



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOİSTATİSTİK ANABİLİM DALI**

**Klinik ve Biyolojik Denemelerde LD50 ve ED50 Tahmin
Yöntemlerinin Dağılım Türlerine, Doz Aralıklarına ve
Denek Sayısına Göre Etkinliğinin Karşılaştırılması**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE SEVİNÇ

DANIŞMAN

PROF. DR. KAZIM ÖZDAMAR

2016



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOİSTATİSTİK ANABİLİM DALI**

**Klinik ve Biyolojik Denemelerde LD50 ve ED50 Tahmin
Yöntemlerinin Dağılım Türlerine, Doz Aralıklarına ve
Denek Sayısına Göre Etkinliğinin Karşılaştırılması**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE SEVİNÇ

DANIŞMAN

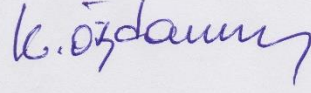
PROF. DR. KAZIM ÖZDAMAR

KABUL VE ONAY SAYFASI

Merve SEVİNÇ 'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Klinik ve Biyolojik Denemelerde LD50 ve ED50 Tahmin Yöntemlerinin Dağılım Türlerine, Doz Aralıklarına ve Denek Sayısına Göre Etkinliğinin Karşılaştırılması" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih
03 / 06 / 2016

Üye: Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR



Üye: Prof. Dr. K. Setenay ÖNER



Üye: Prof. Dr. Fezan MUTLU



Üye: Doç. Dr. Canan BAYDEMİR

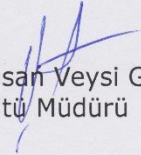


Üye: Doç. Dr. Ertuğrul ÇOLAK



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 06 / 06 / 2016 tarih ve 1093 / 5166 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü



Özet

Klinik ve Biyolojik Denemelerde LD50 ve ED50 Tahmin Yöntemlerinin Dağılım Türlerine, Doz Aralıklarına ve Denek Sayısına Göre Etkinliğinin Karşılaştırılması

Günümüzde ilaç, vitamin vb. çeşitli kimyasallar üretmek ve onlardan yararlanmak için biyolojik ya da klinik denemeler dikkate alınmaktadır. Yeni ve etkin ilaçların geliştirilmesi aşamasında denemeler aracılığı ile tolerans limitleri, eşik doz tanımlamaları ve %50 etkin doz (ED50) ya da %50 öldürücü doz (LD50) hesaplanmaktadır.

Biyolojik deneme, biyolojik bir canlıya uygulanan herhangi bir fiziksel, kimyasal, biyolojik, farmakolojik veya toksikolojik vb. etkili maddelerin (stimulus) farklı doz düzeylerinin oluşturduğu cevapların incelenmesidir. LD50 değeri, biyolojik denemelerde bir maddenin toksisitesinin göstergesi olarak kullanılmaktadır. ED50 ise tedavi amaçlı kullanılan bir maddenin etkinliğinin/yararlılığını göstergesi olarak kullanılmaktadır. Bir preparatın LD50 değeri elde edilmeden önce deneklere bu preparatın farklı dozları verilmektedir. Bu preparatın etkisi açıkça bilinmediğinde geniş aralıklı dozlar uygulanabilmektedir.

Bu araştırmada, klinik ve biyolojik denemelerde medyan letal dozun (LD50) ya da medyan etkin dozun (ED50) tahmin edilmesi için kullanılan bazı yöntemlerin; deneklere uygulanan doz düzeylerinin aralıklarının dar ya da geniş olmasına ve elde edilen tolerans dağılımlarının Normal, Uç değer ve Lojistik dağılım formunda olmalarına göre etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

Bu çalışma medyan letal dozu tahmin etmede kullanılan Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber, Shuster-Dietrich, Probit ve Lojit yöntemlerini içermektedir. Bu yöntemlerden Probit ve Lojit yöntemleri literatürde bilinen en iyi yöntemlerdir. Ancak bu yöntemler teorik bir dağılım varsayımı içermektedir. Bunun aksine Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber, Shuster-Dietrich yöntemleri ise dağılım varsayımı gerektirmeyen parametrik olmayan yöntemlerdir. Bu nedenle farklı tolerans dağılımları (normal, uç değer ve lojistik dağılım) altında ve doz aralıklarının dar ya da geniş olması durumlarına göre türetilen veri yapılarında bu yöntemlerin etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Yöntemlerin etkinlikleri karşılaştırılırken Monte Carlo simülasyon tekniğinden faydalanılmıştır. Simülasyon kodları R studio programı aracılığı ile yazılmıştır. Karşılaştırma ölçütleri olarak hata kareler ortalaması, güven aralığı uzunluğu ve etkinlik değerleri dikkate alınmıştır.

Probit ve Lojit Analiz yöntemleri tüm dağılım türlerinde benzer sonuçlar göstermiştir. Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber ve Shuster-Dietrich yöntemleri parametrik olmamalarına rağmen uç değer dağılımında parametrik yöntemlere göre daha yanlı sonuçlar göstermişlerdir. Uç değer ve Lojistik dağılımdan türetilen verilerde Dragstedt-Behrens ve Shuster-Dietrich yöntemlerinin Spearman-Kärber yönteminden daha etkin sonuçlara sahip olduğu görülmüştür. Doz aralıkları genişlediğinde parametrik yöntemlerin etkinlikleri fark edilir düzeyde azalmıştır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, doz aralıklarının dar tutulduğu durumlarda Normal ve Lojistik dağılım gösteren verilerin LD50 ya da ED50 değerlerinin hesaplanmasında parametrik yöntemlerden yararlanılması (Probit ve Lojit) önerilmektedir. Ancak bu dağılım türleri için doz aralıkları genişlediğinde parametrik yöntemler etkinliğini kaybetmekte ve Dragstedt-Behrens ile Shuster-Dietrich yöntemleri kullanımı daha uygun hale dönüşmektedir. Uç değer dağılımı için hem dar doz hem de geniş doz aralıklarında bu yöntemler arasından parametrik yöntemler kullanılması daha uygundur.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik deneme, Doz-cevap eğrisi, Medyan letal doz, LD50, ED50, Probit, Lojit, Dragstedt-Behrens, Shuster-Dietrich, Spearman-Kärber, Tolerans dağılımı.

Summary

Comparison of Effectiveness of the Estimation Methods for LD50 and ED50 According to Distribution Types, Dose Intervals and Number of Subjects in Clinical and Biological Assays

Nowadays, bioassays or clinical trials are taking into consideration to product various chemicals (drug, vitamin etc.) and to take advantage of them. Tolerance limits, definitions of threshold dose and %50 effective dose (ED50) or %50 letal dose (LD50) are calculated during the development new and effective drugs via bioassays.

Biological assay is the study of responses to physical, chemical, biological or toxicological etc. substances (stimulus) applied in a biological alive occurring in different dose levels. The value of LD50 is frequently used as the indicator of the toxicity of a substance in bioassays. The value of ED50 is used as indicator of the efficiency of a substance that is used for therapeutic purposes. Before LD50 value of a preparate is obtained, different dosage levels of this preparate are applied to experimental animal. When the effect of preparate is not clearly known, wider spaced dose levels can be applied to test subject.

The main purpose of this research was to compare some methods while determing median lethal dose (LD50) and median effective dose (ED50) in clinical and biological assays according to normal, extreme value and logistic distribution types and narrower or wider dose spaced.

This study contains Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber, Shuster-Dietrich, Probit and Logit methods that are used to estimate median letal dose. Probit and Logit methods are the best known procedures which are popular in literature. However they require the assumption of a theoretical tolerance distribution. Contrary to this, Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber and Shuster-Dietrich does not contain any assumption of distribution since it is a nonparametric method. That's why we wanted to compare these techniques under different tolerance distribution (which are normal, extreme value and logistic distribution) and narrower or wider dose spaced. Monte Carlo simulation technique is used when efficiencies of methods were compared. Simulation codes were written via R studio package program. Mean square errors (MSE), length of confidence intervals and efficiency was used as comparison criteria.

Probit and Logit methods had the same results for all distribution types and sample sizes. Although Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber and Shuster-Dietrich methods are a nonparametric method, they gave more biased for extreme value distributed tolerance values. In extreme value and logistic distribution types, Dragstedt-Behrens and Shuster-Dietrich methods had more unbiased results than Spearman-Kärber. Efficiencies of parametric methods were distinguishably decreasing when the dosage intervals were enlarging.

The result of this study shows that in normal and logistic distribution types, parametric methods (Probit and Logit) should be used for narrower dose spaced. However for this distribution types, parametric methods were losing effectiveness of themselves when the dosage intervals were enlarging and Dragstedt-Behrens and Shuster-Dietrich methods were more useful than parametric methods. For extreme value distribution, to use parametric methods are more appropriate for both narrower and wider dose spaced.

Keywords: Biological assay, Dose-response curve, Median letal dose, LD50, ED50, Probit, Logit, Dragstedt-Behrens, Shuster-Dietrich, Spearman-Kärber, Tolerance distribution.

İçindekiler

Kabul ve Onay Sayfası.....	iv
Özet.....	v
Summary	vii
İçindekiler	ix
Tablo Dizini	xi
Şekil Dizini	xiii
Simge ve Kısaltmalar Dizini	xiv
1- GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1- Giriş.....	1
1.1.1- Biyolojik/Klinik Denemeler.....	1
1.1.2- Medyan Letal Doz (LD50)/Etkin Doz (ED50)	2
1.2- Amaç	3
2- GENEL BİLGİLER	5
2.1- Tolerans Dağılımı	5
2.1.1- Normal Dağılım	6
2.1.2- Genelleştirilmiş Uç Değer Dağılım	7
2.1.3- Lojistik Dağılım	8
2.2- LD50/ED50 Hesaplama Yöntemleri.....	8
2.2.1- Probit Analizi	8
2.2.2- Lojit Analizi	10
2.2.3- Dragstedt-Behrens Yöntemi	12
2.2.4- Spearman-Kärber Yöntemi	13
2.2.5- Shuster-Dietrich Yöntemi	14
3- GEREÇ VE YÖNTEMLER	15
3.1- Veri Yapısı	15
3.2- Simülasyon Çalışması	15
3.2.1- Veri Türetimi	16
3.2.2- Simülasyon Algoritması	17
3.2.3- Simülasyon Parametreleri	17
3.2.4- Karşılaştırma Ölçütleri	17
3.3- Simülasyon Çalışmasında Kullanılan Paket Programlar	18

3.3.1- Probit Analiz Yöntemini İçeren Kodlar	18
3.3.2- Lojit Analiz Yöntemini İçeren Kodlar	20
3.3.3- Dragstedt-Behrens Yöntemini İçeren Kodlar	22
3.3.4- Spearman-Kärber Yöntemini İçeren Kodlar	24
3.3.5- Shuster-Dietrich Yöntemini İçeren Kodlar	25
4- BULGULAR	28
4.1- Probit Analiz Yöntemine İlişkin Bulgular	29
4.2- Lojit Analiz Yöntemine İlişkin Bulgular	31
4.3- Dragstedt-Behrens Yöntemine İlişkin Bulgular	33
4.4- Spearman-Kärber Yöntemine İlişkin Bulgular	35
4.5- Shuster-Dietrich Yöntemine İlişkin Bulgular	37
4.6- Yöntemlerin Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	39
5- TARTIŞMA.....	46
6- SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR DİZİNİ	51
Özgeçmiş	54

Tablo Dizini

Tablo 3.1- Veri yapısı	15
Tablo 3.2- Dağılımlara ait parametreler	16
Tablo 4.1- Probit Analizi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım.....	29
Tablo 4.2- Probit Analizi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım	29
Tablo 4.3- Probit Analizi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım.....	29
Tablo 4.4- Probit Analizi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım.....	30
Tablo 4.5- Probit Analizi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım	30
Tablo 4.6- Probit Analizi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım.....	30
Tablo 4.7- Lojit Analizi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım.....	31
Tablo 4.8- Lojit Analizi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım	31
Tablo 4.9- Lojit Analizi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım	31
Tablo 4.10- Lojit Analizi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım	32
Tablo 4.11- Lojit Analizi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım	32
Tablo 4.12- Lojit Analizi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım	32
Tablo 4.13- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım	33
Tablo 4.14- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım	33
Tablo 4.15- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım	33
Tablo 4.16- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım	34
Tablo 4.17- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım	34
Tablo 4.18- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım	34
Tablo 4.19- Spearman-Kärber Yöntemi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım	35
Tablo 4.20- Spearman-Kärber Yöntemi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım	35
Tablo 4.21- Spearman-Kärber Yöntemi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım	35
Tablo 4.22- Spearman-Kärber Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım	36

Tablo 4.23- Spearman-Kärber Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım	36
Tablo 4.24- Spearman-Kärber Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım	36
Tablo 4.25- Shuster-Dietrich Yöntemi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım	37
Tablo 4.26- Shuster-Dietrich Yöntemi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım	37
Tablo 4.27- Shuster-Dietrich Yöntemi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım	37
Tablo 4.28- Shuster-Dietrich Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım	38
Tablo 4.29- Shuster-Dietrich Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım	38
Tablo 4.30- Shuster-Dietrich Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım	38
Tablo 4.31- Dar doz aralıkları için karşılaştırma tablosu	39
Tablo 4.32- Geniş doz aralıkları için karşılaştırma tablosu.....	40
Tablo 4.33- Dar doz aralıkları için etkinlik değerleri	42
Tablo 4.34- Geniş doz aralıkları için etkinlik değerleri	43

Şekil Dizini

Şekil 2.1- Doz-Cevap tolerans dağılımı	5
Şekil 2.2- Log doz-Cevap tolerans dağılımı.....	6
Şekil 2.3- Log doz-Cevap yığılımlı tolerans dağılımı	6
Şekil 2.4- Normal dağılım eğrisi	7
Şekil 2.5- Gumbel dağılım eğrisi	7
Şekil 2.6- Lojistik dağılım eğrisi	8

Simge ve Kısaltmalar Dizini

%95 CI	: %95 güven aralıkları
%95 GAU	: %95 güven aralığı uzunluğu
Cov	: Kovaryans
ED50	: Deneklerin %50 inin iyileşmesi için gerekli doz miktarı
HKO	: Hata kareler ortalaması
LD1	: Deneklerin %1 inin ölmesi için gerekli doz miktarı
LD50	: Deneklerin %50 inin ölmesi için gerekli doz miktarı
LD75	: Deneklerin %75 inin ölmesi için gerekli doz miktarı
LD99	: Deneklerin %99 inin ölmesi için gerekli doz miktarı
SH	: Standart hata
Var	: Varyans

1- GİRİŞ VE AMAÇ

1.1- Giriş

Günümüzde ilaç, vitamin vb. çeşitli kimyasalların üretiminde ve yararlanımında biyolojik ya da klinik denemeler dikkate alınmaktadır. Yeni ve etkin ilaçların geliştirilmesi aşamasında denemeler aracılığı ile tolerans limitleri, eşik doz tanımlamaları ve %50 etkin doz (ED50) ya da %50 öldürücü doz (LD50) hesaplanmaktadır.

1.1.1- Biyolojik/Klinik Denemeler

Biyolojik deneme, biyolojik bir canlıya uygulanan herhangi bir fiziksel, kimyasal, biyolojik, farmakolojik veya toksikolojik maddelerin (uyarıcı, stimulus) farklı doz düzeylerinin oluşturduğu cevapların incelenmesidir. Biyolojik denemeler standart bir preparasyonun test organizması üzerindeki etkisinin karşılaştırmalar aracılığı ile bir maddenin (hormon, ilaç ya da toksik madde) relatif gücünün belirlenmesi olarak da tanımlanabilir. Biyolojik deneme çoğunlukla dozların uygun deneklere verildiğinde üretilen cevapların değerlendirilmesiyle ilaç, toksik madde, hormon veya vitaminlerin potansının değerlendirilmesi olarak ifade edildiği düşünülür (Finney, 1964).

Biyolojik denemeler bir reaksiyon yardımı ile canlı maddeye uygulanan bir materyal ya da işlemin potansını, yapısını ya da doğasını tahmin eden yöntemlerdir. Tipik bir biyodeneme, bir birime (hayvan, hayvan dokusu örneği, bitki, bakteri kültürü vb.) uygulanan bir uyarıcıyı (vitamin, ilaç, mantar ilacı vb.) içerir. Uyarıcının yoğunluğu araştırmacı tarafından belirlenen çeşitli dozlar olarak değişir. Uyarıcının uygulanması birimin bazı ölçülebilir özelliğindeki değişim ve değişimin büyüklüğü doz düzeylerine bağlıdır. Bu özelliğin ölçümü birimden alınan cevap olarak nitelendirilir (Saha, 2002).

Biyolojik/Klinik deneme için iki temel unsur, uyarıcının dozu ve canlıdan elde edilen cevaptır. Biyolojik deneme bir canlı üzerinde yapılmaktadır. Bu canlı; insan, hayvan, hücre, doku vb. olabilir. Uyarı ise ilaç, hormon, toksik madde, vitamin, güç, ilaç, ısı, elektrik vb. olabilir. Denemedeki deneklere uyarıcı madde farklı konsantrasyonlarda verilmektedir.

Biyolojik Denemelerde genel olarak aşağıdaki maddelerin belirlenmesi amaçlanmaktadır (Özdamar, 2014).

