



卫生部“十一五”规划教材

全国高等医药教材建设研究会规划教材

全国高等学校配套教材 • 供药类专业用

药理学实验指导

主 编 章蕴毅



人民卫生出版社

卫生部“十一五”规划教材
全国高等医药教材建设研究会规划教材
全国高等学校配套教材
供药学类专业用

药理学实验指导

主 编 章蕴毅

主 审 李 端

编 者 (以姓氏笔画为序)

任雷鸣 (河北医科大学)	俞昌喜 (福建医科大学)
孙汉清 (华中科技大学同济医学院)	莫正纪 (四川大学华西药学院)
李长龄 (北京大学药学院)	殷 明 (上海交通大学药学院)
何 明 (南昌大学药学院)	章蕴毅 (复旦大学药学院)
邹莉波 (沈阳药科大学)	焦 波 (山东大学药学院)
陈 虹 (石河子大学药学院)	睢大员 (吉林大学药学院)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

药理学实验指导/章蕴毅主编. —北京:
人民卫生出版社, 2007. 8

ISBN 978 - 7 - 117 - 09039 - 1

I. 药… II. 章… III. 药理学 - 实验 - 高等
学校 - 教学参考资料 IV. R965. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 113409 号

药理学实验指导

主 编: 章蕴毅

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010 - 67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 4.5

字 数: 102 千字

版 次: 2007 年 8 月第 1 版 2007 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 09039 - 1/R · 9040

定 价: 8.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010 - 87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

前 言

药理学是一门实验性学科,是结合了生理、生化、病理等学科的综合性学科。药理学实验是本学科的极其重要的组成部分,是贯穿于新药开发、药物研究、基础医学中的重要实践手段。因此,药理学教学中均有相关的实验教学,以帮助学生了解和掌握基础的药理学实验方法、加深对药理学理论内容的理解。由人民卫生出版社出版的第二版《药理学实验》出版于1996年,至今已有10多年的时间。这本教材资料全面、内容丰富,涉及各个药理学分支的实验,出版后被全国各高等院校选用,在药学人才的培养中发挥了重要的作用。但近年来,生物技术特别是分子生物学技术、分子免疫学技术等发展日新月异,建立了许多合理、有效的新方法和新技术,由此带动了生理、生化、病理、药理等实验研究的飞速发展。同时,药学高等教育的目标和在校学生数量也出现了很大的变化,因此有必要对药理学实验教材进行适当的修订,以适应这种改变。

本教材是普通高等教育“十一五”国家级规划教材、卫生部“十一五”规划教材,全国高等学校药学专业教材《药理学》(第6版)的配套教材。其编写目的是培养和巩固药理学实验中的基本理论、基本知识和基本技能,通过实验,加深对药理学理论和实验的理解。考虑到当前药学教学的实际情况,选择了一些比较有代表性并适合学生进行的实验,忍痛舍弃了上一版教材中的一些实验,同时也没有将当前药理学实验中比较先进、精密的实验包括进去。这些没有编入的实验仍然是相关研究方向中的经典、常用的方法,具有重要的意义和参考价值。对此感兴趣的读者,请参考相关领域的专著或者发表的文献。

药理学实验中,在基础方法上,可以衍生出许多不同检测指标,实验方法也会有不同的调整和改进。本教材在编写的实验方法上,对部分实验方法和检测指标的改进进行了简单的叙述,并给出了相关的参考文献。希望由此拓展学生对实验的理解,在今后工作中如涉及类似的药理学实验,可以有所参考。

本教材可供普通高等学校药学专业本科生应用,也可供药理工作者参考。由于各院校师资力量、实验条件以及教学的侧重点各不相同,在使用本书时,应根据具体情况取舍、调整和补充。由于编写时间仓促,同时限于我们的认识和能力,本教材中一定存在不少缺点和错误,恳切希望读者给予批评指正。

章蕴毅

2007年5月

目 录

第一篇 总 论

药理学实验基础知识.....	1
一、实验动物的选择.....	1
二、实验动物的编号.....	1
三、动物捉持方法.....	2
四、动物的给药方法.....	2
五、给药剂量.....	4
六、数据的处理.....	5
七、差异的显著性检验.....	8

第二篇 实 验

实验1 给药途径对药物作用的影响	11
实验2 肝脏功能状态对药物作用的影响	12
实验3 肾脏功能状态对药物作用的影响	13
实验4 碳粒廓清实验	14
实验5 磺胺类药物半衰期及表观分布容积的测定	15
实验6 药物量效关系及 pD_2 值的测定	16
实验7 药物对离体家兔主动脉条的作用	17
实验8 有机磷酸酯类中毒及解救	19
实验9 局麻药对兔眼角膜麻醉作用的比较	20
实验10 地西洋对戊巴比妥钠催眠的协同作用	21
实验11 氯硝西洋对小鼠爬梯行为的影响	22
实验12 地西洋对小鼠明暗穿梭行为的影响	22
实验13 氯米帕明对小鼠强迫游泳不动时间的影响	23
实验14 氯米帕明对利舍平致小鼠上睑下垂的影响	24
实验15 地西洋对电刺激惊厥的保护作用	25
实验16 镇痛药与解热镇痛抗炎药镇痛作用的比较(热板法)	25
实验17 乙醇对大鼠学习能力的影响(Y-型电迷宫实验)	27
实验18 阿司匹林对大鼠足跖炎性肿胀模型的作用	29
实验19 利多卡因对氯化钡诱发心律失常的治疗作用	31
实验20 强心苷对离体蛙心的作用(斯氏法)	33
实验21 药物对豚鼠离体心脏冠状动脉流量的影响	35

