Parametrik Olmayan Çok Değişkenli Varyans Analizi ve Sağlık Alanında Bir Uygulaması

Özge PASİN, Handan ANKARALI, Şengül CANGÜR, Mehmet Ali SUNGUR

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye
ozgepasin90@yahoo.com.tr, handanankarali@duzce.edu.tr, sengulcangur@duzce.edu.tr, mehmetalisungur@duzce.edu.tr
(Geliş/Received: 06.02.2015; Kabul/Accepted: 08.12.2015)
DOI: 10.17671/btd.47787

***Özet*—**Sağlık araştırmalarında, etkenlerin genellikle birbirleriyle ilişkili birden fazla sonucu olabilir. Bu ilişkili sonuçları ayrı analiz etmek 1.Tip hatanın artmasına neden olur. Ancak pratik uygulamalarda veri analizinde sıklıkla bu hata yapılmakta, daha basit, kolay yorumlanabilen tek değişkenli analiz yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Ayrıca sağlık araştırmalarındaki özelliklerin önemli bir bölümü tek değişkenli parametrik modellerin varsayımlarından olan normal dağılım ve varyansların homojenlik ön şartlarını sağlamamaktadır. Dolayısıyla söz konusu araştırmaların daha doğru ve güvenilir sonuç üretmesi için yeni yaklaşım ve yöntemlerin tanıtılması ve uygulanması zorunlu hale gelmektedir. Bu amaçla, ölçülen özellikler arasındaki ilişkileri göz önüne alan ve varsayımları az olan parametrik olmayan MANOVA (PERMANOVA, Permutational Multivariate Analysis of Variance) modelinin teorik özellikleri tanıtılmış, klinik araştırmadan elde edilen bir veri setine uygulanarak sonuçlar tartışılmıştır. Çalışma sonucunda Hashimato hastalığı varlığı ve cinsiyet ile lipid profili değerleri arasındaki ilişkiler incelenmiş, Hashimato olanlarda lipid değerlerinin cinsiyete göre değişmemekle birlikte sağlıklı bireylerden anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak,tabiatta veya insan vücudunda birçok özellik birbirini etkileyen ilişkileri birlikte dikkate alarak biyolojik yapıları gerçeğe daha yakın inceleyebilmek için ön koşulları fazla olmayan esnek istatistik modellere ihtiyaç duyulur. Bu sorunlara çözüm olarak günümüzde henüz uygulaması yaygınlaşmamış olan PERMANOVA modelinin kullanılmasını önerilmektedir.

***Anahtar Kelimeler*—**PERMANOVA; permütasyon; yapay F değeri; MANOVA

An Application Of Non-Parametric Factorial Manova In Health Researches

Abstract—In health research, factors can have effects on multiple correlated outcomes. Analyzing these related outcomes separately can cause an increase in type I error. However in practical applications, this error is made frequently by using univariate analyses. In addition a majority of variables used in studies do not exhibit normal distributions or homogeneity of variance. So introduction and application of new approaches,which provide more accurate and more reliable results, becomes necessary.For this purpose, it was introduced the theoretical properties of PERMANOVA which is a non- parametric method and have a few assumptions, was discussed the results that obtained from a clinical research data set.As a result of our study, there was no significant interaction between disease group and gender, but the lipid values in Hashimato patients are significantly higher than in healthy individuals for both genderConsequently, In generalmany features interacts each other in human body. For examined the biological structures much closer, there is needed more flexible statistics model that have not more preconditions.As a solution to these problems, we recommend to use PERMANOVA models.

***Key Words*—**PERMANOVA; permutation; Pseudo F; MANOVA

*24-28 Ağustos 2014 tarihleri arasında Viyana'da düzenlenen Uluslararası Klinik Biyoistatistik Topluluğu konferansında çalışmanın kısa formu (ISCB) sunulmuştur.

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Çok değişkenli varyans analizi, sağlık alanında yapılan araştırmalarda özellikle son yıllarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Birçok özelliğin birbirini etkilediği sağlık çalışmalarında, bir etkenin birden fazla sonucu ortaya çıkabilir. Mesela obezite çok sayıda sağlık problemini beraberinde getirebilir veya vitamin B12 eksikliği kansızlık ve hafıza ile ilgili birçok durumu etkileyebilir. Bilindiği üzere tek değişkenli analizlerde bir sonucun bir veya daha fazla nedeni üzerinde durulurken, çok değişkenli analizlerde birden çok sonucun bir veya daha fazla etken tarafından nasıl etkilendiği araştırılır. Çok değişkenli analizlerde sonuç olarak dikkate alınan özelliklerin birbirleriyle de ilişkileri vardır. Bu ilişkiler göz ardı edilerek her bir sonucun tek değişkenli analizlerle değerlendirilmesi 1. Tip hata yapma olasılığını artırır. Dolayısıyla bu tip araştırmalarda yani etkenlerin birden fazla ilişkili sonuçlarının olduğu çalışmalarda güvenilir sonuçlar üreten çok değişkenli varyans analizi yönteminin (Multivariate Analysis of Variance, MANOVA) kullanılması gerekmektedir.

Parametrik MANOVA, ANOVA modellerinin genelleştirilmiş halidir. Modelde yer alan sonuç değişkenlerinin çok değişkenli normal dağılım ve kovaryans matrislerinin homojenliği gibi bazı varsayımları sağlaması gerekmektedir. Verinin çok değişkenli normal dağılımdan gelmesi varsayımı sağlık alanı araştırmalarında sıklıkla karşılaşılabilecek bir durum değildir. Sağlık alanında, doğası gereği normal dağılmayan değişkenlerin varlığı ve bazı değişkenlerin genellikle sıfır değerini alması vb. nedenlerden dolayı normallik varsayımı sağlanmaz. MANOVA test istatistikleri normallikten sapmalara karşı dayanıklı (robust) değildir[1-4].

MANOVA'da kullanılan test istatistiklerinin birçoğu değişken sayısı örneklem sayısından daha fazla olduğu koşullarda hesaplanamamaktadır ki bu durum ile sağlık alanı araştırmalarında bazı hastalıklarda vaka sayılarının az olması sebebiyle sıklıkla karşılaşılmaktadır. Dolayısıyla parametrik olan bu yöntemlerin kullanım alanı oldukça sınırlıdır. Parametrik testlerin varsayımları sağlanmadığında ise daha önceden de bilindiği gibi varsayımları daha az olan parametrik olmayan testler kullanılmaktadır. Birçok araştırmada varsayımların sağlanmaması ve koşulların uygun olmaması sebebi ile parametrik olmayan testlere başvurulmuştur. İşte bu noktada PERMANOVA devreye girmektedir.

