

药理学实验指导

主编 王学娅



東北大學出版社
Northeastern University Press

药理学实验指导

主 编 王学娅

副主编 张 何 宋光熠 刘文艳

编 委 戴力明 韩 健

东北大学出版社

• 沈 阳 •

© 王学娅 2006

图书在版编目 (CIP) 数据

药理学实验指导 / 王学娅主编. — 沈阳 : 东北大学出版社, 2006.2

ISBN 7-81102-238-9

I. 药… II. 王… III. 药理学—实验—高等学校; 技术学校—教学参考资料
IV. R965.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 013635 号

出版者: 东北大学出版社

地址: 沈阳市和平区文化路 3 号巷 11 号

邮编: 110004

电话: 024—83687331 (市场部) 83680267 (社务室)

传真: 024—83680180 (市场部) 83680265 (社务室)

E-mail: neuph @ neupress.com

http: // www. neupress. com

印刷者: 沈阳农业大学印刷厂

发行者: 东北大学出版社

幅面尺寸: 184mm × 260mm

印 张: 6.5

字 数: 171 千字

出版时间: 2006 年 2 月第 1 版

印刷时间: 2006 年 2 月第 1 次印刷

责任编辑: 刘乃义 文 辰

封面设计: 唐敏智

责任校对: 文 浩

责任出版: 杨华宁

定 价: 18.00 元

前 言

为满足国家对中医药专业高级技术应用型人才的需要,适应中医药高职高专教育改革和发展的要求,培养具有较广泛基础理论知识,又掌握高级职业技术的专门人才,以适应飞速发展的中医药事业的需要,仅完成药理学理论课的学习是远远不够的,还必须通过药理学实验课的学习,加强药理学基本技能的培养,获得药理学的科学研究方法,掌握药理学实验的基本技术,培养学生独立思考、科学分析、理论联系实际和解决实际问题的能力,为将来从事医药事业和新药研究打下坚实的基础。为此,我们组织编写了这本适应高职高专教学的《药理学实验指导》。

在编写过程中,吸收了全国新版药理学实验指导教材的精华,借鉴了各专业多版本教材的优点和长处。教材结合中医药高职高专的教学特点,紧扣中医药高职高专的培养目标,突出提高学生的动手能力,以“必须、够用为度”。既坚持基本操作能力的培养,又适当拓展实验知识面,还增加了有较先进药理学实验仪器使用能力的实际应用。教材在编写过程中注重结合实际,涵盖执业技能考试要求,让学生学得会、用得上,以应用为主旨,以就业为导向,能切实解决工作中的实际问题和适应将来就业的需要,适用于中医药高职高专各专业的需求。

本书分四大部分。

第一部分为药理学实验设计的基本知识。包括实验设计的基本原则、实验研究剂量换算方法、实验记录的格式、实验报告的书写方法、实验资料常用的统计方法等。

第二部分为药理学实验动物基本技术。包括实验动物的选择、分组、标记、抓取与固定、采血和给药方法等。

第三部分为药理学实验主要仪器。重点介绍微机生物信号采集仪的系统技术特点、基本功能和使用方法。

第四部分为药理学实验。包括总论部分实验和各论部分实验,它们都是根据药理学教学内容加以设计和精选的、可行性较大、具有代表性的实验。

为达到教学目的, 要求同学们做到以下几点:

1. 实验前做好预习, 仔细阅读实验内容, 充分了解实验目的、要求、方法及操作步骤, 结合实验内容复习相关理论知识。

2. 实验中严格按操作指导进行, 仔细观察实验现象, 准确做好实验记录, 节约实验药品及材料, 保持实验室内整洁和安静。

3. 实验结束后, 认真整理实验记录, 对实验现象进行深入思考和分析, 认真做出结论, 写好实验报告; 整理清洗实验器材, 如有损坏或丢失, 立即报告指导教师, 做好实验室的清洁卫生工作。