实验 22	丹参对抗垂体后叶素所致心肌缺血的作用	37
实验 23	氯贝丁酯的降血脂作用	39
实验 24	药物对小鼠的祛痰作用(气管酚红法)	42
实验 25	利胆药利胆作用实验	43
实验 26	利尿药和脱水剂对家兔尿量的影响	44
实验 27	氢化可的松对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响	45
实验 28	药物半数致死量(LD_{50})的测量	46
实验 29	热原试验	47
实验 30	溶血试验	50
实验 31	过敏性实验	51
实验 32	卡托普利的降压作用	53
实验 33	通过动物血压变化证明某药为 α 受体阻断药	55
实验 34	药物的体外抗菌实验	56
实验 35	药物的体内抗菌实验	58
实验 36	药物的体外抗肿瘤实验	60

附 录

附录 1	不同自由度下的 t 值和 χ^2 值表	63
附录 2	Mann-Whitney 检验用表	64
附录 3	常用实验动物的一些生理常数	65
附录 4	常用生理溶液的成分和配制	66

第一篇 总 论



药理学实验基础知识

实验的目的是在最短的时间、用最少的代价获得最科学、最正确的结果。随着药理学和其他生物学科的飞速发展,药理学实验的内容和方法也发生了巨大的变化。通过借鉴、继承细胞生物学、分子生物学等学科的技术和方法,对药物作用的研究也已经深入到细胞分子水平,相关的药理学实验方法也得到了完善和发展。但任何的药物最终服务的是一个完整的个体,因此,整体动物上的药理学实验是不可避免的。动物实验始终是药理学实验的中心内容之一。如何达成实验目的、高效合理地进行药理学实验是必须掌握的内容。

一、实验动物的选择

根据实验目的和要求来选择合适的实验动物,是保证实验研究成功的关键。不同的动物有各自的生物学特点。适当的运用,能简化实验操作,保证结果的准确可信。反之,则很可能得到错误的结果。如大鼠没有胆囊,因此没有胆汁的贮存和浓缩过程。使用大鼠进行药物胆汁排泄实验就非常合适,可以得到动态的药物排泄资料;如选择其他动物,由于胆囊的贮存和浓缩作用,胆汁中药物浓度与时间的关系可能存在很大的误差。如果实验的目的是研究胆囊的功能,则不能选择大鼠。又如豚鼠、兔对呕吐反应不敏感,镇吐药实验就不能选用,而应使用猫、鸽子等。甚至同一种动物的不同品系对疾病或药物的反应也不完全相同。

药理学实验采用动物的一般原则是:在实验的目的基础上,要求动物模型的病理表现与人相应的病理表现最相似;动物的生理生化情况与人体最相似;动物对受试药物的反应与人最相似并且合理;动物的遗传背景和健康状况清晰、饲养方便、来源稳定。一般情况下,选择成年、健康的动物,实验中同时包含雌性和雄性动物。怀孕或哺乳等特殊情况的动物应予以剔除。有特殊要求的实验除外。

二、实验动物的编号

实验动物的编号标记方法很多。好的标记方法应该是标记清晰、耐久、简便易读。

对药理实验,每笼(组)动物数不多,常采用被毛染色法和号牌法。

被毛染色法:常用于小鼠、大鼠、豚鼠和兔等中小动物。使用苦味酸水溶液在动物体毛上染色。不同部位的染色表示不同的编号。习惯上从上到下、从左至右的色点分别代表1~9号,10号不标记,如图1-1A。由于记号之间间距小,而标记时位置存在误差,这种标记方法用于体型较小的小鼠时,很易混淆。此时可采用图1-1B的方法。即在头部做标记,为5号。四肢上的标记分别为1~4号。6~9号通过同时标记四肢和头部进行。同样10号不标记。这种方法的优点是标号位置间距大,清晰,不容易错号。但6~9号需要两点标记。无论哪种方法,更大的号码需要采用多点混编,或采用多种颜色混编来进行。被毛染色法简便、清晰,常使用于短期实验。由于存在褪色问题,长期实验需要定期重染。