Parametrik olmayan yöntemlerin birçoğu çok değişkenli gözlemlerin uzaklıklarının veya benzemezliklerinin ölçüsüne veya ranklarına dayanmaktadır. Aynı grupta yer alan gözlemlerin uzaklıklarını farklı gruptakilerin uzaklıkları ile karşılaştırmak için testler oluşturulmuştur ve bu parametrik olmayan yöntemler gruplar arasında farklılığın olmadığı hipotezi altında olasılık elde edebilmek için gözlemlerin permütasyonunu kullanmaktadır[1].

MANOVA yönteminin varsayımlarının sağlanmaması durumunda ise parametrik olmayan çok değişkenli varyans analizi olan PERMANOVA (Permutational Multivariate Analysis of Variance) kullanılmaktadır. PERMANOVA, değişken veya örneklem çiftleri arasındaki uzaklık veya benzerlik ölçülerinden yararlanmaktadır. Yöntemin en önemli özelliği noktalar arasındaki uzaklıkların kareler toplamını ve merkezlerinin nokta sayısına bölünen ara noktaların uzaklıklarının kareler toplamına eşit olmasıdır. PERMANOVA yapay (Pseudo) F test istatistiğini kullanır ve *p* değerini hesaplarken permütasyon tekniklerini kullanmaktadır. Bu sebeple bu yöntem herhangi bir dağılım varsayımı gerektirmemektedir. Tüm dağılım şekillerinde kullanılabilmektedir. Uygulanacak permütasyon tekniği ise çalışmanın amacına göre değişmektedir. PERMANOVA sonuç (bağımlı) değişkenler arasındaki korelasyonlara karşı duyarsızdır. Ayrıca bu yöntemde değişken sayısı örneklem sayısından fazla olabilir ki bu duruma ekoloji ve sağlık alanındaki çalışmalarda sıklıkla karşılaşılmaktadır [1].

Çevre bilimcilerin topluluklar üzerinde deneysel faktörlerin etkileri ile ilgili hipotezleri test etmek istemesinden dolayı ekoloji ve genetik alanlarında PERMANOVA modelinin kullanımı diğer alanlara göre daha yaygındır. Ekoloji çalışmalarının çoğunda etkenlerin birbirleriyle ilişkili birden fazla sonucu olabilmektedir. Bu tip araştırmalarda parametrik testlerin varsayımlarının sağlanıp sağlanmadığı üzerinde çok durulmadan MANOVA modellerinin de yaygın kullanıldığı görülmektedir. Ekoloji araştırmalarında verinin çok değişkenli normal dağılım göstermesi gerçekçi bir durum değildir. Ayrıca bu tip araştırmalarda değişkenler genellikle sürekli değerlerden ziyade kesikli değerler almaktadır ve asimetrik dağılıma sahip değişkenler içermektedir. Bunun yanı sıra bazı çalışmalarda veri setinde birçok sıfır değer olmasından dolayı kullanılmaması gerektiği halde parametrik olan testlerden yararlanıldığı görülmektedir.

ANOVA ve MANOVA'da olduğu gibi PERMANOVA yönteminde de gruplar arası değişkenliğe karşı grup içi değişkenlik karşılaştırılır. Ayrıca bu analiz yönteminde deney tasarımı için herhangi bir sınırlama yoktur. Çalışma çaprazlama, iç içe geçmiş veya karışık bir deney tasarımını da içerebilir. Bu da yöntemin avantajları arasında yer almaktadır.

Yapılan bu çalışmada ise MANOVA'nın varsayımlarının sağlanmaması sebebiyle parametrik olmayan çok değişkenli varyans analizinin kullanımı ve teorik özellikleri tanıtılmıştır. Birçok araştırmada MANOVA'daki varsayımların sağlanmaması sebebiyle kullanılan,daha önceki yöntemlere göre avantajlı olan, herhangi bir benzerlik/benzememezlik ölçüsüne dayanan ve çok faktörlü ANOVA modelinde bireyler arasındaki farklıkları ayırabilen PERMANOVA yöntemine değinilmiş ve sağlık alanında bir uygulama üzerinde sonuçlar tartışılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER (MATERIALS AND METHODS)

Tek yönlü MANOVA birden fazla bağımlı değişkene tek bir bağımsız değişkenin etki ettiği durumlarda kullanılmaktadır. Yokluk hipotezinde bağımsız değişkenin gruplarına göre ortalama vektörlerinin (μ_1, μ_2,…,μ_a) farklı olmadığı varsayılırken, alternatif hipotez en az iki grubun ortalama vektörünün anlamlı düzeyde farklı olduğu şeklinde kurulur. Bu hipotezler aşağıdaki gibi formüle edilebilir.

H_0: $\mu_1 = \mu_2 = \ldots = \mu_a$

H_1: En az biri $\mu_i \neq \mu_j$

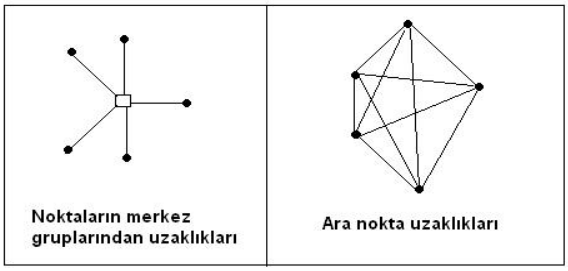
Bağımlı değişken sayısı birden fazla ve bağımsız değişken sayısı ikiden fazla olduğunda ise iki yönlü MANOVA kullanılır. İkiden fazla bağımsız değişken olduğunda ise Faktöriyel MANOVA modellerinden yararlanılmaktadır. MANOVA'nın kullanılabilmesi için çok değişkenli normallik, uç değerler, doğrusallık, çoklu doğrusal bağıntı ve tekillik, varyans-kovaryans matrisinin homojenliği varsayımlarının sağlanması gerekir.

Ancak çoğu koşulda özellikle sağlık alanında bu varsayımları sağlayacak veri ile karşılaşma ihtimali çok düşüktür. Dolayısıyla varsayımlar sağlanmadığı durumlarda alternatif olarak kullanılan ve parametrik olmayan bir test olan PERMANOVA yöntemi tercih edilmektedir.