- Uyarıcının eşik dozu
- Maksimum lethal/etkin doz
- Minimum lethal/etkin doz
- Medyan lethal/etkin doz
- Uyarının etkinliği (potansı)
- İlaç ya da kimyasalların canlı organizmadaki doz-cevap eğrileri
- Bir materyalin kanser oluşturma dozu ve riski
- Uyarının canlı materyalde oluşturduğu cevabın türü

- Uyarının canlı organizmada oluşturduğu yan etkileri

Biyolojik denemeler, Nitel denemeler (Kalitatif, Qualitative) ve Nicel denemeler (Kantitatif, Quantitative) olarak iki farklı şekilde karşımıza çıkmaktadır. Nitel denemeler cevapları kategorik olarak elde edilen deneme türleridir. Bu deneme türünde cevap değişkeni ikili cevaplar şeklinde ise deneme Kantal (Quantal) deneme adını almaktadır. Nicel denemeler ise doz düzeyine bağlı olarak elde edilen cevapların doğru ve eğrilerinin elde edilebildiği deneme türleridir (Batson, 1962).

Kantal bir deneme türünde kantal cevap bir olayın gerçekleşmesi ya da gerçekleşmemesi şeklindedir. Örneğin bir hayvan deneyinde hayvanların ölüp ölmediği kaydını tutuyorsak kantal bir cevap ölçmüş oluruz (Agresti, 2002). Hayvan sayıları çeşitli gruplara bölünür ve belli bir maddenin aynı doz miktarı her gruptaki tüm hayvanlara uygulanır. Dozlar gruptan gruba farklılık gösterebilmektedir ve sıklıkla başarı dozları ortak bir dilüsyon faktörü ile değişsin diye düzenlenir. Her doz düzeyindeki hayvan sayısı cevabın pozitif ya da negatif olmasına göre kaydedilir. Maddenin potansı, hayvanların %50 sinde pozitif cevabın üretilmesi için gerekli doz miktarı olarak ölçülebilir (Armitage, 1950; Finney, 1964; Armitage, 2002;).

Klinik denemeler, biyolojik denemelerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ve insan üzerinde tedavi amaçlı kullanılmasını kapsar. Klinik denemeler, biyolojik denemelerden elde edilen sonuçların genellikle insanlar, hayvanlar üzerinde uygulanması şeklinde gerçekleştirilir. Bu aşamada insan ya da hayvanlar üzerinde uygulanan tedavi edici özellikli materyallerin (ilaç, vitamin, hormon, ısı, ışık, manyetik etki vb.) tedavi edici dozlarının ve cevaplarının incelenmesi amaçlanır ve birey ya da grup bazında tedavi edici materyallerin tolerans dağılımları, eşik doz, etkin doz ve aşırı doz düzeyleri ortaya konur (Chow, 2004).

1.1.2- Medyan Letal Doz (LD50)/Etkin Doz (ED50)

Medyan Letal/Etkin Doz değeri 1927 yılında J.W. Trevan tarafından ortaya atılmıştır. Literatürde bu değere ait farklı isimlendirmeler bulunmaktadır. Bunlar, medyan letal doz (LD50), medyan etkin doz (ED50), medyan letal konsantrasyon (LC50) ve medyan etkin konsantrasyon (EC50) şeklindedir. "yarı letal doz" terimi de zaman zaman LD50 değeri ile aynı anlamda kullanılmıştır (Trevan, 1927). Doz-cevap çalışmalarında ED50 ve LD50 benzer yapıda ifadelerdir. Bu nedenle medyan letal/etkin doz değeri bu çalışmada kısaca LD50/ED50 olarak anılacaktır.

LD50 genellikle laboratuvarlarda fare, tavşan, kobay gibi deney hayvanları üzerinde farmakolojik, toksikolojik ve kimyasal testler yardımı ile hesaplanır. ED50 ise insanlar ya da hayvanlar üzerinde klinik ve farmakolojik denemelerle hesaplanır.

LD50 değeri bir denemeye maruz kalmış deneklerin yarısının ölmesi için gerekli olan doz miktarı olarak tanımlanmakta iken ED50 tedavi altındaki birimlerin/bireylerin/deneklerin yarısının tedavi edildiği doz miktarı olarak tanımlanır (Trevan, 1927; Sanathanan, 1987).

LD50 sıklıkla bir maddenin kesin toksisitesinin genel bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Düşük bir LD50 değerine sahip bir uyarının daha yüksek LD50 değerine sahip başka bir uyarana göre daha fazla toksik olduğunu belirtir. Aynı şekilde düşük ED50 değerine sahip bir materyalin daha yüksek ED50 değerine sahip başka bir tedavi edici materyale göre daha fazla etkin olduğunu/tedavi gücünün yüksek olduğunu gösterir. LD50 ve ED50 değerleri, uyarıların toksisite ya da etkinlik düzeylerinin karşılaştırılmasında kullanılır.

Doz-cevap çalışmalarında LD50/ED50 değeri yanında LD/ED değerlerinin persantil değerleri de (LD5, LD10, LD25, LD75, LD90, LD95; ED5, ED10, ED25, ED75, ED90, ED95) hesaplanabilir.

1.2- Amaç

Literatürde LD50 değerinin belirlenmesi ile ilgili birçok yöntem bulunmaktadır (Armitage, 2002; Doğan, 2015). Bunlardan bazıları aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- Lojit Analizi
- Probit Analizi
- Grafik yöntemi
- Kärber Yöntemi
- Miller-Tainter Yöntemi
- Shuster-Yang Yöntemi
- Reed-Muench Yöntemi
- Robbins-Monro Yöntemi
- Shuster-Dietrich Yöntemi
- Spearman-Kärber Yöntemi
- Dragstedt-Behrens Yöntemi
- Trimmed Spearman-Kärber Yöntemi
- Thompson Hareketli Ortalama Yöntemi
- Yukarı ve Aşağı (Up and Down) Yöntemi

Bu çalışmada, Probit ve Lojit, Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber, ve Shuster-Dietrich yöntemlerinin dar ve geniş doz düzeyleri koşullarına uygun olarak geliştirilen senaryolara göre Normal, Uçdeğer ve Lojistik dağılım gösteren dağılımlardan türetilmiş veriler üzerinde etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmada bu yöntemlere yer verilmesinin nedeni aşağıda kısaca açıklanmıştır.

Probit ve Lojit Analizi yöntemleri literatürde bilinen ve yaygın olarak kullanılan doz-cevap verilerinin tolerans dağılımlarının analizinde kullanılan yöntemlerdir. Probit Analizi tolerans dağılımının Normal dağılım gösterdiği varsayımını kullanırken, Lojit Analizi lojistik dağılım varsayımını öngörmektedir. Ancak gözlem sayısının az olması, dağılım türünün değişmesi ve doz miktarlarının az olması gibi durumlarda bu yöntemlerin yanlış sonuçlar verdiğine ilişkin yayınlar bulunmaktadır (Doğan, 2015).

Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber, Shuster-Dietrich yöntemleri ise herhangi bir dağılım varsayımı içermeyen parametrik olmayan yöntemlerdir. Gözlem sayısının az olması, tolerans dağılımların Normal olmaması (uç değer ve lojistik), ya da doz aralıkların genişletilmesi durumunda daha yansız sonuçlar verdiğine ilişkin yayınlar bulunmaktadır. Bu yönüyle Probit ve Lojit yöntemlerine alternatif yöntem olabilecekleri düşünülmektedir (Doğan, 2015). Ayrıca bu yöntemlerin Güven Aralığı Uzunluğu (GAU, %95 Üst Limit(UL)-%95 Alt Limit (LL) farkı, %95UL-%95LL) hesaplanabilmektedir. Bu nedenle parametrik yöntemlerle birlikte yöntemlerin LD50/ED50 tahminlerinin farklı dağılım ve doz genişliklerinde etkinliklerinin karşılaştırılması yapılabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı karşılaştırma amacıyla bu yöntemler çalışmaya dahil edilmiştir.

Yapılan denemelerde LD50/ED50 değeri yöntemden yöntem farklılık göstermektedir. Bu farklılık, uyarının türü, denek sayısı ve denekler arası heterojenite, verilen uyarının doz aralıkları, tolerans dağılımı, veri setinin dağılımı, veri setinde uç değerlerin yer alması gibi sebeplerden kaynaklanmaktadır. Her bir yöntem bu durumlardan farklı şekilde etkilenmekte ve gerçek LD50/ED50 değerinden uzak sonuçlar verebilmektedir. Gerçek LD50/ED50 değerinin yanlış belirlenmesi sonucu küçük bir LD50/ED50 değeri etkisiz olmakta yüksek bir LD50/ED50 değeri ise kabul edilemez sağlık problemlerine sebep olmaktadır (Zhou, 2010; Özdamar, 2013; Doğan, 2015).

Genellikle bir preparatın etkisi açıkça bilinmediğinde ve daha önce belirtici denemeler yapılmadığında o preparatla ilgili letal/etkin eşik doz ya da maksimal dozun tanımı doz aralıklarına göre cevap eğrisinin belirlenmesi gerekir. Bu açıdan toksikolojik ve farmakolojik etkin doz denemelerinde daha geniş doz aralıklarının seçilmesi uygundur (Özdamar, 2014).

Bu çalışmada,

- 1) Toksikolojik, Farmakolojik ve Klinik denemelerde herhangi bir toksik ilacın ya da tedavi amaçlı bir materyalin (ilaç, kimyasal, fiziksel, radyolojik uyarın) Normal, Uç değer (Extrem Value distribution) ve Lojistik dağılım gösteren doz-cevap tolerans dağılımlarında çalışmaya alınan yöntemlerin Medyan Letal/Etkin doz (LD50/ED50) tahminlerinin elde edilmesi,
- 2) Değişik birim/denek sayısı, doz genişliğinde ve aralıklarında Normal, Uç değer ve Lojistik dağılım gösteren doz-cevap tolerans dağılımlarında LD50/ED50 ortalama/ortanca tahminlerinin, güven aralıklarının, hata kareler ortalamalarının ve etkinliklerinin karşılaştırılması,
- 3) Parametrik ve parametrik olmayan LD50/ED50 tahminlerinin hangi tolerans dağılımı ve koşulda kullanılmasının uygun olacağını ortaya koymak amaçlanmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

2.1- Tolerans Dağılımı

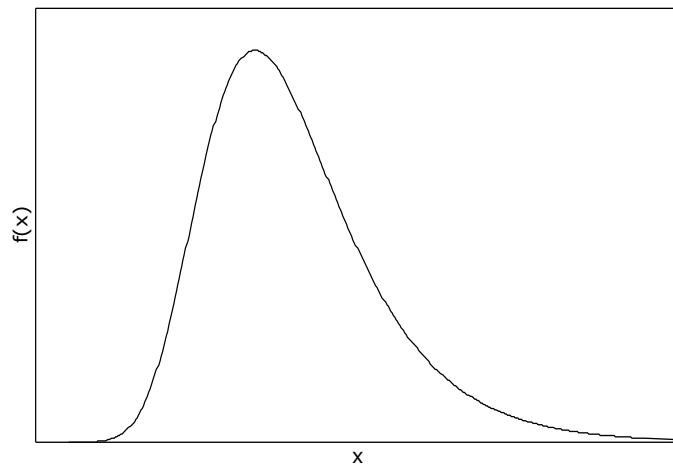
Kantil bir denemede deneğin cevap oluşturması ya da oluşturmaması uyarının seviyesi ile ilgidir. Bu seviye denek için bir tolerans seviyesidir. Herhangi bir denek için kontrol edilmiş şartlar altında, cevabın meydana geleceği üst yoğunluğun ve meydana gelmeyeceği alt yoğunluğun bir tolerans seviyesi vardır. Yani uyarının belli bir doz düzeyindeki denek için bu tolerans seviyesi (uyarının öldürücü olduğu düşünülürse) altında yaşaması üstünde ise ölmesi beklenir. Böylelikle genelde eşik dediğimiz bir değer meydana gelmektedir. Fakat "tolerans" terimi günümüzde geniş çapta kabul edilmiştir. Bu tolerans değeri popülasyonda denekten deneğe farklılık göstermektedir. Karakteristik cevap kantitatif olduğunda her hangi bir büyüklükte verilen bir cevabı oluşturmak için ihtiyaç duyulan uyarıcı yoğunluğu denekler arasında benzer varyasyon gösterecektir. Bu tolerans seviyesini z ile ifade edecek olursak deneydeki tüm denekler için z 'lerin bir dağılımı ortaya çıkacaktır (Finney, 1964). Bu dağılım tolerans dağılımı olarak karşımıza çıkmaktadır ve

$$dP=f(z)dz \quad (2.1)$$

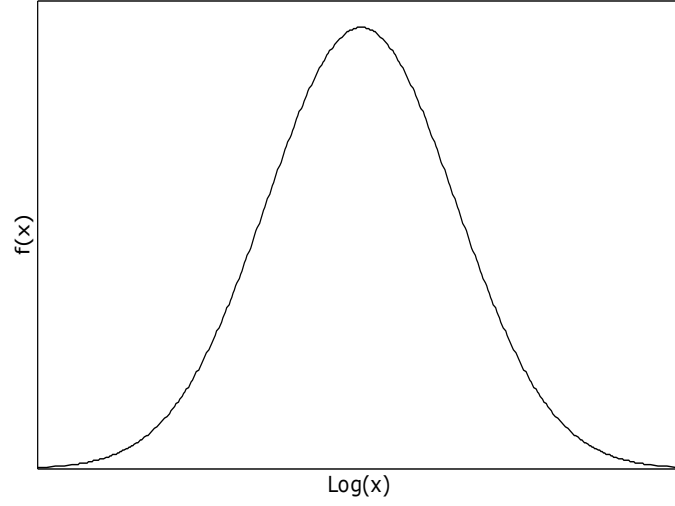
şeklinde gösterilmektedir (Alp, 2007). x 'in 0 ile $+\infty$ arasında oluşturacağı cevapların olasılığı ise

$$P=\int_0^{\infty} f(x)dx=1 \quad (2.2)$$

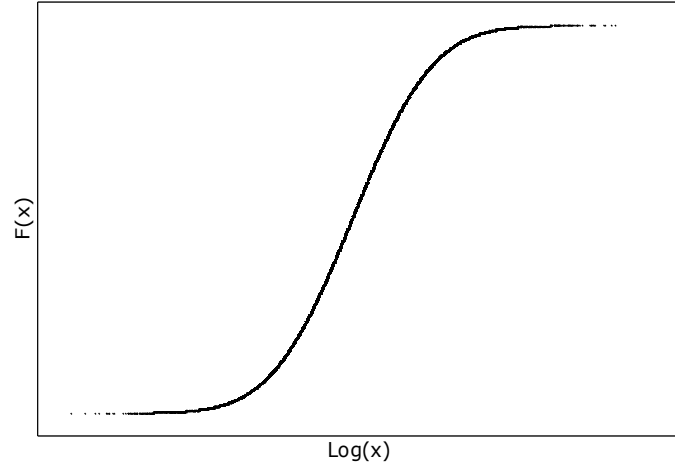
olarak gösterilmektedir. Tolerans dağılımı genellikle çarpık bir dağılımdır. Logaritmik dönüşüm yapılarak ($X=\log_{10}(x)$, $X=\ln(x)$) yığılımlı (kümülatif) cevap eğrisi sigmoid yapıya çevrilmektedir (Özdamar, 2012).



Şekil 2.1- Doz-Cevap tolerans dağılımı



Şekil 2.2- Log doz-Cevap tolerans dağılımı



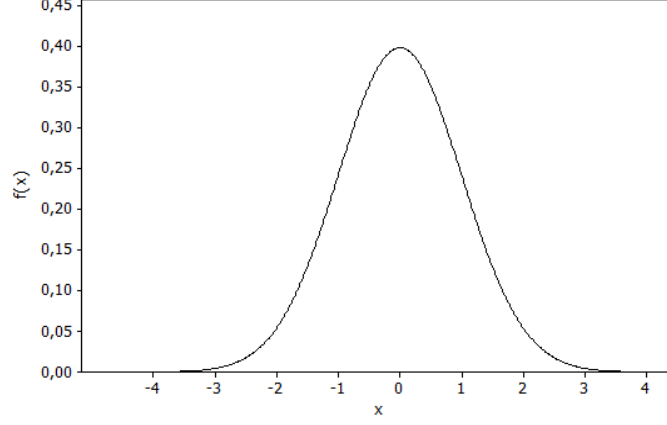
Şekil 2.3- Log doz-Cevap yığılımlı tolerans dağılımı

2.1.1- Normal Dağılım

Normal dağılım, frekans dağılımı simetrik ve çan eğrisi biçiminde olan bir dağılımdır. Olasılık yoğunluk fonksiyonu,

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2}(x-\mu)^2\right], \quad -\infty < x < +\infty \quad (2.3)$$

şeklindedir. Konum parametresi μ (ortalama) ve ölçek parametresi σ^2 (varyans) olmak üzere iki parametresi vardır. Bu dağılımın beklenen değeri μ , standart sapması σ' dir. Dağılım μ parametresi etrafında simetrik bir görünüm sergilemektedir (Walck, 2007).