因时间和水平有限, 书中难免有不足之处, 恳请广大师生批评指正, 对此表示衷心的感谢。

编者

2006年1月18日

目 录

第一章 药理学实验设计的基本知识	1
第一节 实验设计的基本原则.....	1
第二节 药理实验研究剂量换算方法.....	2
第三节 实验记录的格式.....	2
第四节 实验结果的整理与实验报告的书写.....	3
第五节 药理学实验资料常用的统计方法.....	4
第二章 药理学实验动物基本技术	11
第一节 实验动物的选择	11
第二节 实验动物的分组	13
第三节 实验动物的编号	14
第四节 实验动物的抓取与固定	15
第五节 实验动物麻醉药的选择	16
第六节 实验动物的给药途径和方法	17
第七节 实验动物的采血方法	19
第八节 实验动物的处死方法	21
第三章 药理学实验主要仪器	23
第一节 微机生物信号采集处理系统	23
第二节 微机生物信号采集处理系统操作	25
第三节 微机生物信号采集处理系统参数设置	26
第四节 微机生物信号采集处理系统使用	27
第四章 药理学实验	51
实验 1 药理学总论部分实验	51
1-1 不同剂型对药物作用的影响	51
1-2 不同给药途径对药物效应的影响	53
1-3 不同给药途径对药理作用的影响	54
1-4 肝药酶抑制剂对戊巴比妥钠催眠作用的影响	55
1-5 药物理化性质对药物作用的影响	56
实验 2 传出神经系统药物实验	58

2-1	普萘洛尔对小鼠耐缺氧实验	58
2-2	人参对小鼠耐常压缺氧的作用	59
2-3	烟碱的毒性实验	60
2-4	传出神经系统药物对瞳孔的作用	61
2-5	有机磷酸酯类中毒及其解救	62
2-6	传出神经系统药物对离体肠管平滑肌的作用	63
2-7	传出神经系统药物对家兔血压的影响	65
实验 3	中枢神经系统药物实验	67
3-1	安定对动物自发活动的影响	67
3-2	氯丙嗪的安定作用	68
3-3	苯巴比妥钠的抗惊厥作用	69
3-4	天麻对小鼠入睡的影响	71
3-5	度冷丁的镇痛作用	72
3-6	延胡索对小鼠的镇痛作用	74
实验 4	心血管系统药理实验	75
4-1	西地兰对豚鼠心电图的影响	75
4-2	硝酸甘油的扩血管作用	76
4-3	几种药物对离体蛙心的影响	77
4-4	药物的抗心律失常作用	80
实验 5	利尿药实验	83
5-1	速尿对家兔的利尿作用	83
5-2	氢氯噻嗪对小鼠的利尿作用	85
实验 6	皮质激素类抗炎药实验	86
6-1	药物对大鼠足跖浮肿的作用	86
6-2	氢化可的松的抗炎作用	88
实验 7	抗菌药类实验	89
	链霉素的毒性反应与氯化钙的对抗作用	89
实验 8	其他类药理实验	90
8-1	大黄对小白鼠小肠推进运动的影响	90
8-2	桔梗的止咳作用	91
8-3	红花对小鼠出血时间的影响	92
8-4	药物对大鼠子宫的作用	93
8-5	药物半数致死量 (LD ₅₀) 的测定	94
实验 9	商品药的上柜与销售(药店见习)	95
附 录		96

第一章 药理学实验设计的基本知识

第一节 实验设计的基本原则

药理研究的目的是通过动物实验来认识药物作用的特点和规律,为开发新药和评价药物提供科学依据。由于生物个体之间存在着差异性,且实验过程也存在系统误差和操作误差,因此要取得精确可靠的实验结论,必须进行实验设计。进行实验设计必须遵循三条原则,即重复、对照、随机。

一、重 复

重复是保证实验结果可靠的重要措施之一。重复具有两方面的含义,即重现性和重复性。重现性就是精确可靠的实验结果,应能在相同条件下重复出现。重复性就是实验要有足够的次数或例数。由于个体差异和实验误差,仅根据一次实验或少数样本所得的结果,往往难以得出结论。在适当的范围内重复愈多,则愈可靠。究竟用多少动物或多大样本进行药理实验,是研究者遇到的首要问题。样本过少不行,过多则增加实际工作中的困难,也不符合经济的原则,而且单纯加大样本量也不能完全排除偏差,所以,在实验设计时对样本大小的估计应在保证结论可靠的条件下确定最小的例数。

二、对 照

在实验研究中,为消除个体差异和各种无关因素对实验结果的影响,须设对照组。对照应符合可比原则,除实验药物或处理因素的差别外,其他一切条件(包括实验对象的种属、年龄、性别、体重和实验方法、仪器、环境、时间等)应力求一致,这样才能从实验组与对照组比较中得出药物作用的准确结论。对照一般可分为如下两类。

① 自身对照。即在同一个体观察给药前后某种观测指标的变化,或者两种药物前后交叉比较,这样可以减少个体差异的影响。

② 组间对照。即在实验中设若干平行组进行比较,或分不给药物(或不加处理)的空白对照组及已知药物的标准品对照组。前者最常用,后者便于与已知药物比较,并可检验实验方法及技术的可靠性。