MANOVA ve PERMANOVA arasındaki farklılıklar değerlendirildiğinde; MANOVA normallik varsayımı gerektirirken, PERMANOVA dağılım hakkında herhangi bir varsayım gerektirmemektedir. MANOVA'da tüm grupların varyansları eşit iken PERMANOVA'da gruplar arasındaki varyans değişebilir (ancak bu özelliğe oldukça duyarlıdır). MANOVA sonuç değişkenleri arasındaki korelasyonlara hassas iken PERMANOVA bu korelasyonlara karşı hassas değildir. MANOVA örneklemdeki birim sayısının değişken sayısından daha fazla olması şartını gerektirirken, PERMANOVA'da böyle bir kısıtlılık yoktur. Yani değişken sayısı örneklemdeki birim sayısından daha fazla olabilmektedir. MANOVA gözlemlerin sıfır değer alması durumuna karşı aşırı derecede hassas iken PERMANOVA bu duruma karşı hassas ve duyarlı değildir [1].

2.1.PERMANOVA Varsayımları (PERMANOVA's Assumptions)

PERMANOVA modelinde, noktalar arasındaki uzaklıkların kareler toplamını ve merkezlerinin nokta sayısına bölünen ara noktaların uzaklıklarının kareler toplamına eşit olması koşulu aranmaktadır. Bu önemli ilişkiler Şekil 1'de gösterilmiştir [1].



Şekil 1. İki grup için MANOVA'nın geometrik gösterimi[1]
(MANOVA's geometric representation for two groups)

Testin tek gerektirdiği varsayım, gözlemlerin (orijinal veri matrisindeki satırlar) bağımsız olduğunu ve dağılımlarının benzer olduğunu varsaymaktır. Bunun dışında testin herhangi bir varsayımı yoktur. Testin varsayımlarının az olması PERMANOVA yönteminin kullanım alanlarını da artırmaktadır. Bilindiği üzere varsayımları çok fazla olan testlerin uygulanması ve gerçek hayatta özellikle sağlık alanında bu varsayımların sağlanması oldukça güçtür. Bunun yanı sıra PERMANOVA modeli çapraz, iç içe geçmiş veya karışık deneme düzenlerinde de kullanılabilmektedir [5,6].

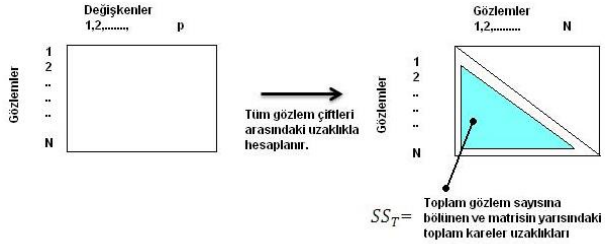
Basit (tek yönlü) PERMANOVA modelinde a tane grup ve her bir grupta n tane gözlem olduğu kabul edilirse denemedeki toplam gözlem sayısı $N=an$'dir. i ve j. bireylerden elde edilen gözlemler arasındaki uzaklık d_{ij} olmak üzere genel kareler toplamı ve grup içi kareler toplamları Tablo 1'deki eşitlikler yardımıyla elde edilmektedir.

Tablo 1.Tek yönlü PERMANOVA yöntemi için varyans tablosu
(Variance table for one way PERMANOVA method)

Değişim Kaynağı	**Kareler Toplamı**	**Serbestlik Derecesi**
Genel	$SS_T=\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{j=i+1}^{N} d_{ij}^2$	N-1
Grup içi	$SS_W=\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{j=i+1}^{N} d_{ij}^2\,\varepsilon_{ij}$	$N-a$
Gruplar arası	$SS_A=SS_T-SS_W$	a-1

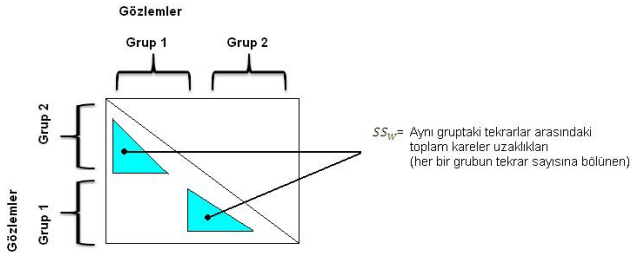
(SS: Sum of Squares- Kareler Toplamı)

Genel kareler toplamı hesaplanırken uzaklık matrisinin alt köşegenine ait uzaklıkların kareleri toplanır ve N'ye bölünür. Bu işlemler Şekil 2'deki gibi gösterilebilir [1].



Şekil 2. Genel kareler toplamının şekilsel gösterimi[1]
(Figural representation of the total general squares)

Grup içi kareler toplamının hesaplanabilmesi için ε_{ij}, terimi dikkate alınmalıdır.Burada ε_{ij},i ve j gözlemleri aynı grupta ise 1, farklı gruplarda ise 0 değerini alan bir katsayıdır. Bu katsayıyaaynı grupta yer alan gözlemler arasındaki uzaklıkların kareleri eklenir. Eşit örnek hacmi içeren iki grup için bu formül Şekil 3'teki gibi gösterilebilir [1].



*Şekil 3.*Grup içi kareler toplamının şekilsel gösterimi[1]
(Figural representation of the sum of squares within groups)