Şekil 2.4. Normal dağılım eğrisi

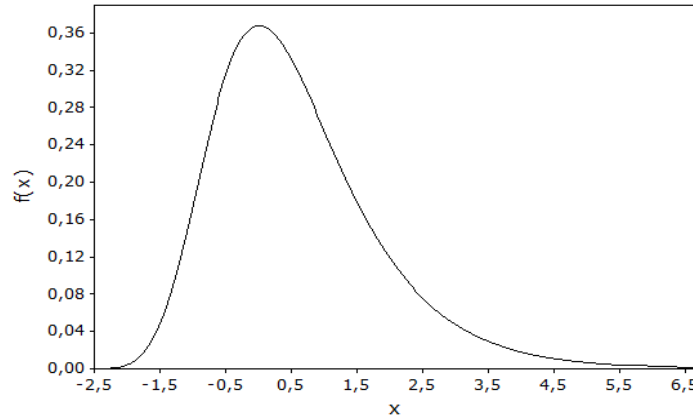
2.1.2- Genelleştirilmiş Uç Değer Dağılım

Genelleştirilmiş Uç Değer dağılımı, konum($\mu \in \mathcal{R}$), ölçek($\sigma > 0$) ve şekil($\xi \in \mathcal{R}$) olmak üzere üç parametre içermektedir. Şekil parametresinin $\xi=0$, $\xi>0$, $\xi<0$ olduğu durumlarda sırasıyla Gumbel, Frechet ve Weibull dağılımları elde edilmektedir. Gumbel dağılımı aynı zamanda Uç Değer Dağılımı Tip 1 olarak da adlandırılmaktadır. Bu dağılımın beklenen değeri ve standart sapması sırasıyla,

$$\mu + \gamma * \sigma \text{ ve } \frac{\sigma * \pi}{\sqrt{6}} \quad (2.4)$$

olarak hesaplanır. Burada γ sabiti Euler-Mascheroni sabiti olarak adlandırılır ve değeri 0.5772 dir. Bu çalışmada Gumbel dağılımdan uç değer dağılımı olarak bahsedilecektir. Sağa çarpık bir dağılım olan Gumbel Dağılımı için olasılık yoğunluk fonksiyonu aşağıdaki şekildedir (Walck, 2007).

$$f(x) = \frac{1}{\sigma} \exp\left(-\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right) - \exp\left(-\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)\right)\right), \quad -\infty < x < +\infty \quad (2.5)$$



Şekil 2.5. Gumbel dağılım eğrisi

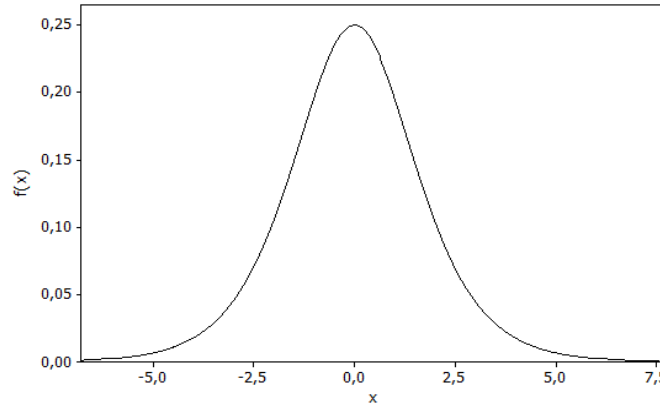
2.1.3- Lojistik Dağılım

Lojistik dağılım, konum($\mu \in \mathcal{R}$) ve ölçek($\sigma > 0$) olmak üzere iki parametre içermektedir. Bu dağılımın beklenen değeri ve standart sapması sırasıyla,

$$\mu \text{ ve } \frac{\sigma \pi}{\sqrt{3}} \quad (2.5)$$

olarak hesaplanmaktadır. Şekil olarak normal dağılıma benzemektedir fakat kuyrukları daha basıktır. Olasılık yoğunluk fonksiyonu aşağıdaki şekildedir (Walck, 2007).

$$f(x) = \frac{e^{-(x-\mu)/\sigma}}{\sigma(1+e^{-(x-\mu)/\sigma})}, \quad -\infty < x < +\infty \quad (2.7)$$



Şekil 2.6. Lojistik dağılım eğrisi

2.2- LD50/ED50 Hesaplama Yöntemleri

2.2.1- Probit Analizi

Probit Analizi ilk olarak 1934'te Chester Ittner Bliss tarafından etkili bir böcek ilacı bulmak amacıyla "Science" isimli dergide sunulmuştur. Chester tarım deney istasyonunda bir böcek bilimci olarak çalışmıştır ve ilk olarak üzüm yaprakları ile beslediği kontrol böcekleri için etkili bir böcek ilacı bulma ile ilgilenmiştir. Yaygın olarak toksikoloji, farmakoloji vb. alanlarda organizmaların kimyasal rölatif toksisitesini belirlemek için kullanılmaktadır.

Probit Analizi ikili (kantil, binomial) cevap değerleri ile doz düzeyleri arasında bir regresyon modeli oluşturularak gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde bir uyarıcı maddenin canlıya verilmesi sonucunda elde edilen cevap yüzdeleri ile doz düzeylerinin logaritmaları arasındaki tolerans dağılımının normal dağılıma uygunluk gösterdiği varsayılmaktadır (Delaunois, 1973).

Bu regresyon modeli cevap oranlarını probitlere dönüştürerek tolerans dağılımına ait μ ve σ^2 parametrelerini tahminleyerek öldürücü doz ya da etkili doz düzeylerini belirlemeyi amaçlamaktadır.

Y ikili cevaplara sahip bağımlı değişken olmak üzere P probitleri $Y=1$ olma olasılığını vermektedir ve $P=P(Y=1)$ olarak gösterilir. X değişkeni ise doz düzeylerini temsil etmektedir ve her doz düzeyi için $Y=1$ olma olasılığı

$$P=P(Y=1/X=x) \quad (2.8)$$

olarak gösterilmektedir. P oranının probiti, varyansı 1 ortalaması 5 olan bir normal dağılımda P olasılığına karşılık gelen apsis olarak tanımlanır. P nin probiti Y dir ve P aşağıdaki şekilde hesaplanır.

$$P=\frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{Y-5} e^{-\frac{1}{2}u^2} du \quad (2.9)$$

Bir x_0 dozu ile öldürülen deneklerin beklenen oranı ise aşağıdaki şekilde hesaplanır.

$$P=\frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{x_0} e^{-\frac{1}{2\sigma^2}(x-\mu)^2} dx \quad (2.10)$$

Genel olarak deneysel sonuçlar üzerinde bir probit dönüşüm gerçekleştirilmektedir. Bu dönüşüm z standart normal değişkeni ($z \sim N(0,1)$) kullanılarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilir.

$$Y=5+z =\alpha+\beta x \quad (2.11)$$

$Y_i=\alpha+\beta X_i+\varepsilon_i$ probit modeli olmak üzere;

Katsayılar maksimum olabilirlik yöntemi ile tahmin edilmektedir. Probit modelinde hataların normal dağıldığı varsayıldığından dolayı gözlemler birbirinden bağımsız olmaktadır. Bu durumda olabilirlik fonksiyonu aşağıdaki şekilde elde edilmektedir.

$$L(\beta)=p(Y_1, Y_2, \dots, Y_N)=\prod_{i=1}^N p(Y_i) \quad (2.12)$$

Probit model için $p(Y_i)$, $P(Y_i=1)=\varphi(\beta X_i)$ ve $P(Y_i=0)=\varphi(-\beta X_i)$ kaydedilerek tanımlanmaktadır. Dolayısıyla olabilirlik fonksiyonu ve log-olabilirlik fonksiyonu aşağıdaki şekilde elde edilmektedir.

$$L(\beta)=\prod_{i=1}^N p(Y_i)=\prod_{i=1}^N \varphi(\beta X_i)^{Y_i} \varphi(-\beta X_i)^{1-Y_i} \quad (2.13)$$

$$\ln L(\beta)=\sum_{i=1}^N Y_i \ln \varphi(\beta X_i) + \sum_{i=1}^N (1-Y_i) \ln \varphi(-\beta X_i) \quad (2.14)$$

Log olabilirlik fonksiyonunun α ve β ya göre gerekli türev işlemleri yapıldıktan sonra α ve β katsayıları elde edilebilmektedir. Katsayılar elde edildikten sonra aşağıdaki formüller yardımıyla m , LD50 ve herhangi bir p yüzdeliği için LD değerleri elde edilir.

$$m = -\frac{\alpha}{\beta}, \quad LD50 = 10^m, \quad LDp = (\varphi^{-1}(p) - \alpha) / \beta \quad (2.15)$$

m değerinin güven aralıkları ise şu şekilde hesaplanmaktadır (Finney, 1964);

$$m + \frac{g}{1-g} \left(m + \frac{\text{cov}(\alpha, \beta)}{\text{var}(\beta)} \right) \pm \frac{t}{\beta(1-g)} \sqrt{\text{var}(\alpha) + 2m\text{cov}(\alpha, \beta) + m^2\text{var}(\beta) - g \left(\text{var}(\alpha) - \frac{\text{cov}(\alpha, \beta)^2}{\text{var}(\beta)} \right)} \quad (2.16)$$

Burada;

- $g = t^2 \text{var}(\beta) / \beta^2$
- $t = 1.96$
- $\text{cov}(\alpha, \beta) = \alpha$ ve β nın kovaryansı
- $\text{var}(\alpha) = \alpha$ nın varyansı
- $\text{var}(\beta) = \beta$ nın varyansı

2.2.2- Lojit Analizi

Lojit model, 1944 yılında Joseph Berkson tarafından önerilmiştir. Bağımlı değişkenin iki düzeyli olduğu durumlarda en sık kullanılan modellerden bir tanesidir. Probit analizi ile benzer yapıdadır. Lojit analizi, cevap oranlarını lojit'e dönüştürerek lojistik dağılım varsayımı ile LD50/ED50 doz düzeylerini, yüzdeler doz düzeylerini ve güven aralıklarını hesaplamayı amaçlamaktadır (Özdamar, 2012). Lojit model için bazı dönüşümler söz konusu olabilmektedir. Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir.

$$Y = -\ln\left(\frac{P}{1-P}\right), \quad Y = \ln\left(\frac{P}{1-P}\right), \quad y = \frac{1}{2} \ln\left(\frac{P}{1-P}\right), \quad Y = 5 + \frac{1}{2} \ln\left(\frac{P}{1-P}\right) \quad (2.17)$$

Y , iki düzeyli bağımlı değişkenin 0 ve 1 gibi iki değer alabildiğini varsayalım. Bu durumda P parametresi $Y=1$ olma olasılığını temsil etmek üzere, P parametresinin değeri $P=P(Y=1)$ şeklinde ifade edilir.

Probit analizinde tolerans dağılımı normal dağılım olarak varsayılırken lojit analizinde tolerans dağılımı lojistik dağılım olarak varsayılmaktadır. Lojistik dağılımın yığılımlı yoğunluk fonksiyonu (cumulative distribution function, cdf) normal dağılımın yığılımlı yoğunluk fonksiyonundan farklı bir forma sahiptir ve P olasılıkları ile bu olasılıkların genel formda yazılışı aşağıdaki gibi gösterilebilir (Sakal, 2014).

$$P=P(Y=1)=\frac{\exp(\beta X_i)}{1+\exp(\beta X_i)} \quad (2.18)$$

$$P=P(Y=0)=\frac{1}{1+\exp(\beta X_i)} \quad (2.19)$$

$$\pi(x)=P(Y=1/X=x)=1-P(Y=0/x)=\frac{\exp(\alpha+\beta X_i)}{1+\exp(\alpha+\beta X_i)} \quad (2.20)$$

Lojit model için maksimum olabilirlik fonksiyonu aşağıdaki gibi elde edilir (Huang, 2000).

$$L(\beta)=\prod_{i=1}^N \left(\frac{\exp(\beta X_i)}{1+\exp(\beta X_i)} \right)^{Y_i} \left(\frac{1}{1+\exp(\beta X_i)} \right)^{1-Y_i} \quad (2.21)$$

Bu olabilirlik fonksiyonunun logaritması alınarak log olabilirlik fonksiyonu aşağıdaki şekilde elde edilmektedir.

$$\ln L(\beta) = \sum_{i=1}^N Y_i \ln \left(\frac{\exp(\beta X_i)}{1+\exp(\beta X_i)} \right) + \sum_{i=1}^N (1-Y_i) \ln \left(\frac{1}{1+\exp(\beta X_i)} \right) \quad (2.22)$$

Log olabilirlik fonksiyonunun α ve β ya göre gerekli türev işlemleri yapıldıktan sonra α ve β katsayıları elde edilebilmektedir. Katsayılar elde edildikten sonra aşağıdaki formüller yardımıyla m , LD50 ve herhangi bir p yüzdeliği için LD değerleri elde edilir.

$$m = -\frac{\alpha}{\beta}, \quad LD50 = 10^m, \quad LDp = (\log(p/(1-p)) - \alpha) / \beta \quad (2.23)$$

m değerinin güven aralıkları ise Probit analizindeki güven aralık formülü ile benzer olarak (2.14) formülü ile hesaplanmaktadır (Finney, 1964);

2.2.3- Dragstedt-Behrens Yöntemi

Dragstedt-Behrens Yöntemi, 1928 yılında Dragstedt tarafından 1929 yılında ise Behrens tarafından önerilmiştir. Bu yöntem ile LD50, LD25, LD75 değerlerini ve LD50 değerinin güven aralıklarını elde etmek için aşağıdaki hesaplamalar yapılmalıdır (Govindarajulu, 2000).

- Öncelikle her doz düzeyi için $T_1(x_i)$ ve $T_2(x_i)$ hesaplanır.

Burada, $T_1(x_i)$ x den daha az ya da eşit doz düzeylerin için $\sum r_i$ (r_i i. doz düzeyi için cevap değeri), $T_2(x_i)$ ise x den daha büyük ya da eşit doz düzeyleri için $\sum (n_i - r_i)$ şeklinde hesaplanmaktadır.

- Daha sonra

$$p_i^* = \frac{T_1(x)}{T_1(x) + T_2(x)} \quad (2.24)$$

formülü yardımıyla p_i^* ler hesaplanır.

- Eğer $p_i^* = 0.5$ (LD25 için $p_i^* = 0.25$ ve LD75 için $p_i^* = 0.75$) olacak şekilde bir $\log(x_i)$ doz düzeyi varsa $m = \log(x_i)$ dir.
- Diğer durumda $p_i^* < 0.5$ (LD25 için $p_i^* = 0.25$ ve LD75 için $p_i^* = 0.75$) olacak şekilde en büyük p_i^* değerine karşılık gelen doz düzeyi belirlenerek aşağıdaki formül uygulanır.

$$m = \log(x_i) + \frac{(\log(x_{i+1}) - \log(x_i))(0.5 - p^*(x_i))}{p^*(x_{i+1}) - p^*(x_i)}, \quad LD50 = 10^m \quad (2.25)$$

$$m = \log(x_i) + \frac{(\log(x_{i+1}) - \log(x_i))(0.25 - p^*(x_i))}{p^*(x_{i+1}) - p^*(x_i)}, \quad LD25 = 10^m \quad (2.26)$$

$$m = \log(x_i) + \frac{(\log(x_{i+1}) - \log(x_i))(0.75 - p^*(x_i))}{p^*(x_{i+1}) - p^*(x_i)}, \quad LD75 = 10^m \quad (2.27)$$

- Elde edilen medyan letal dozun standart hatası aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$SH(m) = \sqrt{\frac{0.79h * IQR}{n}} \quad (2.28)$$

Burada h yakın doz seviyeleri arasındaki fark olarak bulunur. IQR (çeyrekler arası açıklık) ise $\log(LD75) - \log(LD25)$ olarak hesaplanır.

- LD50'nin güven aralıkları $10^{m \pm z_{\alpha/2} * SH(m)}$ formülü ile hesaplanır.

2.2.4- Spearman-Kärber Yöntemi

Spearman Kärber yöntemi, 1908 yılında Spearman tarafından önerilmiştir. Daha sonra 1931 yılında Kärber tarafından geliştirilerek literatüre eklenmiştir. Kullanımı kolay ve hala birçok alanda popüler bir yöntemdir (Morgan, 1992). Psikometrik fonksiyonların analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Spearman Kärber yöntemi medyan letal dozun ve güven aralıklarının hesaplanması için kullanılmaktadır ve parametrik olmayan bir prosedür içermektedir. Bu yöntem dozların eşit aralıkta olmasına ihtiyaç duymamaktadır. Fakat iki varsayım içermektedir. Bunlar;

- Doz seviyeleri x_1, x_2, \dots, x_k olmak üzere x_1 'in altındaki doz seviyelerinde cevap oranının %0, x_k 'nin üstündeki doz seviyelerinde cevap oranının %100 olduğu varsayılmaktadır (Finney, 1964).
- Ardışık dozlar arasındaki cevap artış hızı aralığın merkezinde yoğunlaşmalıdır (Zhou, 2010).

Bu yöntem ile LD50 değerinin tahmini, bu değer varyansı, standart hatası ve güven aralıkları için aşağıdaki hesaplamalar yapılmalıdır.

- Öncelikle $p_i = \frac{r_i}{n_i}$ ($i=1,2,\dots,k$) hesaplanır.
- Daha sonra aşağıdaki formül yardımıyla önce m değeri sonra LD50 değeri hesaplanmaktadır.

$$m = \sum_{i=1}^{k-1} \frac{(p_{i+1} - p_i)(\log(x_i) + \log(x_{i+1}))}{2}, \text{ LD50} = 10^m \quad (2.27)$$

- Medyan letal dozun varyansı ve standart hatası aşağıdaki formül ile elde edilir.

$$\text{Var}(m) = \sum_{i=2}^{k-1} \frac{p_i(1-p_i)(\log(x_{i+1}) - \log(x_{i-1}))^2}{4n_i} \quad (2.28)$$

$$\text{SH}(m) = \sqrt{\text{Var}(m)} \quad (2.29)$$

- Hesaplanan standart hata değeri kullanılarak m 'nin güven aralıkları $m \pm z_{\alpha/2} \text{SH}(m)$ şeklinde bulunur.
- LD50 için güven aralıkları ise $10^{m \pm z_{\alpha/2} \text{SH}(m)}$ şeklinde olacaktır.

2.2.5- Shuster-Dietrich Yöntemi

Shuster-Dietrich Yöntemi, 1976 yılında kantal cevaplı denemelerde doz cevap eğrilerini tahmin etmek amacıyla Shuster ve Dietrich tarafından önerilmiştir.