号牌法:使用塑料或金属号牌,固定于动物身体,如耳朵、肢体上,或系于大动物的项圈上。本方法主要用于大型动物。

三、动物捉持方法

小鼠:常用的方法有两种:其一是以右手提小鼠,放于固定的粗糙表面后,向后轻拉,小鼠前肢将紧抓固定表面不放。此时迅速以左手拇指和食指抓住小鼠颈部皮肤,然后以其余手指和手掌抓住小鼠背部皮肤进行固定。另一种方法是以左手抓住小鼠尾巴放于固定粗糙表面,轻拉。转动手掌使小指处于尾巴根部后,翻转手掌以指背部轻压小鼠,迅速以左手拇指和食指抓住小鼠颈部皮肤并固定。第一种方法简便,第二种方法需要一定技巧,但便于快速捉拿。

大鼠:与小鼠捉拿方法相似。需要注意的是,大鼠体型大,攻击性强,实验者需要戴手套进行防护。捉拿用力要均匀柔和,以避免激怒动物。必要时可使用厚布或毛巾辅助,即将动物放于粗糙表面后,覆以毛巾等以阻断动物视线,然后以左手抓住其颈背部皮肤。

豚鼠:豚鼠性情温和,一般不会咬人。捉持时,以左手拇指和中指绕到其前肢腋下,提起后右手托住其臀部即可。

家兔:以一手抓住家兔颈背部皮肤,将家兔提起,另一手托住其臀部。需要注意的是捉持家兔时,不能提耳朵。

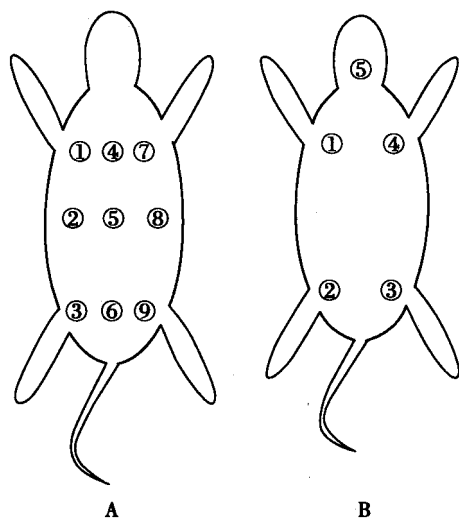


图1-1 两种动物毛发染色编号法示意图

四、动物的给药方法

1. 经口灌胃给药 大、小鼠使用特制的灌胃器进行。如无特制灌胃器,可用普通9~12号注射针头改制(将针头尖端磨平,边缘抛光,近中间弯成约30°角即可)。灌胃时,左手捉持动物,右手持注射器。将灌胃器沿一侧嘴角插入口腔,在用灌胃器压向后方便

动物口腔和食管成直线的同时,使灌胃器沿上颚滑入食道。如方法正确,应无明显障碍。若遇较大阻力或动物剧烈挣扎,必须退出重插,不得用蛮力强行插入灌胃器。否则会刺破食道或气管。在灌胃前,可预先估计从口腔到胃的距离。当达到一定深度后,将注射器内药物推入。

家兔或猫的灌胃需要两人合作。一人固定动物,另一人使用金属或木制开口器(纺锤形,中间开一孔)横放于动物上下颚之间并压住舌头。另将适当粗细的导尿管从开口器中央小孔插入,一面旋转一面缓缓插入。如动物剧烈挣扎或呼吸困难,表明导尿管可能插入了气管,应拔出重插。也可将导尿管一端插入水中,如有气泡,也表明导尿管插入了气管。当插入约15~18cm并确认没有进入气管后,即可从导尿管外端注入药物,给药后,注射少量空气或生理盐水,将导尿管中的药物冲入胃中,以保证给药剂量的准确。然后轻轻拔出导尿管,取出开口器。

对未经驯服的狗,必须用长柄捕犬夹夹住动物颈部,并用绳索等固定犬口腔,才能灌胃。将导尿管自犬第一对犬臼齿后的空隙中插入,顺食管方向缓慢送入。如遇明显阻力,应退出重插。插入约20cm后,可自导尿管注入少量水。如注射通畅,水不从犬口中流出,表明导尿管正确进入胃中。此时可以给药。对驯服的狗,可将药物直接放在动物口中,任其自行下咽。给药后,应观察一定时间防止动物吐出药物。对驯服的狗不可用捕犬夹等,以免改变动物对实验者的信赖。

2. 皮下注射 动物皮下给药的部位主要在颈背部。固定动物后,轻轻提起皮肤,将注射针头刺入皮下。小幅度移动针头,如手指可感觉到皮肤随针头移动,表明针头可能刺入皮内。应调整角度和深度,重新插入针头。确认注射针头在皮下后,轻轻回抽注射器,如无明显回血即可注入药物。

3. 肌肉注射 选择肌肉丰满而无大血管的部位,常用注射部位在后肢外侧肌肉。注射针头刺入后,轻轻回抽注射器,如无明显回血即可注入药物。

4. 腹腔注射 将动物腹部向上,在腹股沟中点偏向腹腔位置注射。针头与腹腔成 $30^{\circ}\sim 45^{\circ}$ 刺入腹腔,视动物大小刺入1~2cm。进针部位不能太高,刺入不能太深,以免伤及内脏。将注射针头回退少量距离,轻轻回抽注射器,如无明显回血即注入药物。