Gruplar arasındaki farlılıklar için kareler toplamı ise genel kareler toplamından grup içi kareler toplamı çıkarılarak kolayca elde edilebilir.F değeri hesaplanırken gruplar arası serbestlik derecesi *a-1*, grup içi serbestlik derecesi olarak ise *N-a* alınmalıdır. F değeri ne kadar büyük ise grupların ortalama vektörleri arasında farklılığın olmadığına dair kurulan yokluk hipotezini red etme olasılığı artar. Ancak hesaplanan bu yapay F test istatistiği, Fisher'in F dağılımına uygunluk göstermediği için p değerinin elde edilmesi için bilinen F tablosu kullanılmaz. BuPERMANOVA yöntemini diğer yöntemden ayıran en önemli özelliktir. Yöntemde klasik F tablosu kullanılamamakta, bu yüzden de hesaplanacak 1. Tip hata olasılığı yani p değerlerinin elde edilebilmesi için permütasyon yöntemlerinden yararlanılmaktadır [1,7,8].Permüstasyon yoluyla F değerinin hesaplanabilmesi için kurulan yokluk hipotezinin doğru olduğu varsayılmaktadır.Eğer gruplar arasında bir farklılık yok ise gözlemler gruplara rasgele olarak atanabilmektedir. Bu durumda çok değişkenli gözlemler (satırlar) farklı gruplar arasında değiştirilebilir.Gözlemler her adımda rasgele karıştırılarak belirli bir gruba ait olarak tanımlanır (permuted) ve yeni bir F değeri elde edilir ki bu F değeri F^{π} olarak gösterilir. Bu rasgele karıştırılan ve yeniden hesaplanan F^{π} değeri tüm olası etiketlerle ilişkili satırların yeniden düzenlenmiş durumları için hesaplanır.a tane grup ve her grupta n tekrar ile tek yönlü bir testte F^{π}istatistiğinin ayrı olası sonuçlarının sayısı $(an)!/(a!\,(n!)^{a})$ kadardır [1,9]. Yokluk hipotezinin doğruluğu altında etiketlerin permütasyonları sonucunda hesaplanan F değerlerinin dağılımı, orijinal satırlarından elde edilen F değeri ile karşılaştırılarak p değeri aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanır [1,7,8].

$$p = \frac{(Her\ bir\ F^{\pi} \geq F\ koşulunun\ sağlanma\ sayısı)}{(Toplam\ F^{\pi'}lerin\ sayısı)}$$

Buradaki F değeri permütasyonlar sonucunda elde edilen F^{π} dağılımının bir üyesidir [1,9,10]Tüm bu olası permütasyonları hesaplamak çok zaman aldığından, pratikte tercih edilmeyebilir. Bu sebeple p değeri olası permütasyonların rasgele seçilmiş geniş bir alt seti kullanılarak da hesaplanabilmektedir [1,11]. Ancak permütasyon sayısı arttıkça p değerlerinin duyarlılığının da arttığı unutulmamalıdır. Genellikle α=0,05 anlamlılık düzeyinde permütasyon sayısı en az 1000, α=0,01 anlamlılık düzeyinde ise en az 5000 olarak belirlenmelidir [1,8].

PERMANOVA yönteminde kullanılabilecek satır veri, indirgenmiş model artıkları, tam model artıkları olmak üzere üç farklı permütasyon yöntemi vardır. Kullanım amaçlarına, örneklem hacmine ve veri setine bağlı olarak yöntemlerin avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Bu permütasyon yöntemlerinin açıklamaları aşağıda sırasıyla verilmektedir.

I. *Satır veri:* Bu yöntem karmaşık ANOVA tasarımları için iyi bir yaklaşımdır. Manly (1997) tarafından önerilmiştir. Tip 1hata, α değerine yakın olur. Yöntemde büyük bir örnek hacmine gerek yoktur ancak büyük örnek hacimlerinde daha ölçülü sonuçlar vermektedir [11].
II. *İndirgenmiş model artıkları:* Karmaşık veri setleri için en iyi gücü ve en kesin 1. Tip hatayı verir. Bu yöntemde sonuçlar kavramsal kesin bir teste yakın olur [11-13].
III. *Tam model artıkları:*Bu yöntem Braak (1992) tarafından önerilmiştir. Yöntemde,her bir gözlem değeri karşılık geldiği hücre ortalamasından çıkarılarak tam modelin artık değerleri elde edilir. Bu artıklar her bir tekrar için ilişkili olan hataları tahmin eder. Bunlar daha sonra permütasyonlanır ve permütasyon altında test istatistiği yeniden sadece hatalar için hesaplanır [8-13].

II ve III nolu permütasyon yöntemlerinde ortalamalardan gözlemler çıkartılarak ve ortalamalar tahmin edilerek elde edilen artıklar gereklidir. Örnek hacmi küçük olduğunda bu tahminler çok iyi değildir bu yüzden permütasyon yaparak hesaplanan artıklar gerçek hatalara yakın olmaz. Dolayısıyla I. permütasyon yöntemi çok küçük örnek hacimlerinde bile önerilmektedir. Şu da belirtilmelidir ki daha az güçlü olmak, yöntem I'in yöntem II ve III'e göre daha küçük bir p değeri verdiği anlamına gelmez. Bazı tekrarlı simülasyon denemelerinde yöntem I'e ait ampirik güç değerinin, diğer iki yöntemden daha düşük çıktığı gözlenmiştir [8,11-14].

2.2. PERMANOVA Yönteminde Kullanılan Uzaklık Katsayıları (The Distance Coefficients Used In PERMANOVA Method)

PERMANOVA modelinde metrik ve yarı metrik uzaklık ölçüleri kullanılmaktadır. Bu uzaklık ölçülerinin özellikleri aşağıda verilmiştir. PERMANOVA modelinde kullanılabilecek metrik uzaklık ölçüleri Öklid, Manhattan, Minkowski iken yarı metrik uzaklık ölçüleri ki-kare, Bray Curtis, Jaccard'tır. Bu temel uzaklık ölçüleri ile ilgili daha detaylı açıklamalar Tablo 2'de yer almaktadır.

1. *Metrik uzaklık özellikleri*
   i ve *j* herhangi iki nokta olmak üzere,
   - Eğer *i*=*j* ise o zaman*i* ve *j* arasındaki uzaklığı gösteren$D_{(i,j)}$=0'dır.
   - Her zaman pozitiftir (eğer*i*≠*j*ise $D_{(i,j)}$>0'dır).
   - Simetriktir ($D_{(i,j)} = D_{(j,i)}$).
   - Üçgen eşitsizliği kuralı vardır.
2. *Yarı metrik (yapay metrik) uzaklık özellikleri*
   - Eğer *i*=*j*ise $D_{(i,j)}$=0'dır.
   - Her zaman pozitiftir (eğer $i \neq j$ ise $D_{(i,j)}$>0'dır).
   - Simetriktir ($D_{(i,j)} = D_{(j,i)}$).