Bu yöntem ile LD50 değerini ve güven aralıklarını elde etmek için aşağıdaki hesaplamalar yapılmalıdır.

$$n = \sum_{i=1}^k n_i \quad (2.30)$$

$$Y_i = \left(\frac{n_i}{n}\right)^{1/2} \log(x_i) \quad (2.31)$$

$$\tilde{Y} = \sum_{i=1}^k \left(\frac{n_i}{n}\right)^{1/2} Y_i = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^k n_i \log(x_i) \quad (2.32)$$

$$Z_i = \left(\frac{n_i}{n}\right)^{1/2} \sin^{-1}(p_i^{1/2}) \frac{180}{\pi} \quad (2.33)$$

$$\tilde{Z} = \sum_{i=1}^k \left(\frac{n_i}{n}\right)^{1/2} Z_i \quad (2.34)$$

$$S_{YZ} = \sum_{i=1}^k Y_i Z_i - \tilde{Y} \tilde{Z} \quad (2.35)$$

$$S_{ZZ} = \sum_{i=1}^k Z_i^2 - \tilde{Z}^2 \quad (2.36)$$

$$S_{YY} = \sum_{i=1}^k Y_i^2 - \tilde{Y}^2 \quad (2.37)$$

$$S_n = 820.7 \left[(\tilde{Z} - 45) \frac{S_{YZ}}{S_{ZZ}} + b^2 \right] \quad (2.38)$$

$$b = \frac{S_{YZ}}{S_{ZZ}} \quad (2.39)$$

$$m = \tilde{Y} - b(\tilde{Z} - 45) \quad (2.40)$$

- Yukarıdaki değerler hesaplandıktan sonra $LD50 = 10^m$ eşitliği yardımıyla LD50 hesaplanmış olur.

m 'nin güven aralıkları $m \pm z_{\alpha/2} * S_n / \sqrt{n}$ formülü yardımıyla bulunur. LD50 için güven aralıkları ise $10^{m \pm z_{\alpha/2} * S_n / \sqrt{n}}$ şeklinde elde edilir.

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1- Veri Yapısı

LD50 değerinin tahmin edilmesi için deneyin standart bir formu öncelikle uyarıcı dozlarının bir serisinin seçimini içermelidir. Genellikle iyi seçim doz düzeylerinin logaritmik dönüşüm sonrası eşit aralıklı olması sebebiyle geometrik bir yapıda olmasıdır (örneğin 0.08, 0.12, 0.18, 0.27, ...) ancak bu şart değildir. Bir doz düzeyinde uyarıcıya maruz kalan denek sayısı n , ölüm sayısı r olarak belirlenir ve $p=r/n$ değerleri kaydedilir. n sayılarının en iyi seçimi ise genellikle her doz düzeyi için eşit olması durumudur ancak bu elzem değildir. Dozları geometrik bir seri ve her doz düzeyinde uyarıcıya maruz kalan denek sayısının (n) eşit olduğu biçimde tasarlanan bir deney için simetrik bir dizayna sahip olduğu söylenebilir (Finney, 1985).

Bu bilgiler ışığında LD50 doz düzeylerini belirlemek için veri yapısı aşağıdaki şekilde tablo ile gösterilebilir. Burada x_1, x_2, \dots, x_i ler denek gruplarına verilen uyarının doz düzeylerini içeren seridir. n_1, n_2, \dots, n_i uyarana maruz kalan denek sayısını gösteren seridir. r_1, r_2, \dots, r_i ler ise denek gruplarına verilen doz düzeyleri sonrasında alınan cevapları temsil eden seridir. Örneğin r_1, n_1 birime x_1 dozunun verilmesi ile elde edilen cevaptır.

Tablo 3.1- Veri yapısı

Doz Düzeyleri	Denek Sayısı	Cevap Sayısı
x_1	n_1	r_1
x_2	n_2	r_2
...
x_i	n_i	r_i

3.2- Simülasyon Çalışması

İkili cevaplar üreten bir doz-cevap çalışmasında LD50 dozlarının belirlenmesi için kullanılan dağılım varsayımı olmayan ve dağılım varsayımı olan yöntemlerden bazıları bu çalışmaya dâhil edilmiştir.

Bu yöntemler aşağıda verilmiştir.

- 1) Probit Analizi
- 2) Lojit Analizi
- 3) Dragstedt-Behrens Yöntemi
- 4) Spearman Kärber Yöntemi
- 5) Shuster-Dietrich Yöntemi

3.2.1- Veri Türetimi

Her doz düzeyinde uyarıcıya verilen cevaplar normal, uç değer ve lojistik dağılım türlerine göre ve dar ya da geniş doz aralıkları kullanılarak veri türetimi gerçekleştirilmiştir. Bu türetim işleminde tolerans dağılımdan faydalanılmıştır.

Tolerans dağılımlarının parametreleri hesaplanırken doz düzeylerinin ortalaması ve standart sapması kullanılmıştır. Böylelikle veri setinin aynı ortalama ve standart sapmaya sahip olması sağlanmıştır. Dağılımlara ait parametreler aşağıda tablodaki şekilde hesaplanmıştır.

Tablo 3.2- Dağılımlara ait parametreler

Dağılım Türü	Parametreler		
	Konum Parametresi	Ölçek Parametresi	Şekil Parametresi
Normal Dağılım	$\mu = \log_{10}(\text{Doz.Ort})$	$\sigma = \log_{10}(\text{Doz.Sd})$	-
Uç Değer Dağılım	$\mu = \log_{10}(\text{Doz.Ort}) - \sigma * \gamma$	$\sigma = \frac{\log_{10}(\text{Doz.Sd}) * \sqrt{6}}{\pi}$	0
Lojistik Dağılım	$\mu = \log_{10}(\text{Doz.Ort})$	$\sigma = \frac{\log_{10}(\text{Doz.Sd}) * \sqrt{3}}{\pi}$	-

Doz.Ort=Doz düzeylerinin ortalaması, Doz.Sd=Doz düzeylerinin standart sapması, γ (Euler-Mascheroni sabiti)=0.5772.

Verilerin türetilmesi iki aşamada gerçekleşmiştir;

- Cevap oranlarının oluşturulması
- Cevap oranlarına dayalı cevap değerlerinin oluşturulması

İlk aşamada, cevap oranları oluşturulurken dağılımların yığılımlı dağılım fonksiyonundan yararlanılmıştır. R paket programında normal dağılım için "pnorm" fonksiyonu, uç değer dağılım için "evd" paketindeki "pgev" fonksiyonu, lojistik dağılım için ise "plogis" fonksiyonu kullanılmıştır. Dağılımlara ait parametreler belirlendikten sonra bu fonksiyonlar aracılığı ile doz değerlerine ait cevap oranları elde edilmiştir.

İkinci aşamada ise binom dağılımından artarak devam eden cevap oranları sayesinde denek gruplarında ölen denek sayıları belirlenmiştir.

3.2.2- Simülasyon Algoritması

Simülasyon algoritmasının oluşturulması ve çözümlerin elde edilmesinde aşağıdaki sıralı işlemlerden yararlanılmıştır.

- Dar ve geniş aralığa sahip doz düzeyleri belirlendi ve vektör olarak tanımlandı.
- Doz seviyelerinin logaritması alındı.
- Doz seviyelerinin ortalaması ve standart sapması hesaplanarak logaritması alındı.
- Çalışmaya dâhil edilen dağılım türlerinin yığılımlı dağılım fonksiyonu belirlendi.
- Bu fonksiyon aracılığı ile cevap oranı oluşturuldu.
- Cevap oranı kullanılarak binom dağılımından cevap değerleri türetildi.
- Kullanılan yöntemin hesaplamalarını içeren makrolar yazıldı.
- Elde edilen medyan letal dozların ortalamaları alındı.
- Karşılaştırma ölçütlerinden hata kareler ortalaması ile güven aralığı uzunluğu hesaplandı.
- Son olarak etkinlik hesaplamaları gerçekleştirildi.

3.2.3- Simülasyon Parametreleri

Simülasyon çalışmalarında doz düzeyleri, örnek hacimleri ve replikasyon sayıları aşağıdaki biçimde belirlenmiştir.

- Belirlenen dar doz düzeyleri $10^{0.1}$, $10^{0.2}$, $10^{0.3}$, $10^{0.4}$, $10^{0.5}$, $10^{0.6}$, $10^{0.7}$, geniş doz düzeyleri ise $10^{0.1}$, $10^{0.3}$, $10^{0.5}$, $10^{0.7}$, $10^{0.9}$, $10^{1.1}$, $10^{1.3}$ şeklindedir.
- Simülasyon çalışmasında her doz düzeyindeki denek gruplarındaki örnek hacimleri sırasıyla 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 olarak belirlenmiştir.
- Replikasyon sayısı ise 500 olarak belirlenmiştir.

3.2.4- Karşılaştırma Ölçütleri

Yöntemler karşılaştırılırken hata kareler ortalaması, güven aralığı uzunluğu ve etkinlik değerleri karşılaştırma ölçütleri olarak belirlenmiştir. Hata kareler ortalaması için, öncelikle medyan letal dozlar ile doz düzeylerinin ortalamaları Bölüm 2.2. ve izleyen alt bölümlerinde anlatıldığı gibi hesaplandıktan sonra farkları hesaplanmıştır. Daha sonra bu farkın karesi alınarak ortalama hesabına gidilmiştir. Güven aralığı uzunluğu için ise üst limit ve alt limit hesaplandıktan sonra farkları alınmıştır. Etkinlik hesaplamaları ise aşağıdaki formül yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Etkinlik} = 100 * \frac{\text{HKO}_{\text{Referans Yöntem}}}{\text{HKO}_{\text{Yöntem}}} \quad (3.1)$$

Burada etkinlik değeri, "Etkinlik < 100 ise Referans yöntem daha etkindir, Etkinlik > 100 ise diğer yöntem daha etkindir" şeklinde yorumlanmaktadır.

3.3- Simülasyon Çalışmasında Kullanılan Paket Programlar

Bu çalışmada medyan letal doz belirlemede kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması ve simülasyonlar R-project dilinde yazılan kodlar ile gerçekleştirilmiştir. R, istatistiki hesaplamalara ve grafik çizimine imkân veren ücretsiz bir dil ve ortamdır (Gürsakal, 2014). R dilinde analizler varsayılan R konsol aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Ancak bu tez çalışmasında RStudio (Version 0.99.879) tercih edilmiştir. RStudio, R için bütünleşik geliştirme ortamıdır. RStudio, açık kaynak kodlu ya da ticari olarak kullanılabilen, kullanıcılara esnek bir çalışma ortamı sunmaktadır. Ayrıca veri türetimi gerçekleştirmek üzere kullanılan tolerans dağılımlarından genelleştirilmiş uç değer dağılımı için R paket programında "evd" paketi kullanılmıştır.

R istatistik programına ek olarak herkesçe elde edilmesi ve kullanımı kolay Microsoft Office Professional Plus 2013 paket programının bir parçası olan Excel, etkinlik değerleri hesaplanırken kullanılmıştır.

3.3.1- Probit Analiz Yöntemini İçeren Kodlar

Probit Analiz yöntemine ait R-studio programı ile R dilinde yazılan kodlar aşağıdaki şekildedir.

```
rm(list=ls())
set.seed(98765)

# Doz Seviyeleri
Doz.Seviye=c(10^0.1, 10^0.2, 10^0.3, 10^0.4, 10^0.5, 10^0.6,
10^0.7)
#Doz.Seviye=c(10^0.1, 10^0.3, 10^0.5, 10^0.7, 10^0.9, 10^1.1,
10^1.3)
Doz.Seviye.Sayısı=length(Doz.Seviye);
Log.Doz.Seviye=log10(Doz.Seviye);

# Dağılım parametreleri
Log.Ort=log10(mean(Doz.Seviye)); #normal ve lojistik
dağılımın konum parametresi
Log.Sd=log10(sd(Doz.Seviye)); #normal dağılımın ölçek
parametresi
scale1=(sqrt(6)*Log.Sd)/pi #uç deger dağılımının ölçek
parametresi
location=Log.Ort-scale1*0.5772 #uç deger dağılımının konum
parametresi
scale2=(sqrt(3)*Log.Sd)/pi #lojistik dağılımın ölçek
parametresi

# Tolerans Dağılımı
Tol.Dag=function(u) {pnorm(u, Log.Ort, Log.Sd)}; #Normal Dağılım
```



```

#Tol.Dag=function(u){pgev(u, loc=location, scale=scale1,
shape=0)}; #Extreme Value Dağılım evd paketi ile
#Tol.Dag=function(u){plogis(u, location =Log.Ort, scale
=scale2)}; #Lojistik Dağılım

# Cevap Oranı
Cevap.Oranı=Tol.Dag(Log.Doiz.Seviye);

# İstatistikler
Ort.LD50=rep(0,5);
HKO.LD50=rep(0,5);
GA.uzunluk=rep(0,5);

j=1;
for(size in c(10,15,20,25,30,40,50))
{
n=rep(size,Doz.Seviye.Sayısı)
Replikasyon=500;

b0=b1=var.b0=var.b1=cov.b0.b1=m=rep(0,Replikasyon);

for(run in seq(Replikasyon))
{
Cevap1=rep(0,Doz.Seviye.Sayısı)
for(i in seq(Doz.Seviye.Sayısı))
{
Cevap1[i]=rbinom(1, n[i], Cevap.Oranı[i]);
}
# Probit Analizi
X=Log.Doiz.Seviye;
Cevap=sort(Cevap1)
veri=data.frame(X,n,Cevap)
model=glm(cbind(Cevap,n-
Cevap)~X,family=binomial(link=probit),data=veri)
b0[run]=summary(model)$coefficients[1,1]
b1[run]=summary(model)$coefficients[2,1]
var.b0[run]=summary(model)$cov.unscaled[1,1]
var.b1[run]=summary(model)$cov.unscaled[2,2]
cov.b0.b1[run]=summary(model)$cov.unscaled[1,2]
m[run]=-b0[run]/b1[run]

}
g=((1.96^2)*var.b1)/(b1^2)
bir=m+g/(1-g)*(m+cov.b0.b1/var.b1)
iki=(1.96/b1*(1-g))
üç=var.b0+2*m*cov.b0.b1+(m^2)*var.b1
dört=g*(var.b0-(cov.b0.b1)^2/var.b1)
ust=bir+iki*sqrt(üç-dört)
alt=bir-iki*sqrt(üç-dört)
Ort.LD50[j]=mean(10^m);
HKO.LD50[j]=mean((10^m-10^Log.Ort)^2);

```

```

GA.uzunluk[j]=mean(10^ust-10^alt,na.rm=T);

j=j+1;
}

Result=as.matrix(cbind(c(10,15,20,25,30,40,50),Ort.LD50,HKO.L
D50,GA.uzunluk))
dimnames(Result)=list(c("","","","","","",""),
c("n","Ortalama","HKO","GA.uzunluk"))
Result

```

3.3.2- Lojit Analiz Yöntemini İçeren Kodlar

Lojit Analiz yöntemine ait R-studio programı ile R dilinde yazılan kodlar aşağıdaki şekildedir.

```

rm(list=ls())
set.seed(98765)

# Doz Seviyeleri
Doz.Seviyec(10^0.1, 10^0.2, 10^0.3, 10^0.4, 10^0.5, 10^0.6,
10^0.7)
#Doz.Seviyec(10^0.1, 10^0.3, 10^0.5, 10^0.7, 10^0.9, 10^1.1,
10^1.3)
Doz.Seviyec.Sayısı=length(Doz.Seviyec);
Log.Doz.Seviyec=log10(Doz.Seviyec);

# Dağılım parametreleri
Log.Ort=log10(mean(Doz.Seviyec)); #normal ve lojistik
dağılımın konum parametresi
Log.Sd=log10(sd(Doz.Seviyec)); #normal dağılımın ölçek
parametresi
scale1=(sqrt(6)*Log.Sd)/pi #uç deger dağılımının ölçek
parametresi
location=Log.Ort-scale1*0.5772 #uç deger dağılımının konum
parametresi
scale2=(sqrt(3)*Log.Sd)/pi #lojistik dağılımın ölçek
parametresi

# Tolerans Dağılımı
Tol.Dag=function(u){pnorm(u,Log.Ort,Log.Sd)}; #Normal Dağılım
#Tol.Dag=function(u){pgev(u, loc=location, scale=scale1,
shape=0)}; #Extreme Value Dağılım evd paketi ile
#Tol.Dag=function(u){plogis(u, location =Log.Ort, scale
=scale2)}; #Lojistik Dağılım

# Cevap Oranı
Cevap.Oranı=Tol.Dag(Log.Doz.Seviyec);

# İstatistikler
Ort.LD50=rep(0,5);