5. 静脉注射 大小鼠的静脉注射选择尾静脉。将动物固定在特制笼具内(也可用适当大小的塑料离心管自制:将离心管底部及盖子各打一个洞,底部的洞供动物呼吸,盖子的洞供穿出尾巴用),使用酒精棉花涂擦,将尾巴浸入 50°C 左右的温水或用白炽灯烘烤使尾静脉充分扩张。左手持尾巴,选择两侧尾静脉中扩张最明显的,右手持注射器(配4号注射针头),将针头刺入静脉。当针头进入静脉时有突破感,随后的推进阻力减小,同时可能有回血。如针头未进入静脉,则无突破感,进针的阻力无改变。注入少量药物,如感觉阻力很大,注射部位尾巴发白,表明针头未进入血管。注射成功的关键是静脉充分扩张。此外,注射部位应从距离尾尖 $1/4$ 处开始,一旦失败,可在靠近尾根部重新选点注射。

豚鼠的常用静脉注射部位是舌静脉或阴茎静脉,但豚鼠静脉脆,动物固定也比较困难。

家兔静脉注射选用耳静脉。去除毛发后,固定动物,以酒精棉花擦拭注射部位,促使血管扩张充血。以左手食指和中指压住耳根部静脉,拇指和无名指轻轻抓住耳朵远

端,右手持注射器(配4号或5号针头),顺血管方向将注射针头刺入血管并继续推进约1cm。当针头进入血管后,会有明显回血,此时即可注入药物。注射完毕,拔出针头,以棉花压迫止血。

犬采用前肢内侧头静脉进行注射。动物固定后,将前肢根部以胶管绑扎,使血管充盈膨胀。左手托住犬前肢,找到头静脉后,用酒精棉花擦拭注射部位。右手持注射器刺入静脉并继续推进约1cm。回抽见血后即可注射药物。

动物给药的体积是有一定限制的。不同动物不同给药途径下,给药的体积范围如表1-1。

表 1-1 常用实验动物几种给药途径下的适宜给药容量

动物	给药途径	给药途径缩写	适宜给药容量
小鼠	灌胃	ig	0.1~0.3ml/10g
	皮下注射	sc	0.05~0.2ml/10g
	肌内注射	im	0.02~0.05ml/10g(每侧)
	腹腔注射	ip	0.1~0.2ml/10g
	静脉注射	iv	0.1~0.2ml/10g
大鼠	灌胃	ig	1~2ml/100g
	皮下注射	sc	0.5~1ml/100g
	肌内注射	im	0.1~0.2ml/100g(每侧)
	腹腔注射	ip	0.5~1ml/100g
家兔	灌胃	ig	5~20ml/kg
	皮下注射	sc	0.5~1ml/kg
	肌内注射	im	0.5~1ml/kg
	腹腔注射	ip	1~5ml/kg
	静脉注射	iv	0.2~2ml/kg

五、给 药 剂 量

实验中药物剂量的确定通常采用两种方法:通过预实验或通过相关文献资料。预实验可参考药物的半数致死量,采用比较大的药物剂量区间,进行实验。通过实验结果,确定大致的药物剂量范围。因此需时长,消耗大。但预实验得到的剂量范围可靠,同时还能检查实验设计中选择的观察指标是否客观、灵敏,实验条件是否合理等。如果受试药物已有相关的文献报道,则可以参考文献中的药物剂量。但在绝大多数情况下,文献报道的实验条件与待试条件不同,如药物剂型不同、给药途径不同、受试对象不同、整体离体情况不同等等。因此文献中的药物剂量是不能直接应用的,必须经过适当的换算得到实验所用的药物剂量。

药物在血液中会与与血浆蛋白结合,从血液到组织周围也有浓度差。多数情况下,很难得到这种差异的准确定量关系。离体实验下药物浓度相当于组织周围浓度,可以近似地“等效”于血液浓度,乘以表观分布容积可得到近似的给药量。当表观分布容积也无法确定时,乘以血液总体积,并作适当加减,来估算给药量。这样估算的给药量,用于

预实验后,再确定准确的药物剂量。

不同给药途径药物的吸收入血的比率不同。在不同给药途径之间药物剂量的换算需要考虑生物利用度,尽量使药物吸收后血药浓度相近。

尽管不同种属的动物在体重、生理代谢等方面存在很大差别,但以单位体表面积计算时,不同动物的代谢率相近,对药物的代谢和反应也相近。药理学研究中给药剂量常以单位体重计,在同种动物之间的误差不大。不同动物之间药物剂量必须以体表面积比值进行换算,这是药理学中确定药物剂量的重要方法之一。确定动物体表面积以及药物剂量的换算也有多种方法,各种方法之间结果有一定差别,但差别不大。比较简便的方法是:换算的两种动物单位体表面积药物剂量相同。由于不同体重有不同的体表面积,为简化计算,可使用经过适当处理的转换因子,其计算如下:

$$\begin{aligned} & \text{动物 A 单位体重药物剂量(g/kg)} \times \text{动物 A 转换因子} \\ &= \text{动物 B 单位体重药物剂量(g/kg)} \times \text{动物 B 转换因子} \end{aligned}$$