Tablo 2. Uzaklık ölçülerinin türleri ve tanımları
(Types and definitions of distance measures)

Uzaklık türü	Tanım
Öklid (Metrik)	Bu uzaklık iki grup arasındaki benzerliklerin ölçüsüdür. Bu ölçümün herhangi bir üst limiti yoktur. Tanımlayıcı sayısı arttıkça bu değer sonsuza kadar artmaktadır. Doğru standardizasyon olmazsa bu uzaklık ölçüsü önerilmemektedir.
City Block veya Manhattan (Metrik)	Öklid uzaklığına benzer özellikleri vardır ve büyük değerli değişkenler tarafından yönlendirilebilmektedir. Öklid uzaklığında olduğu gibi bu uzaklık ölçüsünde de uygun standardizasyon yöntemleri kullanılmalıdır.
Minkowski (Metrik)	Öklid ve City block ölçüleri bu metrik ölçüsünün bir versiyonudur. Değişik sayıda veri seti içeren değişkenlerin benzerliklerini karşılaştırmak için kullanışlı bir ölçüdür.
Ki-kare (Yarı metrik)	Bu uzaklık ölçüsü bir benzerlik ölçüsüdür. Değişken tipi sadece sayılabilir (count) olduğunda kullanılır.
Bray Curtis (Yarı metrik)	Manhattan uzaklık ölçüsünün modifiye edilmiş halidir. Bazı kaynaklarda yüzde benzerliği olarak da bilinir. Bu uzaklık ölçüsü değişkenlerde yer alan sıfır değerlerini göz ardı etmektedir.
Jaccard (Metrik)	Bray Curtis uzaklığının modifiye edilmiş bir şeklidir. Formülden de anlaşılacağı gibi bu uzaklık ölçüsünde bir değerini alan değişken değeri sıfır değerini alan değişkene göre daha bilgilendiricidir. Katsayı değişkenlerin varlığı-yokluğuna dayalı ikili bir asimetrik katsayıdır.

2.3. İki Faktörlü Faktöriyel Düzenler için PERMANOVA Yönteminde Test İstatistiğini Hesaplama (Calculation of Test Statistic for Factorial Designs with Two Factor in PERMANOVA Method)

Test istatistiğinin hesaplanabilmesi için öncelikle faktörlerin seviyelerinin tanımlanması gerekmektedir. Bunun için iki faktörlü bir tasarım ele alındığı düşünülsün. *a* tane seviyesi olan birinci faktör *A* (işlemler veya gruplar) olarak adlandırılsın. Benzer şekilde *b* tane seviyesi olan ikinci faktör ise *B* olarak adlandırılsın ve her iki faktörün her bir *ab* kombinasyonunda *n* tekrar yapılsın. Burada toplam gözlemlerin sayısı *N*=*abn* olacaktır. *B* faktörü göz ardı edildiğinde *A* ve benzer şekilde *A* faktörü göz ardı edildiğinde *B* faktörleri için grup içi kareler toplamı Tablo 3'teki formüller yardımıyla hesaplanabilmektedir [1].

Tablo 3.İki faktörlü faktöriyel düzenler için PERMANOVA yöntemi varyans tablosu
(Variance table for factorial designs with two factors in PERMANOVA method)

Değişim Kaynağı	Kareler Toplamı
A (*B* faktörü göz ardı edildiğinde)	$SS_{W(A)}=\frac{1}{bn}\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{j=i+1}^{N} d_{ij}^2\,\varepsilon_{ij}^{(A)}$
B (*A* faktörü göz ardı edildiğinde)	$SS_{W(B)}=\frac{1}{an}\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{j=i+1}^{N} d_{ij}^2\,\varepsilon_{ij}^{(B)}$
A	$SS_A=SS_T - SS_{W(A)}$
B	$SS_B=SS_T - SS_{W(B)}$
AB	$SS_{AB}=SS_T - SS_A - SS_B - SS_R$
Artık	$SS_R=\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{j=i+1}^{N} d_{ij}^2\varepsilon_{ij}^{(AB)}$

SS=Kareler toplamı (Sum of squares)

Yukarıdaki formülde yer alan $\varepsilon_{ij}^{(A)}$ve $\varepsilon_{ij}^{(B)}$ terimleri*i* ve *j* gözlemleri sırasıyla *A*ve *B* faktörlerinin aynı grubunda yer alıyorsa "1" almıyorsa "0" değerini almaktadır. $\varepsilon_{ij}^{(AB)}$terimi ise *i* ve *j* gözlemleri *A* ve *B* faktörlerinin aynı kombinasyonunda yer aldığında 1 değerini aksi takdirde 0 değerini almaktadır.Analizdeki her bir ana etki için karşılık gelen kareler toplamı *A*, *B* faktörleri için SS_Ave SS_B olarak gösterilmektedir.Artık kareler toplamı, *A* ve *B* faktörünün her bir *ab* kombinasyonları içinde ara nokta(interpoint) uzaklıklar dikkate alınarak hesaplanmaktadır ve SS_R ile ifade edilmektedir [1].

Bir faktörün diğer faktör ile içe içe geçtiği tasarımlarda da aynı genel yaklaşım kullanılmaktadır. Ancak bu durumda analizde etkileşim terimi yer almayacak ve $SS_{B(A)}=SS_T - SS_A - SS_R$ olacaktır. Formülde yer alan $SS_{B(A)}$terimi, *B* faktörünün *A* faktörünün içine geçtiğini ifade etmektedir.Basit PERMANOVA analizine benzer şekilde hesaplanan F değerleri bilinen F tablo değerleri ile karşılaştırılmaktadır. *p* değerlerinin elde edilebilmesi için permütasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Faktör sayısı arttıkça permütasyon yöntemlerinin çok iyi bir şekilde seçilmesi gerekmektedir. Aksi takdirde yanlış seçilen bir permütasyon yöntemi sonuçların hatalı yorumlanmasına yol açabilmektedir. Bunun yanı sıra faktör sayıları arttıkça permütasyon yöntemleri ile kesin bir *p* değeri elde etmek gittikçe zorlaşmaktadır ve çok fazla zaman almaktadır. Bu dezavantajların giderilmesi için de kesin permütasyon testleri yerine analizde yer alan tüm terimlere karşılık gelen satır verilerin ve artıkların permütasyonunu içeren yaklaşımsal permütasyon yöntemi kullanılmalıdır [1,15-20].