```

```

HKO.LD50=rep(0,5);
GA.uzunluk=rep(0,5);

j=1;
for(size in c(10,15,20,25,30,40,50))
{
n=rep(size,Doz.Seviye.Sayısı)
Replikasyon=500;

b0=b1=var.b0=var.b1=cov.b0.b1=m=rep(0,Replikasyon);

for(run in seq(Replikasyon))
{
Cevap1=rep(0,Doz.Seviye.Sayısı)
for(i in seq(Doz.Seviye.Sayısı))
{
Cevap1[i]=rbinom(1, n[i], Cevap.Oranı[i])
}
# Lojit Analizi
X=Log.Doz.Seviye;
Cevap=sort(Cevap1);
veri=data.frame(X,n,Cevap)
model=glm(cbind(Cevap,n-
Cevap)~X,family=binomial(link=logit),data=veri)
b0[run]=summary(model)$coefficients[1,1]
b1[run]=summary(model)$coefficients[2,1]
var.b0[run]=summary(model)$cov.unscaled[1,1]
var.b1[run]=summary(model)$cov.unscaled[2,2]
cov.b0.b1[run]=summary(model)$cov.unscaled[1,2]
m[run]=-b0[run]/b1[run]

}
g=((1.96^2)*var.b1)/(b1^2)
bir=m+g/(1-g)*(m+cov.b0.b1/var.b1)
iki=(1.96/b1*(1-g))
üç=var.b0+2*m*cov.b0.b1+(m^2)*var.b1
dört=g*(var.b0-(cov.b0.b1)^2/var.b1)
ust=bir+iki*sqrt(üç-dört)
alt=bir-iki*sqrt(üç-dört)
Ort.LD50[j]=mean(10^m);
HKO.LD50[j]=mean((10^m-10^Log.Ort)^2);
GA.uzunluk[j]=mean(10^ust-10^alt,na.rm=T);

j=j+1;
}

Result=as.matrix(cbind(c(10,15,20,25,30,40,50),Ort.LD50,HKO.L
D50,GA.uzunluk))
dimnames(Result)=list(c("", "", "", "", "", "", ""),
c("n", "Ortalama", "HKO", "GA.uzunluk"))
Result

```

3.3.3- Dragstedt-Behrens Yöntemini İçeren Kodlar

Dragstedt-Behrens yöntemine ait R-studio programı ile R dilinde yazılan kodlar aşağıdaki şekildedir.

```
rm(list=ls())
set.seed(98765)

# Doz Seviyeleri
Doz.Seviyec=c(10^0.1, 10^0.2, 10^0.3, 10^0.4, 10^0.5, 10^0.6,
10^0.7)
#Doz.Seviyec=c(10^0.1, 10^0.3, 10^0.5, 10^0.7, 10^0.9, 10^1.1,
10^1.3)
Doz.Seviyec.Sayısl=length(Doz.Seviyec);
Log.Doz.Seviyec=log10(Doz.Seviyec);

# Dağılım parametreleri
Log.Ort=log10(mean(Doz.Seviyec)); #normal ve lojistik
dağılımın konum parametresi
Log.Sd=log10(sd(Doz.Seviyec)); #normal dağılımın ölçek
parametresi
scale1=(sqrt(6)*Log.Sd)/pi #uç deger dağılımının ölçek
parametresi
location=Log.Ort-scale1*0.5772 #uç değer dağılımının konum
parametresi
scale2=(sqrt(3)*Log.Sd)/pi #lojistik dağılımın ölçek
parametresi

# Tolerans Dağılımı
Tol.Dag=function(u){pnorm(u,Log.Ort,Log.Sd)}; #Normal Dağılım
#Tol.Dag=function(u){pgev(u, loc=location, scale=scale1,
shape=0)}; #Extreme Value Dağılım evd paketi ile
#Tol.Dag=function(u){plogis(u, location =Log.Ort, scale
=scale2)}; #Lojistik Dağılım

# Cevap Oranı
Cevap.Oranı=Tol.Dag(Log.Do.Seviyec);

# İstatistikler
Ort.LD50=rep(0,5);
HKO.LD50=rep(0,5);
GA.Uzunluk=rep(0,5);

j=1;
for(size in c(10,15,20,25,30,40,50))
{
n=rep(size,Doz.Seviyec.Sayısl)
Replikasyon=500;

m50=rep(0,Replikasyon);
m25=rep(0,Replikasyon);
m75=rep(0,Replikasyon);
```

```

SH=rep(0,Replikasyon);

for(run in seq(Replikasyon))
{
Cevap1=rep(0,Doz.Seviye.Sayısı)

for(i in seq(Doz.Seviye.Sayısı))
{
Cevap1[i]=rbinom(1, n[i], Cevap.Oranı[i])
}

# Dragstedt-Behrens Yöntemi
Cevap=sort(Cevap1)
T1=cumsum(Cevap);
T2=rev(cumsum(rev(n-Cevap)));
pyıldız=T1/(T1+T2);

palt50=max(pyıldız[pyıldız<=0.5])
püst50=min(pyıldız[pyıldız>=0.5])
xalt50=Log.Doz.Seviye[pyıldız==palt50]
xüst50=Log.Doz.Seviye[pyıldız==püst50]
w50=xalt50+((xüst50-xalt50)*(0.5-palt50))/(püst50-palt50)
m50[run]=ifelse(
püst50==palt50, palt50,w50)

palt25=max(pyıldız[pyıldız<=0.25])
püst25=min(pyıldız[pyıldız>=0.25])
xalt25=Log.Doz.Seviye[pyıldız==palt25]
xüst25=Log.Doz.Seviye[pyıldız==püst25]
w25=xalt25+((xüst25-xalt25)*(0.25-palt25))/(püst25-palt25)
m25[run]=ifelse(
püst25==palt25, palt25,w25)

palt75=max(pyıldız[pyıldız<=0.75])
püst75=min(pyıldız[pyıldız>=0.75])
xalt75=Log.Doz.Seviye[pyıldız==palt75]
xüst75=Log.Doz.Seviye[pyıldız==püst75]
w75=xalt75+((xüst75-xalt75)*(0.75-palt75))/(püst75-palt75)
m75[run]=ifelse(
püst75==palt75, palt75,w75)
}

h=(max(Log.Doz.Seviye)-
min(Log.Doz.Seviye))/(Doz.Seviye.Sayısı-1);
IR=m75-m25;
SH=sqrt(0.79*h*IR/round(mean(n)));
Alt.limit=10^(m50-1.96*SH);
Ust.limit=10^(m50+1.96*SH);

Ort.LD50[j]=mean(10^m50);
HKO.LD50[j]=mean((10^m50-10^Log.Ort)^2);

```

```

GA.Uzunluk[j]=mean(10^( (m50+1.96*SH) - (m50-1.96*SH) ),na.rm=T) ;

j=j+1;
}
Result=as.matrix(cbind(c(10,15,20,25,30,40,50),Ort.LD50,HKO.LD50,GA.Uzunluk))
dimnames(Result)=list(c("","","","","","",""),
c("n","Ortalama","HKO","GA.Uzunluk"))
Result

```

3.3.4- Spearman Kärber Yöntemini İçeren Kodlar

Spearman Kärber yöntemine ait R-studio programı ile R dilinde yazılan kodlar aşağıdaki şekildedir.

```

rm(list=ls())
set.seed(98765)

# Doz Seviyeleri
Doz.Seviye=c(10^0.1, 10^0.2, 10^0.3, 10^0.4, 10^0.5, 10^0.6,
10^0.7)
#Doz.Seviye=c(10^0.1, 10^0.3, 10^0.5, 10^0.7, 10^0.9, 10^1.1,
10^1.3)
Doz.Seviye.Sayısı=length(Doz.Seviye);
Log.Doz.Seviye=log10(Doz.Seviye);

# Dağılım parametreleri
Log.Ort=log10(mean(Doz.Seviye)); #normal ve lojistik
dağılımın konum parametresi
Log.Sd=log10(sd(Doz.Seviye)); #normal dağılımın ölçek
parametresi
scale1=(sqrt(6)*Log.Sd)/pi #uç deger dağılımının ölçek
parametresi
location=Log.Ort-scale1*0.5772 #uç deger dağılımının konum
parametresi
scale2=(sqrt(3)*Log.Sd)/pi #lojistik dağılımın ölçek
parametresi

# Tolerans Dağılımı
Tol.Dag=function(u){pnorm(u,Log.Ort,Log.Sd)}; #Normal Dağılım
#Tol.Dag=function(u){pgev(u, loc=location, scale=scale1,
shape=0)}; #Extreme Value Dağılım evd paketi ile
#Tol.Dag=function(u){plogis(u, location =Log.Ort, scale
=scale2)}; #Lojistik Dağılım

# Cevap Oranı
Cevap.Oranı=Tol.Dag(Log.Doz.Seviye);

# İstatistikler
m=rep(0,5);
Var=rep(0,5);

```

```

Ort.LD50=rep(0,5);
HKO.LD50=rep(0,5);
GA.Uzunluk=rep(0,5);

j=1;
for(size in c(10,15,20,25,30,40,50))
{
n=rep(size,Doz.Seviye.Sayısı)
Replikasyon=500;
m=rep(0,Replikasyon);

for(run in seq(Replikasyon))
{
Cevap1=rep(0,Doz.Seviye.Sayısı)
for(i in seq(Doz.Seviye.Sayısı))
{
Cevap1[i]=rbinom(1, n[i], Cevap.Oranı[i])
}

# Spearman-Karber Method
Cevap=sort(Cevap1);
p=Cevap/n;
P=c(0,p,1);
K=length(P);
X=c(0,Log.Doz.Seviye,1);
N=rep(size,K)
m[run]=sum((P[2:K]-P[1:(K-1)])*(X[1:(K-1)]+X[2:K]))/2
Var[run]=sum(P[2:(K-1)]*(1-P[2:(K-1)])*(X[3:(K)]-X[1:(K-2)]))^2/(4*N[2:(K-1)]) # her m nin varyansı
}
SH=sqrt(Var/N)
Alt.limit=10^(m-1.96*SH)
Ust.limit=10^(m+1.96*SH)

frekans=sum((10^Log.Ort>=Alt.limit)*(10^Log.Ort<=Ust.limit));
GA.Uzunluk[j]=mean(10^((m+1.96*SH)-(m-1.96*SH)));
Ort.LD50[j]=mean(10^m);
HKO.LD50[j]=mean((10^m-10^Log.Ort)^2);
j=j+1;
}

Result=as.matrix(cbind(c(10,15,20,25,30,40,50),Ort.LD50,HKO.LD50,GA.Uzunluk))
dimnames(Result)=list(c("","","","","","",""),
c("n","Ortalama","HKO","GA.Uzunluk"))
Result

```

3.3.5- Shuster-Dietrich Yöntemini İçeren Kodlar

Shuster-Dietrich yöntemine ait R-studio programı ile R dilinde yazılan kodlar aşağıdaki şekildedir.

```
rm(list=ls())
set.seed(98765)

# Doz Seviyeleri
Doz.Seviyec=c(10^0.1, 10^0.2, 10^0.3, 10^0.4, 10^0.5, 10^0.6,
10^0.7)
#Doz.Seviyec=c(10^0.1, 10^0.3, 10^0.5, 10^0.7, 10^0.9, 10^1.1,
10^1.3)
Doz.Seviyec.Sayısl=length(Doz.Seviyec);
Log.Doz.Seviyec=log10(Doz.Seviyec);

# Dağılım parametreleri
Log.Ort=log10(mean(Doz.Seviyec)); #normal ve lojistik
dağılımın konum parametresi
Log.Sd=log10(sd(Doz.Seviyec)); #normal dağılımın ölçek
parametresi
scale1=(sqrt(6)*Log.Sd)/pi #uç deger dağılımının ölçek
parametresi
location=Log.Ort-scale1*0.5772 #uç değer dağılımının konum
parametresi
scale2=(sqrt(3)*Log.Sd)/pi #lojistik dağılımın ölçek
parametresi

# Tolerans Dağılımı
Tol.Dag=function(u){pnorm(u,Log.Ort,Log.Sd)}; #Normal Dağılım
#Tol.Dag=function(u){pgev(u, loc=location, scale=scale1,
shape=0)}; #Extreme Value Dağılım evd paketi ile
#Tol.Dag=function(u){plogis(u, location =Log.Ort, scale
=scale2)}; #Lojistik Dağılım

# Cevap Oranı
Cevap.Oranı=Tol.Dag(Log.Do.Seviyec);

# İstatistikler
Ort.LD50=rep(0,5);
HKO.LD50=rep(0,5);
GA.Uzunluk=rep(0,5);

j=1;
for(size in c(10,15,20,25,30,40,50))
{
n=rep(size,Doz.Seviyec.Sayısl)
Replikasyon=500;

m=rep(0,Replikasyon);
SH=rep(0,Replikasyon);
```



```

for(run in seq(Replikasyon))
{
Cevap1=rep(0,Doz.Seviye.Sayısı)

for(i in seq(Doz.Seviye.Sayısı))
{
Cevap1[i]=rbinom(1, n[i], Cevap.Oranı[i])
}

# Shuster-Dietrich Method
Cevap=sort(Cevap1)
N=sum(n);
Y=(sqrt(n/N))*Log.Doz.Seviye;
Ysapka=sum((sqrt(n/N))*Y);
p=Cevap/n;
Z=(sqrt(n/N))*asin(sqrt(p))*180/pi;
Zsapka=sum(Z*sqrt(n/N));
Syz=sum(Y*Z)-Ysapka*Zsapka;
Szz=sum(Z*Z)-Zsapka*Zsapka;
bsapka=Syz/Szz;
m[run]=Ysapka-bsapka*(Zsapka-45);
}

Syy= sum(Y^2)-Ysapka^2
Sn=sqrt(820.7*((Zsapka-45)^2*Syy/Szz^2+bsapka^2))
SH=Sn/sqrt(N)
Alt.limit=10^(m-1.96*SH)
Ust.limit=10^(m+1.96*SH)

Ort.LD50[j]=mean(10^m);
HKO.LD50[j]=mean((10^m-10^Log.Ort)^2);
GA.Uzunluk[j]=mean(10^((m+1.96*SH)-(m-1.96*SH)));

j=j+1;
}

Result=as.matrix(cbind(c(10,15,20,25,30,40,50),Ort.LD50,HKO.L
D50,GA.Uzunluk))
dimnames(Result)=list(c("", "", "", "", "", "", ""),
c("n", "Ortalama", "HKO", "GA.Uzunluk"))
Result

```

4- BULGULAR

Bölüm 2.2' de yöntemlere ait LD50/ED50 hesaplama aşamaları verilmiştir. Farklı veri setleri kullanılarak her yöntem için 500 tekrarlı LD50/ED50 değerleri elde edilmiştir. Bu değerlerin hata kareler ortalaması (HKO), aşağıdaki şekilde hesaplanarak bu değerlerin ortalaması hesaplanmıştır (Zhou, 2010).

$$HKO = \left(LD50 - 10^{\text{Logaritmik Ortalama}} \right)^2 \quad (4.1)$$

- Logaritmik Ortalama = \log_{10} (Doz Düzeylerinin Ortalaması)

LD50/ED50 değerlerinin %95 güven aralıkları (%95 GA) için aşağıdaki formüller kullanılmıştır. Ayrıca %95 güven aralığı uzunluğu (%95 GAU) üst limit ve alt limit değerlerinin farkları alınarak hesaplanmıştır.

Probit ve Lojit Analiz yöntemleri için m değerinin güven aralıkları ise (2.14) formülü yardımı ile hesaplanmaktadır (Finney, 1964);

Daha sonra %95 GA = 10^m değerinin güven aralıkları formülü ile LD50 değerinin güven aralıkları elde edilir.

Dragstedt-Behrens Spearman-Kärber ve Shuster-Dietrich yöntemleri için;

$$\%95 \text{ GA} = 10^{m \pm z_{\alpha/2} SH(m)} \quad (4.2)$$

$$\%95 \text{ GAU} = 10^{m + z_{\alpha/2} SH(m)} - 10^{m - z_{\alpha/2} SH(m)} \quad (4.3)$$

Etkinlik değerleri (3.1) formülü yardımı ile elde edilmiştir. Burada etkinlik değeri, "Etkinlik < 100 ise Referans yöntem daha etkindir, Etkinlik > 100 ise diğer yöntem daha etkindir" şeklinde yorumlanmaktadır.

4.1- Probit Analiz Yöntemine İlişkin Bulgular

Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3' de Probit analizi sonucunda, dar doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.1- Probit Analizi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.791665	0.031353418	0.5025787
15	2.790317	0.021791704	0.4620977
20	2.791172	0.017123936	0.4221566
25	2.791803	0.012916332	0.3913049
30	2.793829	0.010316115	0.3618583
40	2.787171	0.008660045	0.3205928
50	2.786417	0.006204983	0.2917925

Tablo 4.2- Probit Analizi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.786816	0.029515500	0.4803113
15	2.789155	0.021046461	0.4437454
20	2.788752	0.015094937	0.4048448
25	2.792995	0.011398329	0.3762433
30	2.794110	0.009387042	0.3469456
40	2.788349	0.008171337	0.3090667
50	2.788648	0.005676735	0.2806065

Tablo 4.3- Probit Analizi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.788403	0.030748849	0.4927429
15	2.787570	0.021193123	0.4551477
20	2.787212	0.016768836	0.4156709
25	2.789748	0.012343149	0.3863616
30	2.790870	0.010401083	0.3573002
40	2.783697	0.008478693	0.3167675
50	2.782387	0.006221013	0.2881224

Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3 dikkate alındığında dar doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Probit analizinin tüm dağılım türlerinde benzer hata kareler ortalaması ve güven aralığı uzunluğu verdiği gözlemlenmiştir. Beklenen LD50 değerine (2.786598) tüm dağılımlarda yakınsamıştır.

Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6' de Probit analizi sonucunda, geniş doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.4- Probit Analizi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	7.479760	6.490823	6.065983e+07
15	7.459092	4.022903	2.275883e+06
20	7.487840	3.014600	5.448309
25	7.537932	2.436247	5.078483
30	7.485924	1.881540	4.655834
40	7.533368	1.918123	4.354522
50	7.418869	1.179928	3.855040

Tablo 4.5- Probit Analizi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	5.980104	4.638439	3.552405
15	5.955299	3.944628	4.536847
20	5.956663	3.464607	3.407643
25	5.965390	3.153015	3.260567
30	5.941138	3.020090	3.039440
40	5.936572	2.936491	2.780313
50	5.865167	2.921729	2.514555

Tablo 4.6- Probit Analizi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	7.484569	5.3053264	16.169839
15	7.459996	3.3936246	5.605224
20	7.469369	2.5926643	4.996189
25	7.514506	2.0392888	4.696592
30	7.445983	1.5104444	4.283350
40	7.492217	1.5528383	3.969881
50	7.398808	0.9830391	3.534374

Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6 dikkate alındığında geniş doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Probit analizi uç değer dağılımında daha küçük hata kareler ortalaması ve güven aralığı uzunluğuna sahiptir. Ancak beklenen LD50 değerine (7.416214) normal dağılımda daha yakın sonuçlar vermiştir.