不同动物的转换因子列于表 1-2。本方法简单,但忽略了体重不同带来的差异。

表 1-2 不同动物剂量换算的转换因子

动物种类	转换因子粗略值	动物种类	转换因子粗略值
小鼠	3	猫	14
大鼠	6	犬	19
豚鼠	8	猴	12
家兔	12	人	36

通过计算可在不同种属动物及人之间估算药物剂量,这种估算得到的结果是有比较大的误差的,所得结果仅用于参考,且必须根据受试药物和动物的具体情况进行适当的调整。

六、数据的处理

动物对药物的反应有很大的个体差异,即使是遗传背景相同的纯种动物也是如此,单独的两个个体之间对药物反应的差异并不能反映群体的结果。所以药理学实验需要有一定的样本量,并且需要对实验数据进行统计学检验。

1. 数据的类型 可分为三类:

定量数据 数据可以用连续的数值表示。如可测得每个研究对象的体重、血压、心率等,均属定量数据,也称计量资料。产生定量数据的反应也称量反应。

定性数据 属于“全或无”反应,如某一反应或某一特定情况的出现或不出现,分别称为阳性反应或阴性反应,可用百分率或小数表示,如死亡率、生存率、惊厥率等,亦可称为计数资料。产生定性数据的反应也称质反应。

半定量数据 数据类型介于上述两类数据之间,可用连续数值表示,但数值的范围或等级非常有限。如尿蛋白(— ~ + + +)、动物的爬杆情况(0 ~ 3 级)等。

一般来说,定量数据可以充分表达实验结果,其所包含的信息量丰富、效率高,数据处理和分析手段也比较丰富。而定性反应的效率不如定量反应,数据处理和分析手段也相对较少。如有可能,在实验设计时,尽量选择能获得定量数据的观察指标。

2. 数据处理 以剂量为自变量作横坐标,以反应为因变量作纵坐标,作点图后观察其分布趋势,可了解剂量和反应的关系。由此得到的直线或曲线称为量-效曲线。剂量和反应的最好关系是直线。因为直线关系最简单,便于计算和统计处理。当剂量与反应的关系不呈直线时,可设法通过转换将其转化成直线。在药理学实验中,最常见的量-效曲线是对数剂量与反应本身呈直线关系,只要把剂量转换成对数值,就可使曲线转换成直线。

对质反应,常见的量-效关系是对数剂量与反应率成S型曲线,如将反应率转化为概率单位,则成直线。计算质反应的半数有效量(ED_{50})或半数致死量(LD_{50})就是根据这一原理。

在量-效曲线上,一个剂量对应于恒定的效应。对具体的动物实验而言,由于存在个体差异以及环境、操作的差异,同等剂量下的反应会有所不同,得到的数值将围绕量-效曲线作上下波动。大多数情况下,这种波动是有规律的。将数据值作为横坐标,测得该数值的次数作纵坐标作图,即频数分布情况,可以反应这种波动的规律(图1-2)。