2.4. Uygulama (Application)

Çalışmada, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalında yapılan bir klinik araştırmadan elde edilen verilerin amaca uygun bir bölümü alınarak kullanılmıştır. Lipid profili bağımlı değişkenler olarak tanımlanmıştır. Bu profil içerisinde üç temel kan yağı göstergesi mevcuttur. Bunlar Trigliserid (TG), Düşük yoğunluklu kolesterol (LDL) ve yüksek yoğunluklu kolesteroldür (HDL). Bu profil üzerine cinsiyet (erkek-kadın) ve Hashimato hastalığının(var-yok) etkisi araştırılmak istenmiştir.

Hangi modelin kullanılacağına karar verebilmek için öncelikle veri tipleri ve dağılımları incelenmiştir. Normallik varsayımın incelenmesi için Mardia'nın uyguladığı yöntem kullanılmıştır. Mardia'nın çok değişkenli normallik testi sonucunda TG, HDL ve LDL değişkenlerinin çok değişkenli normal dağılmadığı gözlenmiştir. Ayrıca modelde yer alan (gözlem sayısı / bağımlı değişken sayısı) oranı düşük düzeydedir. Bu nedenle veri analizi için iki faktörlü parametrik olmayan çok değişkenli varyans analizi modeli kullanılmıştır

Hasta ve kontrol gruplarının her birinde 20 gözlem olmak üzere toplamda 40 kişi üzerinde çalışılmıştır. Analizlerde verilere standardizasyon ve transformasyon yapılmamıştır. Permütasyon yöntemi olarak satır yöntemi kullanılmış ve 9999 tane permütasyon yapılmıştır. Uzaklık ölçüsü olarak Bray-Curtis ölçümü kullanılmıştır. Yapılan analizler ise Anderson [1] tarafından hazırlanan bir algoritma programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Ayrıca farklı olan grup ortalama vektörlerinin ve farklılığın vektördeki hangi özelliğe ait ortalamadan kaynaklandığının belirlenmesi için, PERMANOVA sonrası eş zamanlı güven aralıkları yöntemi kullanılmıştır [21].

3. BULGULAR (RESULTS)

Cinsiyete göre TG, HDL ve LDL değerlerine ait tanımlayıcı değerler ortalama, medyan, standart sapma, minimum ve maksimum olarak Tablo 4'te verilmiştir. Tablo 4incelendiğinde erkeklerin (20 kişi)TG ortalamasının 101,4±71,2;kadınların(20 kişi) TG ortalamasından108,7±67,8daha küçük olduğu görülmektedir.

Tablo 4. Kadın ve erkeklerde lipid profil değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler
(Descriptive statistics of the lipid profile values for women and men)

Grup	Değişken	Ort	Medyan	SS	Min	Maks
Erkek (n=20)	TG	101,40	83	71,23	13	266
Kadın (n=20)		108,75	94,5	67,82	37	319
Erkek (n=20)	HDL	50,05	50,5	10,84	34	72
Kadın (n=20)		57,40	62	13,02	35	80
Erkek (n=20)	LDL	99,75	91,5	45,42	55	260
Kadın (n=20)		105,15	107,5	31,43	51	157

Ort: Ortalama, SS:Standart Sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum, TG: Trigliserid, HDL: Yüksek yoğunluklu kolesterol, LDL: Düşük yoğunluklu kolesterol

Kadınların TG değişkenine ait minimum ve maksimum değerleri erkeklerden daha büyüktür. HDL değişkeni bakımından tanımlayıcı değerler değerlendirildiğinde ise kadınların HDL ortalamasının 50,05, erkeklerin ise 57,40 olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde kadınların en düşük HDL değeri erkeklerin en düşük HDL değerinden yüksek, en yüksek HDL değeri ise yine erkeklerin en yüksek HDL değerinden daha büyük olduğu görülmüştür. Erkeklerin LDL ortalaması 99,75±45,42, kadınların 105,15±31,43 olduğu görülmüştür.

Tablo 5'teHashimato hastalığının varlığına göre TG, HDL ve LDL değerlerine ait tanımlayıcı değerler ortalama, medyan, standart sapma, minimum ve maksimum olarak verilmiştir. Tablo detaylı olarak incelendiğinde kontrol grubunda TG ortalaması 88,90±51,72, HDL ortalaması 55,25±10,67, LDL ortalaması ise 85,85±24,22olarak elde edilmiştir. Hastaların ise TG ortalaması 121,25±80,47, HDL ortalaması 52,20±14,02 ve LDL ortalaması ise 119,05±43,59 olarak bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 5. Hashimato hastalığı olan (hasta) ve olmayan (kontrol) bireylerde lipid profil değerlerine ait tanımlayıcı değerler
(Descriptive values of lipid profile values for individuals with Hashimato disease (patient) and without hashimato (control))

Grup	Değişken	Ort	SS	Medyan	Min	Maks
Kontrol (n=20)	TG	88,90	51,72	87,5	24	215
Hasta(n =20)		121,25	80,47	95	13	319
Kontrol (n=20)	HDL	55,25	10,67	55	36	72
Hasta(n =20)		52,20	14,02	49	34	80
Kontrol (n=20)	LDL	85,85	24,22	81,5	51	130
Hasta(n =20)		119,05	43,59	110,5	70	260

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum, TG: Trigliserid, HDL: Yüksek yoğunluklu kolesterol, LDL: Düşük yoğunluklu kolesterol

Tanımlayıcı değerlerin verilmesinin ardından TG, HDL ve LDL değişkenlerine ait çok değişkenli normallik varsayımı incelenmiştir. Mardia'nın Çok Değişkenli Normallik testi sonucu ilgili değişkenlerin çok değişkenli normallik varsayımını karşılamadığı bulunmuştur (Mardia's Kurtosis test p=0,010 ve Mardia' Skewness test p<0,001). Buna karşın örneklem hacminin küçük olması nedeniyle HDL değişkeninin gerçek dağılımı hakkında kesin sonuç vermenin yanıltıcı olabileceği söylenebilir.

İlgili değişkenlere ait tanımlayıcı değerler elde edildikten ve gerekli varsayımlar kontrol edildikten sonra iki faktörlü PERMANOVA yöntemi kullanılmış ve Tablo 6'daki sonuçlar elde edilmiştir. Busonuçlar incelendiğinde, lipid değerleri bakımından Hashimato olan ve olmayanlar arasındaki farkın cinsiyete göre, cinsiyetler arasındaki farkın da Hashimato varlığına göre anlamlı bir değişim göstermediği görülmüştür.