4.2- Lojit Analiz Yöntemine İlişkin Bulgular

Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9' da Lojit analizi sonucunda, dar doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.7- Lojit Analizi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.791867	0.032233583	0.4715832
15	2.791416	0.022067446	0.4468214
20	2.793094	0.017423867	0.4136962
25	2.794781	0.013444546	0.3862419
30	2.797192	0.010720310	0.3584906
40	2.788945	0.008820311	0.3194034
50	2.789997	0.006474335	0.2920651

Tablo 4.8- Lojit Analizi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.774259	0.030192099	0.4465247
15	2.774720	0.021412665	0.4248653
20	2.774318	0.015644575	0.3928081
25	2.777324	0.011937352	0.3674320
30	2.778730	0.009717849	0.3402902
40	2.770995	0.008541143	0.3046638
50	2.772422	0.006089726	0.2779065

Tablo 4.9- Lojit Analizi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.788831	0.030901178	0.4606764
15	2.789374	0.021059654	0.4383018
20	2.790025	0.016683451	0.4054296
25	2.793131	0.012553854	0.3794814
30	2.795139	0.010540909	0.3520454
40	2.786439	0.008398457	0.3139361
50	2.787077	0.006305442	0.2868385

Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 dikkate alındığında dar doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Lojit analizinin tüm dağılım türlerinde benzer hata kareler ortalaması ve güven aralığı uzunluğu verdiği gözlemlenmiştir. Beklenen LD50 değerine (2.786598) tüm dağılımlarda yakınsamıştır.

Tablo 4.10, Tablo 4.11 ve Tablo 4.12’ da Lojit analizi sonucunda, geniş doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.10- Lojit Analizi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	7.492520	6.255077	2.457857e+12
15	7.478297	4.012195	1.258233e+15
20	7.506537	3.013369	5.252038
25	7.557941	2.437399	4.939376
30	7.509000	1.888783	4.559944
40	7.552862	1.922124	4.287459
50	7.441001	1.186250	3.816178

Tablo 4.11- Lojit Analizi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	5.983929	4.665089	3.516803
15	5.958096	3.975728	9.412190
20	5.958996	3.491299	3.334088
25	5.967286	3.171393	3.215556
30	5.944780	3.027788	3.014064
40	5.935569	2.954796	2.769066
50	5.865882	2.933478	2.514877

Tablo 4.12- Lojit Analizi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	7.502396	5.2078256	20.218855
15	7.482526	3.3865559	5.367935
20	7.491952	2.5945131	4.823595
25	7.539565	2.0478300	4.575855
30	7.474169	1.5192102	4.202579
40	7.516031	1.5580079	3.913070
50	7.425730	0.9891512	3.501771

Tablo 4.10, Tablo 4.11 ve Tablo 4.12 dikkate alındığında geniş doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Lojit analizi küçük örnek hacimleri için uç değer dağılımında küçük hata kareler ortalaması vermiştir fakat örnek hacminin artmasıyla lojistik dağılımında daha küçük hata kareler ortalaması vermiştir. Güven aralık uzunluğu bakımından uç değer dağılımında daha küçük değerler olsa da beklenen LD50 değerine (7.416214) normal ve lojistik dağılımında daha yakın sonuçlar vermiştir.

4.3- Dragstedt-Behrens Yöntemine İlişkin Bulgular

Tablo 4.13, Tablo 4.14 ve Tablo 4.15’ de Dragstedt-Behrens yöntemi sonucunda, dar doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.13- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.814398	0.037030573	1.385306
15	2.800940	0.021892466	1.291923
20	2.794056	0.016411590	1.249357
25	2.793492	0.012807248	1.219393
30	2.794472	0.009785024	1.197569
40	2.786643	0.007880281	1.167767
50	2.788504	0.005741542	1.149908

Tablo 4.14- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.786569	0.037921311	1.381888
15	2.771894	0.022943441	1.294605
20	2.761983	0.016167846	1.245849
25	2.765767	0.012907719	1.215117
30	2.766903	0.010259037	1.193358
40	2.756683	0.008962155	1.162974
50	2.759228	0.006457600	1.144817

Tablo 4.15- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.804469	0.032506226	1.377323
15	2.795390	0.019571771	1.290200
20	2.789702	0.014521670	1.241359
25	2.790610	0.011190336	1.215401
30	2.793830	0.009100034	1.192852
40	2.784541	0.007020742	1.163256
50	2.787292	0.005306972	1.145037

Tablo 4.13, Tablo 4.14 ve Tablo 4.15 dikkate alındığında dar doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Dragstedt-Behrens yönteminin tüm dağılım türlerinde benzer hata kareler ortalaması ve güven aralığı uzunluğu verdiği gözlemlenmiştir. Beklenen LD50 değerine (2.786598) uç değer dağılımının küçük örnek hacimlerinde diğer dağılımların büyük örnek hacimlerinde yakınsamıştır.

Tablo 4.16, Tablo 4.17 ve Tablo 4.18' de Dragstedt-Behrens yöntemi sonucunda, geniş doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.16- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	6.236549	3.647054	2.272753
15	6.298661	2.805376	1.961609
20	6.370259	2.170413	1.803952
25	6.422386	1.757291	1.700294
30	6.414561	1.694761	1.623804
40	6.434752	1.411020	1.526183
50	6.398144	1.377633	1.461756

Tablo 4.17- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	5.392448	5.684810	2.249518
15	5.482198	4.815755	1.962651
20	5.496734	4.612924	1.796533
25	5.531648	4.244702	1.691918
30	5.553654	4.023924	1.618056
40	5.528952	4.013633	1.518307
50	5.525413	3.888343	1.455719

Tablo 4.18- Dragstedt-Behrens Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	6.223004	3.958254	2.237780
15	6.457823	2.292850	1.948071
20	6.440614	2.102993	1.782091
25	6.486992	1.734026	1.680491
30	6.515804	1.463492	1.606901
40	6.536175	1.221094	1.512251
50	6.519898	1.115198	1.449418

Tablo 4.16, Tablo 4.17 ve Tablo 4.18 dikkate alındığında geniş doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Dragstedt-Behrens yöntemi tüm dağılımlarda benzer güven aralığı uzunluğu vermiştir. Ancak normal ve lojistik dağılımda uç değer dağılımına göre daha küçük hata kareler ortalaması vermiştir ve beklenen LD50 değerine (7.416214) normal ve lojistik dağılımda daha yakın sonuçlar vermiştir.

4.4- Spearman-Kärber Yöntemine İlişkin Bulgular

Tablo 4.19, Tablo 4.20 ve Tablo 4.21’ de Spearman-Kärber yöntemi sonucunda, dar doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.19- Spearman-Kärber Yöntemi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.798785	0.034535443	1.078475
15	2.799666	0.023943042	1.053036
20	2.801743	0.018598405	1.039984
25	2.804577	0.014346571	1.032254
30	2.807457	0.011543880	1.026780
40	2.801061	0.009893434	1.020246
50	2.800589	0.007048861	1.016218

Tablo 4.20- Spearman-Kärber Yöntemi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.790305	0.034412274	1.077307
15	2.793213	0.024663066	1.052388
20	2.793440	0.017686036	1.039505
25	2.799811	0.013497189	1.032096
30	2.800669	0.011092982	1.026547
40	2.795858	0.010019614	1.020163
50	2.795907	0.006970522	1.016135

Tablo 4.21- Spearman-Kärber Yöntemi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.796842	0.033615572	1.077218
15	2.798987	0.022938743	1.052334
20	2.799885	0.018274349	1.039361
25	2.805081	0.013741280	1.031875
30	2.807384	0.011617577	1.026416
40	2.800205	0.009582428	1.019972
50	2.799475	0.006977192	1.015993

Tablo 4.19, Tablo 4.20 ve Tablo 4.21 dikkate alındığında dar doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Spearman-Kärber yönteminin tüm dağılım türlerinde benzer hata kareler ortalaması ve güven aralığı uzunluğu verdiği gözlemlenmiştir. Beklenen LD50 değerine (2.786598) uç değer dağılımında daha yakın değerler elde edilmiştir. Büyük örnek hacimlerin normal ve lojistik dağılımlarında daha küçük hata kareler ortalamasına sahiptir.

Tablo 4.22, Tablo 4.23 ve Tablo 4.24’ de Spearman-Kärber yöntemi sonucunda, geniş doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.22- Spearman-Kärber Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	5.655347	3.869713	1.212266
15	5.570186	3.926892	1.139170
20	5.561921	3.845828	1.103068
25	5.527546	3.868965	1.082159
30	5.532621	3.796299	1.068019
40	5.483798	3.927843	1.050771
50	5.456186	3.992122	1.040608

Tablo 4.23- Spearman-Kärber Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	5.097114	5.994085	1.211752
15	5.033604	6.099485	1.138766
20	5.025984	6.049953	1.102714
25	4.994544	6.108264	1.081904
30	4.997237	6.053117	1.067811
40	4.946706	6.251734	1.050581
50	4.924049	6.334665	1.040463

Tablo 4.24- Spearman-Kärber Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	5.781568	3.459836	1.209310
15	5.703596	3.464768	1.137255
20	5.693687	3.387668	1.101608
25	5.670404	3.368449	1.081015
30	5.667961	3.310124	1.067109
40	5.620203	3.422431	1.050083
50	5.598504	3.460969	1.040062

Tablo 4.22, Tablo 4.23 ve Tablo 4.24 dikkate alındığında geniş doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Spearman-Kärber yönteminin tüm dağılım türlerinde güven aralığı uzunluğu verdiği gözlemlenmiştir. Ancak hata kareler ortalaması bakımından üç değer dağılımında oldukça büyük değerler elde edilmiştir. Beklenen LD50 değerine (7.416214) normal ve lojistik dağılımda daha yakındır.

4.5- Shuster-Dietrich Yöntemine İlişkin Bulgular

Tablo 4.25, Tablo 4.26 ve Tablo 4.27' de Shuster-Dietrich yöntemi sonucunda, dar doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.25- Shuster-Dietrich Yöntemi: Dar doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.732222	0.024664649	1.260801
15	2.737304	0.019367800	1.170607
20	2.739912	0.015958303	1.171268
25	2.742053	0.012859922	1.162757
30	2.745453	0.010583081	1.131120
40	2.746521	0.009628570	1.109227
50	2.742774	0.007470251	1.104291

Tablo 4.26- Shuster-Dietrich Yöntemi: Dar doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.754521	0.023234408	1.260801
15	2.766123	0.016564961	1.170044
20	2.771867	0.012296183	1.148432
25	2.781722	0.009164385	1.150602
30	2.782312	0.007462688	1.117472
40	2.786615	0.006634506	1.109152
50	2.786599	0.004408329	1.100333

Tablo 4.27- Shuster-Dietrich Yöntemi: Dar doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	2.726527	0.026134295	1.260801
15	2.731160	0.019817112	1.169883
20	2.732310	0.016928504	1.153348
25	2.738132	0.013295075	1.172937
30	2.738793	0.011615089	1.129602
40	2.738156	0.010528215	1.108816
50	2.733946	0.008502235	1.102764

Tablo 4.25, Tablo 4.26 ve Tablo 4.27 dikkate alındığında dar doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Shuster-Dietrich yönteminin tüm dağılım türlerinde benzer güven aralığı uzunluğu verdiği gözlemlenmiştir. Hata kareler ortalaması bakımından uç değer dağılımında daha küçük değerler elde edilmiştir. Beklenen LD50 değerine (2.786598) en yakın değerler uç değer dağılımında görülmektedir.

Tablo 4.28, Tablo 4.29 ve Tablo 4.30' de Shuster-Dietrich yöntemi sonucunda, geniş doz aralıkları ve dağılım türleri kullanılarak elde edilen LD50 değerleri, hata kareler ortalaması ve güven aralık uzunlukları yer almaktadır.

Tablo 4.28- Shuster-Dietrich Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Normal dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	7.122274	4.555363	5.795700
15	7.167911	3.185545	1.772592
20	7.224470	2.481598	2.333227
25	7.296019	2.011024	3.541026
30	7.258794	1.596253	1.918950
40	7.325221	1.587531	1.648825
50	7.232003	1.036691	1.735087

Tablo 4.29- Shuster-Dietrich Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Uç değer dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	5.868911	4.358897	4.705924
15	5.871484	3.809088	1.586488
20	5.882254	3.454598	2.127431
25	5.897348	3.185779	2.277212
30	5.873533	3.082899	1.714732
40	5.880655	2.984837	1.489228
50	5.819630	2.992466	1.614428

Tablo 4.30- Shuster-Dietrich Yöntemi: Geniş doz aralığı ve Lojistik dağılım

Örnek Hacmi	LD50	HKO	%95 GAU
10	7.133609	3.8558133	5.795700
15	7.178452	2.7362779	1.543658
20	7.214737	2.1431342	2.176696
25	7.279128	1.6909810	2.934133
30	7.223401	1.2997820	1.770507
40	7.294298	1.3240860	1.551755
50	7.216901	0.8831082	1.654001

Tablo 4.25, Tablo 4.26 ve Tablo 4.27 dikkate alındığında geniş doz aralıkları kullanılarak gerçekleştirilen Shuster-Dietrich yöntemi hata kareler ortalaması bakımından lojistik dağılımda daha küçük değerler vermiştir. Ancak uç değer dağılımında daha dar güven aralığı uzunluğu verdiği gözlemlenmiştir. Beklenen LD50 değerine (7.416214) lojistik dağılımda daha yakın değerler elde edilmiştir.

4.6- Yöntemlerin Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Tablo 4.31- Dar doz aralıkları için karşılaştırma tablosu (Doz Ort.=2.786)

Örnek Hacmi	Yöntemler	Normal		Uç Değer		Lojistik	
		LD50	HKO	LD50	HKO	LD50	HKO
n=10	PA	2.792	0.03135	2.787	0.02952	2.788	0.03075
	LA	2.792	0.03223	2.774	0.03019	2.789	0.03090
	DB	2.814	0.03703	2.787	0.03792	2.804	0.03251
	SK	2.799	0.03454	2.790	0.03441	2.797	0.03362
	SD	2.732	0.02466	2.755	0.02323	2.727	0.02613
n=15	PA	2.790	0.02179	2.789	0.02105	2.788	0.02119
	LA	2.791	0.02207	2.775	0.02141	2.789	0.02106
	DB	2.801	0.02189	2.772	0.02294	2.795	0.01957
	SK	2.800	0.02394	2.793	0.02466	2.799	0.02294
	SD	2.737	0.01937	2.766	0.01656	2.731	0.01982
n=20	PA	2.791	0.01712	2.789	0.01509	2.787	0.01677
	LA	2.793	0.01742	2.774	0.01564	2.790	0.01668
	DB	2.794	0.01641	2.762	0.01617	2.790	0.01452
	SK	2.802	0.01860	2.793	0.01769	2.800	0.01827
	SD	2.740	0.01596	2.772	0.01230	2.732	0.01693
n=25	PA	2.792	0.01292	2.793	0.01140	2.790	0.01234
	LA	2.795	0.01344	2.777	0.01194	2.793	0.01255
	DB	2.793	0.01281	2.766	0.01291	2.791	0.01119
	SK	2.805	0.01435	2.800	0.01350	2.805	0.01374
	SD	2.742	0.01286	2.782	0.00916	2.738	0.01330
n=30	PA	2.794	0.01032	2.794	0.00939	2.791	0.01040
	LA	2.797	0.01072	2.779	0.00972	2.795	0.01054
	DB	2.794	0.00979	2.767	0.01026	2.794	0.00910
	SK	2.807	0.01154	2.801	0.01109	2.807	0.01162
	SD	2.745	0.01058	2.782	0.00746	2.739	0.01162
n=40	PA	2.787	0.00866	2.788	0.00817	2.784	0.00848
	LA	2.789	0.00882	2.771	0.00854	2.786	0.00840
	DB	2.787	0.00788	2.757	0.00896	2.785	0.00702
	SK	2.801	0.00989	2.796	0.01002	2.800	0.00958
	SD	2.747	0.00963	2.787	0.00663	2.738	0.01053
n=50	PA	2.786	0.00620	2.789	0.00568	2.782	0.00622
	LA	2.790	0.00647	2.772	0.00609	2.787	0.00631
	DB	2.789	0.00574	2.759	0.00646	2.787	0.00531
	SK	2.801	0.00705	2.796	0.00697	2.799	0.00698
	SD	2.743	0.00747	2.787	0.00441	2.734	0.00850

Tablo 4.32- Geniş doz aralıkları için karşılaştırma tablosu (Doz Ort.=7.416)