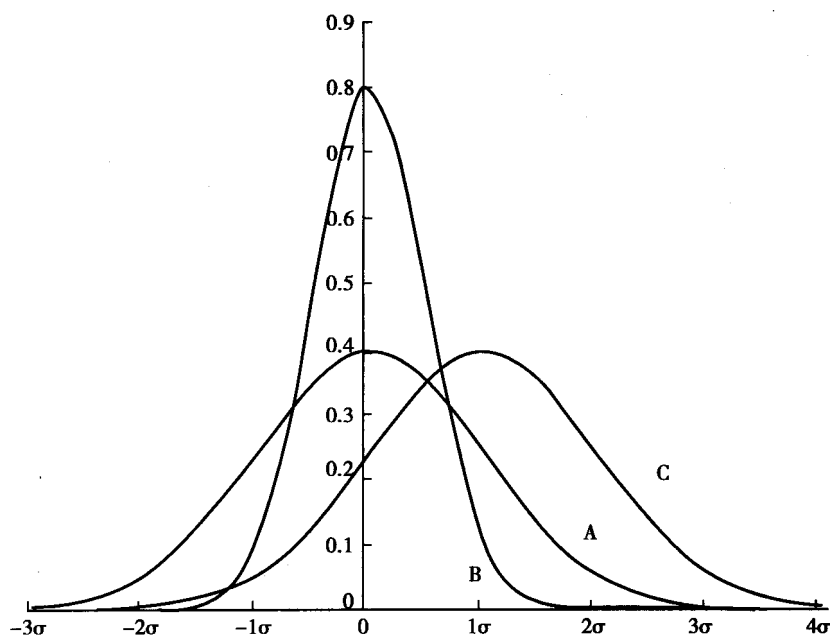


图1-2 正态分布图

A线:总体均值为0,总体标准差为 σ ;B线:总体均值为0,总体标准差为 0.5σ ;C线:总体均值为1,总体标准差为 σ

最重要的频数分布情况之一为正态分布。标准化后的正态分布见图1-2。A线表示总体均值为0、总体标准差为 σ 的正态分布。如标准差降低,曲线将变得狭窄,数据集中,反之则数据分散。如曲线B,其总体均值也为0,但总体标准差为 0.5σ 。如总体均值发生改变,表现为曲线左或右移,如C线,其总体均值大于0,而总体标准差仍为 σ 。正态分布的曲线总面积等于1,在 $-1.96\sigma \sim 1.96\sigma$ 之间的面积占总面积的95%,在 $-2.58\sigma \sim 2.58\sigma$ 之间的面积占总面积的99%。这意味着,当测得的数据在某正态分布的 $-1.96\sigma \sim 1.96\sigma$ 之间时,该数据有95%的几率来自这一正态分布。反之,测得

的数据在某正态分布的 $-1.96\sigma \sim 1.96\sigma$ 之外时,则仅有 5% 的几率来自该正态分布,或者说认为该数据来自其他正态分布曲线,错误的几率小于 5% ($P < 0.05$)。对两组(或多组)不同来源的数据进行统计检验,如得到的 $P < 0.05$,表明所比较的两组(或多组)数据来自于同一分布的几率小于 5%,因此认定受比较的数据来自于不同的分布曲线,差异有显著意义。

标准正态分布来自于极大样本量的分析。实验数据的样本量非常小,数据的分布与标准正态分布有差异。但除非数据分布有显著的偏态,一般情况下都简单地将实验数据按正态分布进行处理。均值、标准差、标准误可以比较准确地反应数据的分布情况(对非正态分布的数据,经适当转换成正态后,也可应用上述参数)。其计算公式如下:

(1) 均数($\bar{X}$):在量反应的生物检定中,当测量值的分布近似于常态分布时,可用均数表示测量值的集中趋势。测量的样本愈大,均数愈接近总体均数。但是均数不能反应一组数据的离散程度。

$$\bar{X} = \Sigma X/n \quad n: \text{样本中测量值的个数}$$

在 Excel 中,可以用 AVERAGE() 函数直接计算出结果。

(2) 标准差(SD):反映数据的离散程度。

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma (X - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\Sigma X^2 - \frac{(\Sigma X)^2}{n}}{n-1}}$$

在 Excel 中,可以用 STDEV() 函数直接计算出结果。

(3) 标准误(SE):标准误是说明均数离散程度的指标,表示均数的抽样误差。

$$SE = SD/\sqrt{n}$$

当样本中测量值的个数(n)固定时,抽样误差的大小与标准差(个体差异的指标)的大小呈正比。均数标准误愈小,则说明抽样误差愈小,样本均数的可靠性愈大。

(4) 变异系数(CV):变异系数是标准差相当于均数的百分数。当两组测量值均数相差较大或单位不同时,不能直接用标准差比较两组的个体差异大小,而须用变异系数来作比较。

$$CV = SD/\bar{X}$$

(5) 定性数据的表达方式:定性数据只有阴性和阳性两种情况,可用百分率来表示。当总体率不接近于 0 或 100%,且每次抽取的样本不是太小时,样本率的分布也近似于常态分布。可根据样本率的标准误来估计总体率的所在范围。

$$\text{阳性率 } P = \frac{\text{阳性反应个数}}{n}$$

$$\text{阴性率 } Q = 1 - P \quad n = \text{样本中的个体数}$$

$$\text{百分率标准误 } SE_p = \sqrt{\frac{PQ}{n}} = \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}$$

非正态分布的数据不适合用上述参数描述,目前也没有简便的准确全面的表示方法。一般可用中位数加数值范围来表达,中位数是将数据按递增或递减排列时位于中间的一个数值。如下列一组数据:[0,1,1,1,1,1,1,3,3,5,9],属于非正态分布数

据。按上述公式计算,其均值约为 2.36,而标准差却为 2.62,都没有准确反映出主要的数据集中在 1 这一事实。用中位数加数值范围的方法可说明该组数据中位数为 1,数值范围在 0~9,基本反映数组中数值的分布情况。

七、差异的显著性检验

我们日常所掌握的资料,大多带有样本的性质,在使用、分析或比较这些结果时,应该考虑到抽样误差或生物差异的问题。例如见到两个均数或百分率不相同,不能直接从数字表面的差异来判断,还需考虑这种差异是否由于抽样误差或生物差异所引起。显著性检验用于检验两组或多组样本统计值之间的差异是否由于抽样误差引起,以判断差异在统计上是否有显著意义。