Bu sonuç hastalık varlığı ile cinsiyet arasında anlamlı bir etkileşimin olmadığını gösterir. Etkileşim anlamlı bulunmadığı için lipid profili bakımından cinsiyetler karşılaştırılırken Hashimato varlığı dikkate alınmamış, hashimato olan ve olmayanların lipid profili karşılaştırılırken de cinsiyet farkı göz ardı edilmiştir. Bu incelemede lipid profili değerlerinin cinsiyetlere göre değişmediği yani erkek ve kadınların lipid profili ortalama vektörleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.Buna karşın hasta bireylerin TG ve LDL ortalamaları kontrollerden anlamlı derecede yüksek bulunurken, hasta bireylerin HDL ortalaması kontrollerden anlamlı derecede düşük çıkmıştır.

Tablo 6. PERMANOVA sonuçları
(PERMANOVA Results)

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Toplam Kareler	Ortalama Kareler	F	$p_{(perm)}$
Hashimato varlığı	1	1410,2046	1410,2046	4,3602	**0,0177**
Cinsiyet	1	213,8395	213,8395	0,6612	0,5380
Etkileşim	1	375,7097	375,7097	1,1617	0,3129
Artık	36	11643,2443	323,4235		
Toplam	39	13642,9982			

4. TARTIŞMA VE ÖNERİLER (DISCUSSION AND RECOMMENDATIONS)

Her alanda olduğu gibi sağlık alanında da bazı değişkenler doğası gereği normal dağılmamakta ve parametrik testlerin varsayımları sağlanmamaktadır. Örneğin, yaşam kaliteleri ciddi derecede bozulan fibromiyalji hastalarında yorgunluk (YDS) ve ağrı skoru (VAS) üzerine cinsiyet, bir günde ayakta kalma süresi, günlük çalışma saati ve uyku saatlerinin etkisi araştırılmak istenmiş olsun. Bağımlı değişken olarak modele alınan VAS ve YDS skorları, sıralanabilir (ordinal) yapıda olabilir. Ya da çalışmadaki gözlem sayısı, çalışılan değişken sayısından daha az olabilir bu nedenle veri analizinde parametrik testlerin kullanımı uygun olmayacaktır.

Bu çalışmada, etkenlerin birbirleriyle ilişkili birden fazla sonucunu birlikte dikkate alan ancak normallik varsayımı gibi parametrik testlerin varsayımlarının sağlanamadığı durumlarda hangi modelin kullanılabileceği okuyucuya gösterilmiş vekullanılan modelin özellikleri okuyucuya anlatılmıştır.Gerçekleştirilen örnek uygulamada,verilerin normal dağılmadığı ve etkenlerin birden fazla ilişkili sonuçlarının olması sebebiyle PERMANOVA yöntemi kullanılmış ve Hashimato hastalığı varlığı ve cinsiyet ile lipid profili değerleri arasındaki ilişkiler incelenmiş, Hashimato olanlarda lipid değerlerinin cinsiyete göre değişmediğiancak sağlıklı bireylerin değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek oldukları bulunmuştur.

PERMANOVA modelinin literatürde kullanımına nadir rastlanmaktadır. Uygulaması için bile çok sınırlı yapıda program bulunmaktadır ki bu programlar genellikle ilgili uzmanlar tarafından geliştirilen makrolardan oluşmaktadır [1].

Ulusal ve uluslararası düzeyde yapılan sağlık araştırmaları incelendiğinde PERMANOVA modelinin,bakterilerin yapısı ve genetik ilişkilerin araştırılması gibi çok sınırlı sayıda çalışmada kullanıldığı görülmüştür [22-27]. Ayrıca son yıllarda bu yöntemin kullanıldığı çalışmaların sayısında da ciddi bir artış gözlenmiştir. Bu çalışmalara örnek olarak 2015 yılında astım hastaları ile ilgili bir araştırma gerçekleştirilmiştir. Yapılan araştırmada bronşiyal mikrobiyomları ve ağır astım özellikleri arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacıyla PERMANOVA yöntemi kullanılmıştır [28].PERMANOVA yönteminin sağlık alanında kullanıldığı bir diğer çalışma ise Piters ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, yaşlı pnömoni hastalarının orofarengeal mikrobiyotaları, sağlıklı yaşlı grubundakiler ile 16S-rRNA temelli sıralama dikkate alınarak karşılaştırılmıştır. Sağlıklı ve yaşlı pnömanili hastalarda mikrobiyota profillerinin PERMANOVA yöntemi ile önemli derecede farklı olduğunu saptamışlardır [29].

Uygulamadan elde ettiğimiz bulgular ile literatürdeki bulguların uyumluolduğu ve cinsiyet ile Hashimato hastalığı arasında anlamlı bir ilişkinin saptanmadığı gözlenmiştir [30,31].Lipid profilleri açısından değerlendirildiğinde ise bizim çalışmamızdaki sonuçlara ek olarak ülkemizde yapılan çalışmalarda da Hashimoto hastalarının lipid değerleri, sağlıklı gönüllerin değerlerinden anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur [32].Ancak liteatürde yer alan çalışmalarda araştırmamızdaki gibi ilişkili olan sonuçlar yani LDL, HDL ve TG değerlerinin birbirleri ile ilişkileri aynı anda incelenmemiştir. Bu yönden PERMANOVA veya MANOVA yöntemi kullanılarak Hashimoto hastalığını değerlendiren bir çalışma mevcut değildir. Ancak genel itibariyle çalışmanın sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Dolayısıyla araştırmaları değerlendirirken, planlama ve veri analizi aşamalarında uygun olan yöntemlerin seçilmesi sonuçların doğruluğu ve kesinliği açısından önemlilik arz etmektedir. Bu doğrultuda veri analizlerinde tüm veri özellikleri dikkate alınarak uygun yöntemler seçilmelidir. Böylece araştırmadan elde edilen sonuçların gücü, güvenilirliği ve genellenebilirliği ciddi düzeyde etkilenecektir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

[1] MJ.Anderson, “A new method for non-parametric multivariate analysis of variance”,*Austral Ecology*, 26(1),32–46, 2001.

[2]KV. Mardia,“The effect of non-normality on some multivariate tests and robustness to nonnormality in the linear model”,*Biometrika*, 58(1), 105–121, 1971.

[3] CL. Olson,“Comparative robustness of six tests in multivariate analysis of variance”,*Journal of the American Statistical Association”*,69(348), 894–908, 1974.