Örnek Hacmi	Yöntemler	Normal		Uç Değer		Lojistik	
		LD50	HKO	LD50	HKO	LD50	HKO
n=10	PA	7.480	6.49082	5.980	4.63844	7.485	5.30533
	LA	7.493	6.25508	5.984	4.66509	7.502	5.20783
	DB	6.237	3.64705	5.392	5.68481	6.223	3.95825
	SK	5.655	3.86971	5.097	5.99409	5.782	3.45984
	SD	7.122	4.55536	5.869	4.35890	7.134	3.85581
n=15	PA	7.459	4.02290	5.955	3.94463	7.460	3.39362
	LA	7.478	4.01220	5.958	3.97573	7.483	3.38656
	DB	6.299	2.80538	5.482	4.81576	6.458	2.29285
	SK	5.570	3.92689	5.034	6.09949	5.704	3.46477
	SD	7.168	3.18555	5.871	3.80909	7.178	2.73628
n=20	PA	7.488	3.01460	5.957	3.46461	7.469	2.59266
	LA	7.507	3.01337	5.959	3.49130	7.492	2.59451
	DB	6.370	2.17041	5.497	4.61292	6.441	2.10299
	SK	5.562	3.84583	5.026	6.04995	5.694	3.38767
	SD	7.224	2.48160	5.882	3.45460	7.215	2.14313
n=25	PA	7.538	2.43625	5.965	3.15302	7.515	2.03929
	LA	7.558	2.43740	5.967	3.17139	7.540	2.04783
	DB	6.422	1.75729	5.532	4.24470	6.487	1.73403
	SK	5.528	3.86897	4.995	6.10826	5.670	3.36845
	SD	7.296	2.01102	5.897	3.18578	7.279	1.69098
n=30	PA	7.486	1.88154	5.941	3.02009	7.446	1.51044
	LA	7.509	1.88878	5.945	3.02779	7.474	1.51921
	DB	6.415	1.69476	5.554	4.02392	6.516	1.46349
	SK	5.533	3.79630	4.997	6.05312	5.668	3.31012
	SD	7.259	1.59625	5.874	3.08290	7.223	1.29978
n=40	PA	7.533	1.91812	5.937	2.93649	7.492	1.55284
	LA	7.553	1.92212	5.936	2.95480	7.516	1.55801
	DB	6.435	1.41102	5.529	4.01363	6.536	1.22109
	SK	5.484	3.92784	4.947	6.25173	5.620	3.42243
	SD	7.325	1.58753	5.881	2.98484	7.294	1.32409
n=50	PA	7.419	1.17993	5.865	2.92173	7.399	0.98304
	LA	7.441	1.18625	5.866	2.93348	7.426	0.98915
	DB	6.398	1.37763	5.525	3.88834	6.520	1.11520
	SK	5.456	3.99212	4.924	6.33467	5.599	3.46097
	SD	7.232	1.03669	5.820	2.99247	7.217	0.88311

Tablo 4.31' de dar doz aralıkları kullanılarak elde edilen LD50 değerleri ve yöntemlere ait hata kareler ortalamaları yer almaktadır. Bu tablo dikkate alındığında normal dağılım türünde Probit analizinin ve Shuster-Dietrich yönteminin diğerlerine göre daha yansız sonuçlar verdiği görülmektedir. Bununla beraber örnek hacminin artmasıyla Dragstedt-Behrens yöntemi de diğerlerinden daha yansız sonuçlar vermiştir. Uç değer dağılımına bakılacak olursa Shuster-Dietrich yönteminin en küçük hata kareler ortalamasına sahip olduğu görülmüştür. Ancak doğru LD50 değerine en yakın değeri Probit analizi ve Shuster-Dietrich yöntemi vermiştir. Lojistik dağılımda ise Dragstedt-Behrens yöntemi en küçük hata kareler ortalamasına sahiptir. Ancak örnek hacminin artmasıyla Lojit analizi de daha yansız sonuçlar vermiştir.

Tablo 4.32' de geniş doz aralıkları kullanılarak elde edilen LD50 değerleri ve yöntemlere ait hata kareler ortalamaları yer almaktadır. Bu tablo dikkate alındığında normal dağılım türünde Dragstedt-Behrens ve Shuster-Dietrich yöntemlerinin diğer yöntemlerden daha yansız sonuçlar verdiği görülmektedir. Ancak beklenen LD50 değerine Shuster-Dietrich yöntem daha yakın değerler vermektedir. Uç değer dağılımına bakılacak olursa $n < 25$ durumlarında Probit analizi ve Shuster-Dietrich yöntemi, $n \geq 25$ durumlarında Probit ve Lojit analizinin daha yansız sonuçlara sahiptir. Beklenen LD50 değerine en yakın sonuçlara Lojit analizi sahiptir. Lojistik dağılımda ise $n = 10$ için Spearman-Kärber yöntemi en düşük hata kareler ortalamasına sahiptir. Ancak bunun dışında Dragstedt-Behrens ve Shuster-Dietrich yöntemleri daha yansız sonuçlar vermiştir.

Tablo 4.33- Dar doz aralıkları için etkinlik değerleri

Örnek Hacmi	Dağılım	PA-LA	PA-DB	PA-SK	PA-SD	LA-DB	LA-SK	LA-SD	DB-SK	DB-SD	SK-SD
n=10	Normal	97.270	84.661	90.764	127.129	87.038	93.312	130.698	107.209	150.162	140.065
	Uç Değer	97.781	77.848	85.789	127.077	79.615	87.736	129.961	110.201	163.237	148.127
	Lojistik	99.515	94.586	91.463	117.681	95.048	91.910	118.255	96.698	124.416	128.664
n=15	Normal	98.731	99.543	91.019	112.494	100.822	92.189	113.939	91.437	113.010	123.593
	Uç Değer	98.319	91.761	85.361	127.114	93.330	86.821	129.287	93.025	138.527	148.913
	Lojistik	100.617	108.278	92.371	106.912	107.614	91.805	106.256	85.310	98.739	115.742
n=20	Normal	98.278	104.327	92.043	107.268	106.155	93.656	109.148	88.226	102.820	116.541
	Uç Değer	96.483	93.321	85.302	122.683	96.722	88.412	127.155	91.408	131.463	143.821
	Lojistik	100.540	115.496	91.790	99.055	114.876	91.297	98.523	79.475	85.765	107.915
n=25	Normal	96.131	100.859	90.035	100.467	104.918	93.659	104.510	89.268	99.611	111.586
	Uç Değer	95.477	88.304	84.444	124.454	92.486	88.444	130.349	95.630	140.939	147.380
	Lojistik	98.327	110.277	89.811	92.782	112.154	91.339	94.361	81.441	84.135	103.308
n=30	Normal	96.269	105.414	89.428	97.543	109.500	92.894	101.323	84.835	92.533	109.074
	Uç Değer	96.605	91.520	84.671	125.871	94.737	87.647	130.295	92.516	137.534	148.660
	Lojistik	98.672	114.286	89.501	89.501	115.824	90.706	90.706	78.313	78.313	100.000
n=40	Normal	98.186	109.899	87.563	89.927	111.929	89.181	91.589	79.676	81.828	102.700
	Uç Değer	95.667	91.183	81.537	123.228	95.313	85.230	128.808	89.421	135.143	151.131
	Lojistik	100.952	120.798	88.518	80.532	119.658	87.683	79.772	73.278	66.667	90.978
n=50	Normal	95.827	108.014	87.943	82.999	112.718	91.773	86.613	81.418	76.841	94.378
	Uç Değer	93.268	87.926	81.492	128.798	94.272	87.374	138.095	92.683	146.485	158.050
	Lojistik	98.574	117.138	89.112	73.176	118.832	90.401	74.235	76.075	62.471	82.118

Yöntem isimleri kısaltılmıştır (PA-Probit Analizi, LA-Lojit Analizi, DB-Dragestedt-Behrens, SK-Spearman Kärber, SD-Shuster-Dietrich). İlk yöntem referans yöntemdir.

Tablo 4.34- Geniş doz aralıkları için etkinlik değerleri

Örnek Hacmi	Dağılım	PA-LA	PA-DB	PA-SK	PA-SD	LA-DB	LA-SK	LA-SD	DB-SK	DB-SD	SK-SD
n=10	Normal	103.769	177.975	167.734	142.488	171.511	161.642	137.313	94.246	80.061	84.949
	Uç Değer	99.429	81.594	77.384	106.413	82.062	77.828	107.025	94.840	130.419	137.514
	Lojistik	101.872	134.032	153.340	137.593	131.569	150.522	135.065	114.406	102.657	89.731
n=15	Normal	100.267	143.400	102.445	126.286	143.018	102.173	125.950	71.440	88.066	123.272
	Uç Değer	99.218	81.911	64.671	103.558	82.557	65.181	104.375	78.953	126.428	160.130
	Lojistik	100.209	148.009	97.946	124.023	147.701	97.743	123.765	66.176	83.794	126.623
n=20	Normal	100.041	138.895	78.386	121.478	138.839	78.354	121.429	56.435	87.460	154.974
	Uç Değer	99.236	75.107	57.267	100.290	75.685	57.708	101.062	76.247	133.530	175.127
	Lojistik	99.929	123.285	76.532	120.975	123.372	76.587	121.062	62.078	98.127	158.071
n=25	Normal	99.953	138.637	62.969	121.145	138.702	62.999	121.202	45.420	87.383	192.388
	Uç Değer	99.421	74.281	51.619	98.972	74.714	51.920	99.548	69.491	133.239	191.735
	Lojistik	99.583	117.604	60.541	120.598	118.097	60.794	121.103	51.479	102.546	199.201
n=30	Normal	99.617	111.021	49.562	117.873	111.448	49.753	118.326	44.642	106.171	237.826
	Uç Değer	99.746	75.053	49.893	97.963	75.245	50.020	98.212	66.477	130.524	196.345
	Lojistik	99.423	103.208	45.631	116.207	103.807	45.896	116.882	44.213	112.595	254.668
n=40	Normal	99.792	135.939	48.834	120.824	136.222	48.936	121.076	35.924	88.881	247.418
	Uç Değer	99.380	73.163	46.971	98.380	73.619	47.264	98.994	64.200	134.467	209.449
	Lojistik	99.668	127.168	45.372	117.276	127.592	45.524	117.667	35.679	92.221	258.474
n=50	Normal	99.467	85.649	29.556	113.817	86.108	29.715	114.427	34.509	132.887	385.083
	Uç Değer	99.599	75.141	46.123	97.636	75.443	46.308	98.029	61.382	129.938	211.687
	Lojistik	99.382	88.149	28.404	111.316	88.697	28.580	112.008	32.222	126.281	391.907

Yöntem isimleri kısaltılmıştır (PA-Probit Analizi, LA-Lojit Analizi, DB-Dragestedt-Behrens, SK-Spearman Kärber, SD-Shuster-Dietrich). İlk yöntem referans yöntemdir.

Tablo 4.33' de dar doz aralıklarının kullanılması sonucu yöntemlere ait hata kareler ortalaması kullanılarak hesaplanan etkinlik değerleri yer almaktadır. Bu tabloya dayanarak aşağıdaki sonuçlara ulaşabiliriz.

- Probit analizi normal ve uç değer dağılımında Lojit analizinden daha etkindir. Ancak lojistik dağılımda Lojit analizi Probit analizinden daha etkin sonuçlar vermiştir.
- $n=10$ ve $n=15$ için normal dağılımda Probit analizi Dragstedt-Behrens yönteminden daha etkindir ancak $n>15$ için Dragstedt-Behrens yöntemi daha etkin sonuçlar vermiştir.
- Lojistik dağılım için Dragstedt-Behrens yöntemi Probit analizinden daha etkindir.
- Probit analizi uç değer dağılımında Dragstedt-Behrens yönteminden daha etkin sonuçlara sahiptir.
- Tüm dağılım ve örnek hacimlerinde Probit analizi Spearman-Kärber yönteminden daha etkin olduğu görülmektedir.
- Uç değer dağılımı için Shuster-Dietrich yöntemi tüm yöntemlerden daha etkindir.
- Normal ve Lojistik dağılım için küçük örnek hacimlerinde Shuster-Dietrich yöntemi Probit analizinden daha etkin olmasına rağmen $n\geq 30$ için normal dağılımda ve $n\geq 20$ için lojistik dağılımda Probit analizi daha etkin bir yöntem olmaktadır.
- Uç değer dağılımı için Lojit yöntemi Dragstedt-Behrens yönteminden daha etkindir. Ancak diğer dağılımlarda Dragstedt-Behrens yöntemi daha etkin sonuçlar göstermiştir.
- Tüm dağılım ve örnek hacimlerinde Lojit analizi Spearman-Kärber yönteminden daha etkin olduğu görülmektedir.
- Normal ve Lojistik dağılım için küçük örnek hacimlerinde Shuster-Dietrich yöntemi Lojit analizinden daha etkin olmasına rağmen $n\geq 40$ için normal dağılımda ve $n\geq 20$ için lojistik dağılımda Lojit analizi daha etkin bir yöntem olmaktadır.
- Genel anlamda Dragstedt-Behrens ve Shuster-Dietrich yönteminin Spearman-Kärber yönteminden daha etkin olduğu görülmektedir.
- Normal ve Lojistik dağılım için küçük örnek hacimlerinde Dragstedt-Behrens yöntemi Shuster-Dietrich yönteminden daha etkin olmasına rağmen $n\geq 25$ için normal dağılımda ve $n\geq 20$ için lojistik dağılımda Dragstedt-Behrens yöntemi daha etkin bir yöntem olmaktadır.

Tablo 4.34' de geniş doz aralıklarının kullanılması sonucu yöntemlere ait hata kareler ortalaması kullanılarak hesaplanan etkinlik değerleri yer almaktadır. Bu tabloya dayanarak aşağıdaki sonuçlara ulaşabiliriz.

- Probit analizi ve Lojit analizi tüm dağılım ve örnek hacimlerinde benzer etkinlik değerlerine sahiptir.
- Parametrik yöntem olmasına rağmen uç değerlerde Probit analizi, Dragstedt-Behrens yönteminden daha etkindir. Bununla birlikte normal ve lojistik dağılımda ise Dragstedt-Behrens yöntemi daha etkindir.
- Örnek hacmi 10 olduğunda normal ve lojistik dağılımda Spearman-Kärber yöntemi Probit ve Lojit analizlerinden daha etkin olarak görülmektedir. Ancak diğer durumlarda Probit ve Lojit analizleri daha etkindir.
- Normal ve lojistik dağılımlarda Shuster-Dietrich yöntemi, Probit analizinden daha etkindir.
- Uç değer dağılımında $n < 25$ için Shuster-Dietrich, $n \geq 25$ için Probit analizi daha etkin sonuçlar içermektedir.
- Dragstedt-Behrens yöntemi lojistik dağılım türünde Lojit analizinden daha etkin sonuçlara sahiptir.
- Veri setinin uç değerler içermesi durumunda, Probit ve Lojit analizleri Spearman-Kärber yönteminden daha etkin sonuçlar göstermektedir.
- Dragstedt-Behrens yöntemi tüm dağılım türlerinde Spearman-Kärber yönteminden daha etkindir.
- Genel olarak bakılacak olursa Dragstedt-Behrens yöntemi normal dağılımlarda Shuster-Dietrich yönteminden daha etkindir ancak uç değer dağılımında Shuster-Dietrich yöntemi daha etkin olarak görülmektedir.
- Shuster-Dietrich yöntemi, örnek hacminin artmasıyla Spearman-Kärber yönteminde fark edilir düzeyde daha etkin sonuçlar vermiştir.

5- TARTIŞMA

Günümüzde Biyolojik ve klinik denemeler kapsamında üretilen ve geliştirilen ilaç, hormon, vitamin, fiziksel, kimyasal ve elektronik tedavi araçları, gıda katkı maddeleri gibi araç, gereç ve maddeler yaşamı kolaylaştırmakta ancak biyolojik, toksikolojik ve kimyasal yükün artmasına da neden olmaktadır. Bu maddeler az veya çok oranda biyolojik ve kimyasal olarak yan etki ve toksik etkiler içeren bir yapı içermektedir. Biyolojik ve farmakolojik olarak bu maddelerin etkilerini (toksik, yan etki ya da tedavi edici) bilmek ve hayatımızdaki yerlerini sınırlandırmak ya da genişletmek önem teşkil etmektedir. Her maddenin toksisite ya da etki oluşturma potansiyelleri birbirlerinden farklıdır. Toksikiteyi veya etkinliği belirleyen en temel faktör dozdur. Gerekli doz belirlenemediğinde maddeler etkisiz ya da zararlı olabilmektedir. Bundan dolayı akut toksisite ya da etkinlik birimi olan LD50/ED50 hesaplamaları yapılmaktadır (Delaunois, 1973).

Bu hesaplamalar yapılırken uygulanan doz düzeyleri, doz düzeylerinin aralıkları, elde edilen cevap değerlerinin içerdiği dağılım türü, denemeye alınan denek sayısı gibi faktörler LD50/ED50 değerinin gerçek değerden uzaklaştırmaktadır. Dolayısıyla her deneme ve veri yapısı farklı yöntemler gerektirmektedir. Bu çalışma ile hangi koşullarda hangi yöntemin en yansız sonuçları içerdiği araştırılarak literatüre katkı sağlamak hedeflenmektedir. Bu hedef doğrultusunda bazı yöntemler çalışma kapsamına alınmış bazıları dışlanmıştır. Yöntemler dışlanırken içerdikleri varsayımlar göz önünde bulundurulmuş karşılaştırmaya imkan sağlayan yöntemler çalışmaya dahil edilmiştir. Dolayısıyla diğer yöntemlerin bu çalışmada bulunmaması bir eksiklik olabilir. Ancak literatürde en bilinen parametrik ve parametrik olmayan yöntemlerin çalışmada bulunması yeterli görülmüştür (Armitage, 1950).

LD50 değerine ilişkin herhangi bir tahminleme yapılmadan önce bazı varsayımlar gerekmektedir. Bu değer hesaplanmasında grafiksel ve yarı-grafiksel yöntemler basit ve hızlı olduklarından önceleri popülerdiler ancak bugünlerde sadece son bir başvurma için kullanılmaktadırlar. Birçok aritmetik yöntemin doğası gereği yanlı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Ancak bu yöntemlerden Spearman-Kärber yöntemi kullanışlı bir olasılık olarak kalmıştır. Cevap eğrilerinin formu hakkında fazla bilgi gerektirmeyen fakat sık sık doğrulanması güç varsayımlar içeren bir yöntem olmuştur. Birçok amaca hizmet eden ve aynı zamanda cevap eğrisinin parametrik bir formülasyonunu içeren olan maksimum olabilirlik tahmin yöntemi (Probit ve Lojit) çoğu zaman en iyi seçim olagelmıştır. Hem teorik gerçekliği hem de bilgisayarlar kullanılarak kolay uygulanabilmesi bu yöntemi üstün kılmıştır (Finney, 1985).