统计学中差异的显著性检验有许多方法,这些方法分别适用于不同的数据类型。正态分布的定量或半定量数据常用 t 检验和方差检验(由于药理学实验的数据量一般都较小,很多情况下难以确定数据是否呈正态分布,近似正态分布或者不是严重偏态的数据也使用这两种检验方法);非正态分布的数据需要采用非参数统计方法(如 Wilcoxon 检验或 Mann-Whitney 检验等);定性数据最常用的显著性检验方法是卡方(χ^2)检验。

1. t 检验 t 检验用于检验量反应的两组样本均数的差异在统计上是否有意义。要求数据总体为常态分布或近似常态分布,所比各组的方差不能相差太大,所以应该严格地排除偏性。否则需要校正。

两样本均数 t 检验的计算公式如下:

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{SE(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}$$

$$\text{其中 } SE(\bar{X}_1 - \bar{X}_2) = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)SD_1^2 + (n_2 - 1)SD_2^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1)} \times \frac{n_1 + n_2}{n_1 \times n_2}}$$

是均数之差的标准误。

$$\text{自由度 } n' = (n_1 - 1) + (n_2 - 1) = n_1 + n_2 - 2$$

上面公式中, $\bar{X}_1$ 、 SD_1 、 n_1 分别为一组数据的均值、标准差和样本量, $\bar{X}_2$ 、 SD_2 、 n_2 为另一组数据的均值、标准差和样本量。

通过自由度 n' 查 t 值表,可得相应自由度下几率为 0.05 和 0.01 的 $t_{0.05}$ 和 $t_{0.01}$ 值。若计算得到的 t 值大于 $t_{0.05}$,则 $P < 0.05$,可以认为两样本均数之间的差异有显著意义;若计算得到的 t 值大于 $t_{0.01}$,则 $P < 0.01$,可以认为两样本均数之间的差异有极显著意义。

药理学实验中选择生理状态相同的动物配对,分别使用不同药物,称为配对试验。使用同一动物,在不同时间给不同药物,称为自身对照试验。试验得到的数据可分别采用配对 t 检验或自身 t 检验。这两种方法是组间 t 检验的特例,其效率比较高。

Excel 软件中可以用 ttest() 函数直接计算 t 检验的几率(P)值。

2. Mann-Whitney 检验 适用于非正态分布的定量资料的组间差别检验。方法是:将两组观察指标合并,按数值大小顺序排列并赋予等级值,相同的数值赋予平均等级。将两组的等级值分别累加求出等级和 T 。通过两组的样本数,查表可得 $T_{0.05}$ 和 $T_{0.01}$ 。

如计算得到的较小的 $T < T_{0.05}$ 或 $T < T_{0.01}$, 则 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 两组差异有显著或极显著意义。例如表 1-3:

表 1-3 某一动物爬杆实验结果如下

组 1 爬杆值	0	0	0	0			1	1		2				
组 2 爬杆值					0	0			1		3	3	3	3
理论等级	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
等级	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	8	8	8	10	13	13	13	13
组 1 等级值	3.5	3.5	3.5	3.5			8	8		10				
组 2 等级值					3.5	3.5			8		13	13	13	13

理论等级从小到大逐渐增加。但第 1 列至第 6 列爬杆值相同, 所以应赋予相同的等级, 即 $(1 + 2 + 3 + 4 + 5 + 6)/6 = 3.5$, 第 7 列至第 9 列、第 11 列至第 15 列也同样处理。

组 1 的等级和 $= 3.5 \times 4 + 8 \times 2 + 10 = 40$

组 2 的等级和 $= 3.5 \times 2 + 8 \times 1 + 13 \times 5 = 80$

两组样本数分别为 6 和 7, 查附录 2 得 $T_{0.05} = 27$, $T > T_{0.05}$, $P > 0.05$, 两组样本之间的差异无显著意义。

3. 卡方(χ^2)检验 适用于定性资料的组间检验, 包括多组之间的比较, 如多个药物作用之间的比较。多组比较结果如果没有显著性, 表明任意两组之间的差异都没有显著意义。多组比较有显著性, 只说明在这些组中, 至少有两组数据之间的差异有显著意义。至于哪两组(或哪几组)的差异有显著意义, 仍需进行两组之间的比较才能确定。

卡方检验较常见的是四格表资料的检验, 即两个组(如给药组和对照组), 每组有两种结果(如死亡和生存)的比较。其计算公式如下:

$$\chi^2 = \frac{(ad - bc)^2 n}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

其中, abcd 分别为四格表中的四个数值, n 为总和。

自由度 $n' = (\text{行数} - 1) \times (\text{列数} - 1)$ 。

通过自由度, 查附录 1 可得 $\chi_{0.05}^2$ 和 $\chi_{0.01}^2$ 。如计算得到的 $\chi^2 > \chi_{0.05}^2$ 或 $\chi^2 > \chi_{0.01}^2$, 则 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 两组差异有显著或极显著意义。

例如: 使用药物后死亡与生存资料表 1-4, 问所用药物是否有保护作用?

