0,9525	0,9302	0,8362	0,9084
	0	0	0	3	4	5	3	0,9677	0,9444	0,9512	0,9697
	0	0	2	3	4	5	2	0,9903	0,9962	0,9823	0,9988
	0	1	2	3	4	5	1	-	-	-	-
	0	0	0	0	4	5	4	0,9552	0,9283	0,9076	0,9157
$n = 6$	0	0	0	3	4	5	3	0,9694	0,9477	0,9743	0,9748
	0	0	2	3	4	5	2	0,9975	0,9987	0,9957	0,9997
	0	1	2	3	4	5	1	-	-	-	-
$n = 7$	0	0	0	0	4	5	4	0,9593	0,9283	0,9409	0,9270
	0	0	0	3	4	5	3	0,9735	0,9510	0,9819	0,9774
	0	0	2	3	4	5	2	0,9995	0,9997	0,9985	0,9997
	0	1	2	3	4	5	1	-	-	-	-

Tablo 2' deki sonuçlar incelendiğinde gerçek *EED* düzeyinin 4. doz düzeyi olduğu durumda parametrik yöntemlerin parametrik olmayan yöntemlere göre bu doz düzeyini belirlemede daha büyük oranlara sahip olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra örnek hacmi sabit iken gerçek en küçük etkili doz düzeyi 1. doz düzeyine yaklaştıkça bu dört yöntemdeki belirleme oranlarında artış gözlenmektedir. Doz düzeyi sayısı $k = 6$ iken ve n değerinin 5 ve 6 olduğu durumlar için elde edilen simülasyon sonuçları Tablo 3' te verilmiştir.

Tablo 3. $k = 6$ iken kontrol doz düzeyinden farklı doz düzeylerine ilişkin ortalamaların farklı olduğu durumda en küçük etkili doz düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin gerçek en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranları.

$k = 6$	μ_0	μ_1	μ_2	μ_3	μ_4	μ_5	μ_6	Gerçek <i>EED</i>	<i>TP</i>	<i>TH</i>	<i>JP</i>	<i>JH</i>
$n = 5$	0	0	0	0	0	5	6	5	0,9402	0,9177	0,6921	0,8149
	0	0	0	0	4	5	6	4	0,9519	0,9216	0,8574	0,9058
	0	0	0	3	4	5	6	3	0,9683	0,9458	0,9532	0,9677
	0	0	2	3	4	5	6	2	0,9898	0,997	0,9820	0,9986
	0	1	2	3	4	5	6	1	-	-	-	-
$n = 6$	0	0	0	0	0	5	6	5	0,9423	0,9163	0,8061	0,8326
	0	0	0	0	4	5	6	4	0,9553	0,9229	0,9124	0,9116
	0	0	0	3	4	5	6	3	0,971	0,9482	0,9754	0,9724
	0	0	2	3	4	5	6	2	0,9974	0,9989	0,9944	0,9995
	0	1	2	3	4	5	6	1	-	-	-	-

Yukarıdaki tabloda verilen sonuçlara göre örnek hacminin ve gerçek *EED* düzeyinin birkaç durumu dışında, bu yöntemlerin en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranları yüksektir. $n = 5$ ve gerçek *EED* düzeyinin 5 olduğu durumda parametrik olmayan yöntemlerden *JP* istatistiğine ilişkin oranların diğer yöntemlere ilişkin oranlara göre düşük bir değer olmasının nedeni 5. ve 6. doz düzeylerine atanan sıra sayılarının birbirlerine yakın değerler almasından kaynaklanmaktadır. Son olarak doz düzey sayısının yedi olduğu ve n değerinin 5 ve 6 olduğu durumlar için elde edilen simülasyon sonuçları Tablo 4' te verilmiştir.

Tablo 4. $k = 7$ iken kontrol doz düzeyinden farklı doz düzeylerine ilişkin ortalamaların farklı olduğu durumda en küçük etkili doz düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin gerçek en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranları.

$k = 7$	μ_0	μ_1	μ_2	μ_3	μ_4	μ_5	μ_6	μ_7	Gerçek <i>EED</i>	<i>TP</i>	<i>TH</i>	<i>JP</i>	<i>JH</i>
$n = 5$	0	0	0	0	0	0	6	7	6	0,9317	0,9093	0,5601	0,7283
	0	0	0	0	0	5	6	7	5	0,944	0,9181	0,7274	0,828
	0	0	0	0	4	5	6	7	4	0,9545	0,9272	0,8606	0,908
	0	0	0	3	4	5	6	7	3	0,9717	0,9447	0,953	0,9709
	0	0	2	3	4	5	6	7	2	0,9876	0,9962	0,9808	0,9986
$n = 6$	0	1	2	3	4	5	6	7	1	-	-	-	-
	0	0	0	0	0	0	6	7	6	0,9354	0,9082	0,6965	0,7486
	0	0	0	0	0	5	6	7	5	0,9463	0,9221	0,8282	0,8457
	0	0	0	0	4	5	6	7	4	0,9561	0,9289	0,9219	0,9278
	0	0	0	3	4	5	6	7	3	0,9772	0,9473	0,9773	0,9724
	0	0	2	3	4	5	6	7	2	0,9981	0,9989	0,9957	0,9998
	0	1	2	3	4	5	6	7	1	-	-	-	-