Probit ve Lojit analizleri benzer yapıya sahiptir. Sadece farklı dağılımlara sahip fonksiyonları kullanmaktadırlar. Ancak Probit ve Lojit dışındaki yöntemlerin tümü Probit yönteminden bağımsız olarak geliştirilmiştir ve probitler ile doz arasındaki ilişki yerine ölüm yüzdesi ile doz arasındaki ilişkinin doğrusal olması varsayımına dayalıdır. Bu yöntemler yeterli olabilir, ancak doz-cevab eğrisinin eğriliği test edilen dozların aralığının fark edilir biçimde dışında kalıyorsa özellikle test edilen dozların dağılımı log(LD50) etrafında asimetric ise bu yöntemler yanlış anlaşılmaya yol açabilir (Finney, 1964).

Probit Analizi ve Lojit analizi dağılım varsayımı içermektedir. Gözlem sayısının az olması ve 3-4 farklı doz miktarı içeren denemelerde dağılım varsayımı sağlanmamakta ve elde edilen tahmin değerleri güvenilir olmamaktadır. Lojistik dağılım eğrisi durumunda varsayımlar daha gerçekçi olmaktadır. Uç değerlerin deneyde var olması durumunda Lojit analizi, Probit analizine göre daha güvenilir olmaktadır (Doğan, 2015).

Bu tez çalışmasında da Probit ve Lojit yöntemleri gözlem sayısının az olduğu durumlarda yanlış sonuçlar vermiştir. Deneme dizaynında uç değerlerin yer alması Lojit yönteminin Probit yönteminden daha dar güven aralığı uzunluğu vermesi şeklinde sonuçlanmıştır. Doz aralıkları dar olduğunda Probit ve Lojit yöntemleri 0.502587-0.2806065 değerleri arasında güven aralığı uzunluğuna sahip iken parametric olmayan yöntemlerde bu değer oldukça büyüktür.

Shuster-Dietrich yöntemi açısız dönüşüm içermektedir. Diğer eğri uydurma yöntemleri gibi sağlam bir teorik yapıya sahip değildir. Spearman-Kärber ve Reed-Muench yöntemleri herhangi bir dağılım varsayımı içermemektedir. Denemelerde logaritmik doz değerlerinin gerçek LD50 değeri etrafında simetric olmaması sonuçlarda yanlışlık olmasına yol açmaktadır. Fakat doz değerlerinin lojistik dağılıma sahip olması, her doz düzeyinde eşit sayıda denek kullanılması, doz aralıklarının eşit olması ve denemeden elde edilen sonuçların %0-100 içermesi tahminleme sonuçlarını oldukça güvenilir kılmaktadır. Bu yöntemlerden elde edilen sonuçlar benzerdir ancak denek sayısının azalmasıyla Spearman-Kärber yöntemi daha yanlış sonuçlar vermektedir (Doğan, 2015).

Doğan (2015) çalışmasında Shuster-Dietrich yönteminin sağlam bir temele dayanmadığından bahsetmiştir. Ancak bizim çalışmamızda diğer yöntemlere göre oldukça yanlış sonuçlar vermiştir. Bunun nedeni olarak doz aralıklarının eşit olması ve her denek grubundaki birim sayılarının eşit tutulması söylenebilir. Çünkü parametric olmayan yöntemlerin doz aralıkları eşit olmadığı ya da gruplardaki denek sayısının eşit olmadığı durumlarda yanlış sonuçlar verdiği bilinmektedir. Shuster-Dietrich yönteminin bu çalışmada yanlış görünmesinin nedeni bu olabilir.

Spearman-Kärber yöntemi ise bu çalışmada oldukça yanlı sonuçlar vermiştir. Bu yöntem iki varsayım içermektedir. Birincisi denemeden elde edilen sonuçların %0-100 içermesi tahminleme sonuçlarını oldukça güvenilir kılmaktadır (Finney, 1964). İkincisi ise Artışık dozlar arasındaki cevap artış hızı aralığın merkezinde yoğunlaşmalıdır (Zhou, 2010). Bu tez çalışmasında da bu yöntemle ait veriler türetilirken bu koşullar sağlanmıştır. Buna rağmen diğer yöntemlerden daha etkin değildir. Etkinlik tablolarında PA-SK, LA-SK, DB-SK ve SK-SD sütunlarına baktığımızda Spearman-Kärber yönteminin tüm yöntemlerden daha yanlı olduğu görülmektedir.

Thompson Hareketli Ortalama yöntemi bu yöntemlere göre daha kolay uygulanabilir olmasına rağmen daha yanlı sonuçlar vermektedir. Miller-Tainter yöntemi fazla denek sayısına ihtiyaç duymaktadır ve maliyeti yüksektir. Bu nedenden dolayı tercih edilmemektedir (Doğan, 2015).

Rath ve arkadaşları 2011'de yaptıkları çalışmada, bir bakteri türüne karşı böcek ilacı üzerinde toksik bir çalışmaya ait örnek bir veri seti kullanarak genel doğrusal regresyon, Spearman-Kärber ve Probit dönüşüm yöntemlerini kullanarak LD50 değerini elde etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, Spearman-Kärber yöntemi ile Probit yönteminin istatistiksel anlamda benzer sonuçlar verirken, doğrusal regresyon ile elde edilen LD50 değerinin kusurlu olduğunu bildirmişlerdir. Spearman-Kärber yöntemi yaşamsal ve ölümlülüğün log10 değerlerini içeren bir formüle sahiptir. Doz verisi log10 değerleriyle ifade edilir. Ayrıca yorucu matematiksel hesaplamalar içermektedir ve uniform doz aralıklarına ihtiyaç duymaktadır. Bu yöntem bağımlı bir LD50 elde etmek için mantıklı olabilir. Fakat Probit yönteminin istenilen standart için daha kesin ve LD50 değerlerini hesaplamada daha az yorucu olmaktadır. Ayrıca kimyasal testin doz aralığının uniform olması gibi herhangi bir ön şart olmaksızın hesaplanan LD25 ile LD75 değerleri LD50 ve minimum kısıtlayıcı konsantrasyon (minimum inhibitory concentration), en yüksek serbest konsantrasyon (highest-permissive concentration), LD100 gibi diğer istatistiklerin kesinliğini değerlendirmeye yardım etmektedir (Rath, 2011).

Bu tez çalışmasında Spearman-Kärber ve Probit yöntemleri birbirlerinden fark edilir düzeyde farklı etkinlik değerlerine sahiptir. Bunun nedeni Rath ve arkadaşlarının kullandıkları veri setinin yapısı ile ilgili olabilir.

Zhou, 2010'da yaptığı tez çalışmasında, Dragstedt-Behrens, Spearman-Kärber, Reed-Muench, Thompson Hareketli Ortalama, Shuster-Dietrich, Shuster-Yang, Maksimum Olabilirlik yöntemlerini karşılaştırmıştır. Bunların yanında Dragstedt-Behrens, Thompson Hareketli Ortalama ve Reed-Muench yöntemlerinin modifiye yöntemlerini de çalışmasına dahil etmiştir (Zhou, 2010).

Zhou çalışmasında bu yöntemleri;

- Doz aralıklarının eşit olması ve olmaması
- Her doz düzeyindeki denek sayısının farklı olması
- Normal ve Cauchy dağılım türleri

durumlarına göre değerlendirmiştir. Yaptığı simülasyon çalışması sonucunda tüm yöntemlerin eşit doz aralıklarında eşit olmayan doz aralıklarına göre daha yansız sonuçlara sahip olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Dragstedt-Behrens ve Reed-Muench yöntemlerinin modifiye edilmiş şekilleri eşit doz aralıklarında benzer olduğunu fakat eşit olmayan doz aralıklarında orijinal olan yöntemlere göre daha yansız sonuçlar verdiğini söylemiştir. Thompson Hareketli Ortalama yönteminin modifiyesi ile kendisi arasında önemli bir fark olmadığını bildirmiştir. Bunların yanında bu çalışmada, Dragstedt-Behrens yönteminde Cauchy dağılım sonuçlarının normal dağılım sonuçlarından daha yanlı olduğu görülmektedir. Spearman-Kärber yöntemi, normal dağılımda Cauchy dağılımına göre daha güvenilirdir. Shuster-Dietrich yöntemi için doz aralıkları eşit olduğunda daha küçük HKO vermiştir ve her doz düzeyindeki birim sayısının eşit olması ve olmaması durumları arasında kayda değer bir farklılık görülmemiştir. Ayrıca bu yöntemin eşit doz aralıkları durumunda oldukça uygun bir yöntemdir. Maksimum Olabilirlik yöntemi için diğer yöntemlerden daha küçük HKO değerine sahip olduğunu bildirmiştir (Zhou, 2010).

Bu çalışmadaki dar doz aralıkları ve normal dağılım senaryosu Zhou'nun çalışmasında yer alan bir senaryodur. Bu senaryo her iki çalışmada da benzer sonuçlara sahiptir. Zhou'nun çalışmasındaki sonuçlara benzer olarak; parametrik olmayan yöntemler genel olarak en yansız sonuçları normal dağılımda göstermiştir. Ancak bu durumda parametrik yöntemler zaten en kullanışlı olmuştur. Doz aralıklarının genişlemesi parametrik yöntemlerde hata kareler ortalaması ve güven aralığı uzunluğu değeri fark edilir boyutta büyütülmüştür. Bu aşamada parametrik olmayan yöntemler parametrik yöntemleri geride bırakmış ve yansız sonuçlar vermiştir.

Akhila ve arkadaşları 2007'de yaptıkları akut toksisite çalışmaları ve medyan letal dozun belirlenmesine ilişkin çalışmada Kärber, Miller-Tainter ve Lorke yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Kärber ile Miller ve Tainter yöntemlerinde kullanılan denek sayısının gerekenden fazla olması ve maliyetin yüksek olmasına rağmen sonuçların kesinliğinin hatalı olduğunu bildirmişlerdir. Lorke yönteminde ise çalışmaya dahil edilen denek sayısı ve maliyetin yeterli olması durumunda sonuçların kesinliğinde şüphe olduğunu bildirmişlerdir (Akhila, 2007).

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Probit ve Lojit analizleri doz aralıklarının dar tutulmasıyla diğer yöntemlere göre en dar güven aralığı uzunluğuna sahiplerdir. Fakat doz aralıkları genişlediğinde hem güven aralığı uzunluğu fark edilir düzeyde artmakta hem de diğer parametrik olmayan yöntemlerden daha yanlı sonuçlar vermektedirler. Ayrıca geniş doz aralıklarında parametrik olmayan yöntemlerin Probit ve Lojit yöntemlerinden daha dar güven aralığı uzunluğuna sahip olmaktadır.

Parametrik olmayan yöntemler geniş doz aralıklarında beklenen LD50 değerinden daha düşük değerler verme eğilimindedirler ancak Shuster-Dietrich yöntemi normal ve lojistik dağılımda beklenen değere oldukça yakın değerler vermiştir. Ayrıca dar doz aralıklarında veri setinin uç değer içermesi durumunda en küçük hata kareler ortalamasına sahip olan yöntem olmuştur. Bu bakımdan Shuster-Dietrich yöntemi parametrik olmayan yöntemler arasında daha yansız sonuçlar göstermiştir.

Doz aralıklarının dar olması durumunda, Dragstedt-Behrens ve Spearman-Kärber yöntemleri parametrik yöntem olmamasına rağmen uç değer dağılımında parametrik yöntemlerden daha yanlı sonuçlar göstermiştir. Bu koşullarda en yansız sonuçlar Shuster-Dietrich yöntemine aittir.

Normal ve Lojistik dağılım türlerinde doz aralıkları genişlediğinde parametrik yöntemler tüm yöntemlere göre daha yanlı olmaktadır. Bu durumda parametrik olmayan yöntemlerden Dragstedt-Behrens ve Shuster-Dietrich yöntemi daha etkin olmaktadır.

Bu tez çalışmasıyla elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, doz aralıklarının dar tutulduğu durumlarda normal ve lojistik dağılımlarda parametrik yöntemler (Probit ve Lojit) önerilmektedir. Ancak bu dağılım türleri için doz aralıkları genişlediğinde parametrik yöntemler etkinliğini kaybetmekte ve Dragstedt-Behrens ile Shuster-Dietrich yöntemleri kullanımı daha uygun hale dönüşmektedir. Uç değer dağılımı için hem dar doz hem de geniş doz aralıklarında parametrik yöntemler kullanılması daha uygundur.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agresti, A. (2002). *Categorical Data Analysis (Second Edition)*, John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
- Akhila, JS., Shyamjith, Deepa and M.C. Alwar (2007). Acute toxicity studies and determination of median lethal dose. *Current Science*, 93(7):917-920.
- Alp, A. (2007). *İstatistiksel Çalışmalarda Probit Analizi ve Uygulama Alanları*, Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- Armitage, P., Allen, I. (1950). *Methods of estimating the LD50 in quantal response data*, School of Hygiene and Tropical Medicine, London, 48(3):298-322.
- Armitage, P., Berry, G., Matthews, J.N.S. (2002). *Statistical Methods in Medical Research (Four Edition)*, Blackwell Science, London.
- Batson, H.C. (1962). *Bioassay: The quantal response assay*, Proceedings of the Eighth Conference on the Design of Experiments in Army Research Development and Testing, Defense Technical Information Center Compilation Part, Notice ADP014630 551-76. Chicago.
- Chow, S.C., Liu J.P., (2004). *Design and Analysis of Clinical Trials (Second Edition)*, John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
- Delaunois, A. L. (1973). *Biostatistics in Pharmacology*, Pergamon Press, Oxford–New York–Toronto–Sydney–Braunschweig.
- Doğan, İ., Doğan, N. (2015). *İki Sonuçlu Biyolojik Denemelerde LD50 Değerinin Tahmininde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler*, Türkiye Klinikleri. 7(1):39-46.
- Finney, D.J. (1964). *Probit Analysis (2rd edition)*. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Finney, D.J. (1985). *The Median Lethal Dose and Its Estimation*. *Arch Toxicol*, 56:215-218.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Govindarajulu, Z. (2000). *Statistical Techniques in Bioassay* (2nd. Edt.), Karger, Berlin.
- Gürsakar, N. (2014). *İstatistikte R ile Programlama* (1. Baskı), Dora Basım-Yayın Dağıtım, Bursa.
- Huang, Y. (2000). *Interval estimation of the ED50 when a logistic dose-response curve is incorrectly assumed*, *Computational Statistics & Data Analysis*, 36(525-537), UK.
- Morgan, B.J.T. (1992). *Analysis of Quantal Response Data* (First edition), Thomson Press, New Delhi, India.
- Özdamar, K. (2012). *Biyolojik Denemelerin Analizinde Probit ve Lojit Analizlerinin Kullanılması*, *Gezinti İstatistik Dergisi*, 2(8):12-17.
- Özdamar, K. (2013). *SPSS ile Biyoistatistik* (9. Baskı), Nisan Kitabevi, Eskişehir.
- Özdamar, K. (2014). *Biyolojik denemelerin değerlendirilmesi* (ders notları), ESOGÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoistatistik AD., Eskişehir.
- Rath, S., Sahu M.C., Dubey, D., Debata N.K., Padhy, R.N. (2011). *Which Value should be Used as the Lethal Concentration 50 (LC50) with Bacteria?*. *Interdiscip Sci Comput Life Sci*, 3:138-143.
- Saha, G.M. (2002). *Design and Analysis for Bioassays*, Indian Statistical Institute, 25(29):61-76, Kolkata, India.
- Sakal, M. (2014). *Lojistik ve Probit Modelleri için Kullanılan Uyum Kriterlerinin İncelenmesi ve Simülasyonla Karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Sanathanan, L.P., Gade, E.T., Shipkowitz, N.L. (1987). *Trimmed Logit Method for Estimating the ED50 in Quantal Bioassay*, *Biometrics*, 43(825-832), U.S.A.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Trevan, J.W. (1927). The error of determination of toxicity. Proceedings of the Royal Society B, 101(712):483-514.

Walck, C. (2007). Handbook on statistical distributions for experimentalists.

Zhou, T. (2010). Numerical Comparisons of Bioassay Methods in Estimating LC50, Master of Science, Kansas State University, Manhattan.

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı :Merve SEVİNÇ
Doğum tarihi ve yeri :13.04.1992 / Akdağmadeni
Uyruğu :T.C.
Medeni durumu :Bekar
İletişim adresleri :mervesevinc@ogu.edu.tr

Eğitim Durumu

Sakarya İlköğretim Okulu

Etimesgut Lisesi (2006-2009)

Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Matematik Bölümü
(2009-2013)

ESOGÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyoistatistik Anabilim Dalı Bilimsel
Hazırlık Programı (2014-2015)

ESOGÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyoistatistik Anabilim Dalı Yüksek
Lisans Programı (2015-)

Mesleki Deneyim : Araştırma Görevlisi (2014-)

Bilimsel Etkinlikler

Kurslar ve Eğitim Programları :

- Bilgisayar Uygulamalı Yapısal Eşitlik Modelleri (Structural Equation Modelling (SEM)), 26-28 Ağustos, 2014, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Bilgisayar Uygulamalı Yapısal Eşitlik Modelleri Kursu 18-20 Şubat, 2015, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı.
- Statistical Methods for Meta-Analysis, 25-26 Mayıs, 2015, Aydın.