表 1-4 某动物使用某药物后的结果

组别	死亡数	生存数	合计
对照组	18(a)	42(b)	60(a+b)
治疗组	16(c)	84(d)	100(c+d)
合计	34(a+c)	126(b+d)	160(n)

$$\begin{aligned}\chi^2 &= \frac{(ad - bc)^2 n}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)} \\ &= \frac{(18 \times 84 - 42 \times 16)^2 \times 160}{60 \times 100 \times 34 \times 126} = 4.392\end{aligned}$$

自由度 = (行数 - 1) × (列数 - 1) = (2 - 1) × (2 - 1) = 1。查表得 $\chi^2_{(1)0.05} = 3.841$, $\chi^2_{(1)0.01} = 6.635$ 。本例的 $\chi^2 = 4.392 > \chi^2_{(1)0.05}$, 所以 $P < 0.05$ 。表明两组死亡率有显著差别, 治疗组死亡率小于对照组, 药物有保护作用。

四格表中, 任意一格的理论频数等于其行、列合计值乘积与总计数之比。如 a 格的理论频数 = $(a+b)(a+c)/n$ 。当 $n > 40$, 其中有理论数大于 1 但小于 5 时, 需要用校正 χ^2 检验。计算公式如下:

$$\chi^2 = \frac{\left(|ad - bc| - \frac{n}{2} \right)^2 n}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

例如, 表 1-5 中的数据, 问治疗组与对照组疗效是否有显著差异?

表 1-5 治疗组与对照组疗效比较

组别	死亡数	生存数	合计
对照组	5(a)	20(b)	25(a+b)
治疗组	15(c)	10(d)	25(c+d)
合计	20(a+c)	30(b+d)	50(n)

$$\chi^2 = \frac{\left(|5 \times 10 - 20 \times 15| - \frac{50}{2} \right)^2 \times 50}{25 \times 25 \times 20 \times 30}$$

$$= 6.75$$

自由度 = (2 - 1) × (2 - 1) = 1, 查表得 $\chi^2_{(1)0.05} = 3.841$, $\chi^2_{(1)0.01} = 6.635$ 。本例的 $\chi^2 = 6.75 > \chi^2_{(1)0.01}$, 所以 $P < 0.01$ 。表明两组之间的疗效有非常显著的差异。

四格表有理论数小于 5 而且总观察数小于 40 时, 或者有理论数小于 1 时, 用上述四格表校正 χ^2 检验均不合适, 应该用直接计算概率法来作判断。

$$\text{概率 } P = \frac{(a+b)! (c+d)! (a+c)! (b+d)!}{a! b! c! d! n!}$$

! 为阶乘符号。计算得到的是概率值。

4. 进行显著性检验时应注意的问题

(1) 可比性: 进行显著性检验时, 应考虑到被比较样本的可比性, 除了对比的主要因素(如一组给药组, 另一组不给药)外, 其他能影响观察指标的所有条件(如感染的轻重程度、动物的窝别、性别、体重等)应尽可能相同。

(2) 已发现均数之差无实际意义时, 一般不必再进行显著性检验。

(3) 根据资料特点和分析目的选用适当的显著性检验方法。须注意每种显著性检验方法的适用条件。例如检验两样本均数的差别应用 t 检验, 其条件是资料呈常态分布或近似常态分布。

(章蕴毅)

第二篇 实 验

实验1 给药途径对药物作用的影响

【目的与原理】

不同给药途径可影响药物的作用。依据药效出现时间从快到慢,其顺序一般为:静脉注射、肌肉注射、皮下注射、口服。就作用性质而言,同一药物随着给药途径改变将会产生不同的药效。如硫酸镁口服具有导泻和利胆作用,注射具有抗惊厥和降压作用,外用则具有消炎和镇痛作用。

【材料】

小鼠5只;电子秤;注射器(1ml)及针头3支;小鼠灌胃器2支;鼠笼;0.5%异戊巴比妥钠(amobarbital sodium)溶液;10%硫酸镁(magnesium sulfate)溶液。

【实验方法】

1. 取小鼠3只,称重并编号,放入鼠笼内,观察正常活动、翻正反射及呼吸情况。然后以0.5%异戊巴比妥钠溶液0.1ml/10g体重分别给药:甲鼠灌胃;乙鼠皮下注射;丙鼠腹腔注射。观察并记录各鼠翻正反射消失时间及呼吸抑制情况,将结果填入表1-1,比较分析不同给药途径对药物作用的影响。

表1-1 结果记录表

鼠号	体重	用量	给药途径	翻正反射消失时间	呼吸抑制程度
----	----	----	------	----------	--------

2. 取小鼠2只,称重并编号,放入鼠笼内,观察正常活动、排便、肌张力及呼吸情况。然后以10%硫酸镁溶液0.2ml/10g体重分别给药:甲鼠灌胃;乙鼠腹腔注射。观察并记录各鼠给药后情况,将结果填入表1-2,比较分析不同给药途径对药物作用的影响。

表1-2 结果记录表

鼠号	体重	用量	给药途径	排便	肌张力	呼吸
----	----	----	------	----	-----	----