Tablo 4' teki sonuçlar incelendiğinde, gerçek *EED* düzeyinin 5. ve 6. doz düzeyi olduğu durumlarda parametrik yöntemlerin belirleme oranlarının parametrik olmayan yöntemlerin belirleme oranlarına göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Fakat 2. ve 3. doz düzeylerinde parametrik ve parametrik olmayan yöntemlerin belirleme oranları arasında büyük bir fark görülmemektedir. Bunun yanı sıra örnek hacminin ve gerçek *EED* düzeyinin birçok durumunda, *TP* yöntemi diğer yöntemlere göre yüksek oranlara sahiptir.

Sonuç

Yapılan simülasyon çalışması sonucunda örnek hacmi ve doz düzey sayısı arttıkça gerçek en küçük etkili doz düzeyini belirleme oranı bakımından parametrik yöntemlerden *TP* yönteminin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Bunun yanı sıra gerçek en küçük etkili doz düzeyinin büyük bir doz düzeyine karşılık geldiği durumlarda ise parametrik olmayan yöntemlerden *JH* yöntemi *JP* yöntemine göre gerçek en küçük etkili doz düzeyinin belirlemede daha başarılı bulunmuştur. Simülasyon çalışmasında kullanılan veri normal dağılımdan üretildiğinden Tamhane ve ark. (1996) tarafından önerilen *TP* ve *TH* parametrik yöntemlerinin gerçek en küçük etkili doz düzeyini doğru saptama oranı bakımından Jan ve Shieh (2004) tarafından önerilen *JP* ve *JH* parametrik olmayan yöntemlere göre daha iyi sonuç vermesi beklenir. Fakat simülasyon çalışması sonucunda görüldüğü gibi *JP* ve *JH* yöntemleri, *TP* ve *TH* yöntemleri ile hemen hemen aynı sonuçları vermektedir. Böylece doz düzeylerine ilişkin gözlemlerin dağılımının normal olduğu durumda *JP* ve *JH* yöntemleri *TP* ve *TH* yöntemleri için alternatif bir yöntem olarak önerilebilir.

Kaynaklar

- [1] Milliken, G.A., Jonhson, D.E., "Analysis of Messy Data", **Chapman and Hall**, (2000).
- [2] Hüsrevoğlu, M., "En Küçük Etkili Doz Düzeyini Belirleme Yöntemleri ve Karşılaştırmaları.", Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2009).
- [3] Somerville, P.N. "Critical Values for Multiple Testing and Comparisons: One Step and Step Down Procedures", **J. Stat. Plan. Infer.**, 82: 129-38 (1999).
- [4] Ruberg, S.J. "Contrasts for Identifying The Minimum Effective Dose", **J. Am. Statist. Assoc.**, 84: 816-822 (1989).
- [5] Williams, D.A., "A Test for Differences Between Treatment Means When Several Dose Levels are Compared With A Zero Dose Level", **Biometrics**, 27: 103-117 (1971).
- [6] Williams, D.A., "The Comparison of Several Dose Levels With A Zero Dose Control", **Biometrics**, 28: 519-531 (1972).
- [7] Tamhane, A.C., Hochberg, Y., Dunnett, C.W. "Multiple Test Procedures for Dose Finding", **Biometrics**, 52: 21-37 (1996).
- [8] Shirley, E. "A Nonparametric Equivalent of Williams' Test for Contrasting Increasing Dose Levels of A Treatment", **Biometrics**, 33: 386-389 (1977).
- [9] Williams, D.A., "A Note on Shirley's Nonparametric Test for Comparing Several Dose Levels With A Zero-Dose Control" **Biometrics** 42: 183-186 (1986).
- [10] Chen, Y.I., Wolfe, D.A. "Nonparametric Procedures for Comparing Umbrella Pattern Treatment Effects With A Control in A One-Way Layout", **Biometrics** , 49: 455-465 (1993).
- [11] Chen, Y.I. "Nonparametric Identification of The Minimum Effective Dose", **Biometrics**, 55: 126-130 (1999).
- [12] Jan, S., Shieh, G., "Nonparametric Multiple Test Procedures for Dose Finding", **Com. in Stat.**, 33(4), 1021-1037 (2004).
- [13] Hochberg, Y., Tamhane A.C., "Multiple Comparision Procedures", **Willey and Sons.**, New York (1987).
- [14] Hettmansperger, T.P. "Statistical Inference Based on Ranks", **Wiley and Sons.**, New York, 280-320 , (1984).

- [15] Dunnett, C. W., "A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments With A Control", **J. Amer. Statist. Assoc.**, 50: 1096-121 (1955).
- [16] Gupta, S.S., Nagel, K., Panchapakesan, S. "On The Order Statistics from Equally Correlated Normal Random Variables", **Biometrika**, 60: 403-413 (1973).