[4] CR. Johnson, CA. Field,“Using fixed-effects model multivariate analysis of variance in marine biology and ecology”, *Oceanography and Marine Biology An Annual Review*, 31(1), 177–221, 1993.

[5] RJ. Boik,"The Fisher–Pitman permutation test: a nonrobust alternative to the normal theory F test when variances are heterogeneous",*British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, 40(1), 26–42, 1987.

[6] AF. Hayes,"Permutation test is not distribution free", *Psychological Methods*, 1(2), 84–98, 1996.

[7] ES. Edgington,**Randomization Tests**, 3rd ed., Marcel Dekker, New York, USA, 1995.

[8] BFJ. Manly,**Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology**, 2nd ed.,Chapman and Hall, London, UK,1997.

[9] D. Freedman, D. Lane,"A nonstochastic interpretation of reported significance levels",*Journal of Business and Economic Statistics*, 1(4),292–298, 1983.

[10] RA. Fisher,"Statistical methods and scientific induction",*Journals of the Royal Statistical Society*, 17(1), 69–78, 1955.

[11] ACA.Hope,"A simplified Monte Carlo significance test procedure",*Journals of the Royal Statistical Society*, 30(3), 582–598, 1968.

[12] MJ. Anderson, CJF. ter Braak,"Permutation tests for multi-factorial analysis of variance",*Journal of Statistical Computation and Simulation*, 73(2),85–113, 2003.

[13] MJ. Anderson, P. Legendre,"An empirical comparison of permutation methods for tests of partial regression coefficients in a linear model",*Journal of Statistical Computation and Simulation*,62(3), 271–303, 1999.

[14] MJ. Anderson,J. Robinson,"Permutation tests for linear models",*Australian and New Zealand Journal of Statistics*, 43(1),75–88, 2001.

[15] AJ. Underwood,"Techniques of analysis of variance in experimental marine biology and ecology",*Oceanography and Marine Biology An Annual Review*, 19(1),513–605, 1981.

[16] AJ. Underwood,**Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance**,Cambridge University Press, Cambridge, England,1997.

[17] BJ. Winer, DR. Broan, K M. Michels,**Statistical Principles in Experimental Design**, 3rd ed.,McGraw-Hill, Sydney, Australia, 1991.

[18] KR. Clarke,"Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure",*Austral Journal of Ecology*, 18(1), 117–143, 1993.

[19] PH. Crowley,"Resampling methods for computation intensive data analysis in ecology and evolution",*Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 23(1),405–447,1992.

[20] CJF. ter Braak,**Permutation Versus Bootstrap Significance Tests In Multiple Regression and Anova**, Springer,Berlin, Germany, 1992.

[21] RA. Johnson, DW. Wichern,**Applied Multivariate Statistical Analysis**, Prentice-Hall,New Jersey, USA, 1982.

[22] JD. Taylor, R. Ellis, M. Milazzo, JM. Hall Spencer, M. Cunliffe,"Intertidal epilithic bacteria diversity changes along a naturally occuring carbon dioxide and pH gradient"*FEMS Microbiology Ecology*,89(3),670-8, 2014.

[23] RR. Flores, MD. Ortiz-Perez, L. Batres-Esquivel, CG. Castillo, CA. Illizaliturri-Hernandez, F. Diaz-Barriqa,"Rapid analysis of persistent organiz pollutants by solid phase microextraction in serum samples",*Talanta*, 123(1),169-178, 2014.

[24] SD. Merson, D. Ouwerkerk, LM. Gulino, A. Klieve, RK. Bonde, EA. Burgess, JM. Lanyon,"Variation in the hindgut microbial communities of the Florida manatee, Trichechus manatus latirostris over winter Crystal River, Florida",*FEMS Microbiology Ecology*,87(3),601–615, 2014.

[25] M. Stauffert, C. Cravo-Laureau, R. Jezequel, S. Barantal, P.Cuny, F. Gilbert, C. Caqnon, C. Militon, D. Amouroux, F. Mahdaoui, B. Bouyssiere, G. Stora, FX. Merlin, R. Duran,"Inpact of oil on bacterial community structure in bioturbated sediments",*PLoS One*,8(6), e65347, 2013.

[26] C. Nethercott, AN. Mabbett, M. Totsika, P. Peters, JC. Ortiz, GR. Nimmo, GW. Coombs, MJ. Walker, MA. Schembri,"Molecular characterization of endocarditis-associated Staphylococcus aureus",*Journal of Clinical Microbiology*,51(7),2131–2138, 2013.

[27] DL. Willner, P. Hugenholtz, ST. Yerkovich, ME. Tan, JN. Daly, N. Lachner, PM. Hopkins, DC. Chambers,"Reestablishment of recipient-associated microbiota in the lung allograft is linked to reduced risk of bronchiolitis obliterans syndrome",*American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*,187(6),640–647, 2013.

[28] YJ. Huang, S. Nariya, JM. Harris, SV. Lynch, DF. Choy, JR. Arron, H. Boushey, "The airway microbiome in patients with severe asthma: Associations with disease features and severity*", Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 136(4), 874–884, 2015.

[29] WA. Piters, EG. Huijskens, AL. Wyllie, G. Biesbroek, MR. Bergh, RH. Veenhoven, X. Wang, K. Trzcinski, MJ. Bonten, JW. Rossen, EA. Sanders, D. Boqaert, "Dybiosis of upper respiratory tract microbiata in eldery pheumonia patients", *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*,2015. doi: 10.1038/ismej.2015.99.

[30] B. Dündar, A. Boyacı, Ö. Sangün, N. Dündar, "Çocuk ve ergenlerde Hashimoto tiroiditi: klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi", *Türk Pediatri Arşivi,*46(4), 2011. 318–322. doi: 10.4274/tpa.358.1338.

[31] E. Ozsu, RG. Yeşiltepe Mutlu, F. Çizmeci, Ş. Hatun, " Hashimoto tiroiditli hastalarımızın özellikleri", *Türk Pediatri Arşivi*, 46(3),252–255, 2011. doi: 10.4274/tpa.46.83.

[32] G. Mehmetçik, E. Becer, A. Akbey, "Levotiroksin tedavisi gören Hashimoto Tiroiditi hastalarında serum total antioksidan kapasitesi, lipit profili, malondialdehit ve eritrosit süperoksit dismutaz düzeyler", *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 32(5), 1241–1246, 2012.