三、随 机

随机分组的目的是使样本的差异平均分配到各组,而不受实验者主观因素或其他偏性误差的影响。例如,动物分组时先被抓到的往往是不活泼者,后抓到的是活泼者,前者分入同一组,后者分入另一组,这样得出的结论是不可靠的。随机分组的方法很多,如原始的抽签法和目前最常用的随机数目表法等都可减少实验者主观因素及其他因素所造成的实验误差。

第二节 药理实验研究剂量换算方法

一、给药量的确定

在研究药物的药理效应时, 给药量的确定至关重要。剂量过小, 无作用或作用不明显; 剂量过大, 又易引起中毒。通常应遵循以下原则。

① 一般先进行小鼠等急性毒性试验, 找出中毒量或致死量, 常用其 $\frac{1}{10} \sim \frac{1}{5}$ 为药效学试验剂量。

② 初步确定剂量后, 如药物作用不显著, 也无明显中毒表现, 加大剂量再试; 如已出现明显药效和中毒症状, 应减小剂量再试。在新药研究中, 常在初步确定剂量的上、下或最小有效量与最小中毒量之间设 2~5 个实验组同时进行。

二、给药量的计算

给药量一般按 mg/kg 体重表示, 实验时必须换算出 ml/kg 体重, 以便给药。

例 1 体重 2.8kg 的家兔, 用 3% 戊巴比妥钠(35mg/kg) 静脉麻醉应给多少毫升药液?

按家兔 35mg/kg 给药计算, 3% 戊巴比妥钠每千克应给药多少(X_1), 再求 2.8kg 的家兔共需多少(X_2)。

① 可先求出:

$$X_1(\text{ml/kg}) = 35(\text{mg/kg}) \times [100(\text{ml})/3\ 000(\text{mg})] = 1.17(\text{ml/kg})。$$

② 体重 2.8kg 的家兔应给:

$$X_2(\text{ml}) = 1.17(\text{ml/kg}) \times 2.8(\text{kg}) = 3.3(\text{ml})。$$

例 2 0.1% 盐酸吗啡(15mg/kg) 腹腔注射镇痛实验, 体重 21g 小鼠应给多少毫升药液?

① 先求每克体重应给:

$$X_1(\text{ml/g}) = [15(\text{mg})/1\ 000(\text{g})] \times [100(\text{ml})/100(\text{mg})] = 0.015(\text{ml/g})。$$

② 再求出体重 21g 应给:

$$X_2(\text{ml}) = 0.015(\text{ml/g}) \times 21(\text{g}) = 0.315(\text{ml})。$$

第三节 实验记录的格式

实验前认真研究将要进行实验的目的, 药物浓度、给药剂量、动物种类、分组、体重、性别, 观察指标, 实验条件, 操作步骤等要求。为了保证实验有条理、按秩序、不遗漏重要观察项目, 并有利于结果的统计分析, 在实验前必须拟定实验记录内容。

实验记录一般应包括:

- ① 动物的种类、体重、性别、编号、分组情况。
- ② 实验药物的来源、种类、批号、剂型、浓度、剂量、给药途径。
- ③ 观察指标的变化、实验进程、步骤及操作方法的详细记录和原始记录描记图纸的收集保存。

常用实验如镇痛实验结果记录见表 1-1。

表 1-1 镇痛实验结果记录表

组别	标号	体重(g)	给药量(ml)	给药前痛 阈值(s)	给药后痛阈值及提高率(%)					
					15min	%	30min	%	45min	%
对照组										
实验组										

第四节 实验结果的整理与实验报告的书写

整理实验结果和撰写实验报告是对整个实验的总结。通过认真总结, 可将在实验过程中获得的感性认识提升到理性认识, 从而巩固所学的理论知识。实验报告中应明确指出已经取得的成果、尚未解决的问题以及工作中的优缺点。实验报告是向他人提供研究经验及以后参考的重要资料, 应当充分认识撰写实验报告在培养科学素养中的重要性。

一、实验结果的整理

实验结束后, 应对原始记录进行分析和整理。药理学实验结果有计量资料(如血压值、心率、瞳孔大小、体温变化、生化测定数据和作用时间等)、计数资料(如阳性反应或阴性反应数、死亡数存活数等)、记录曲线、心电图、脑电图、照片和现象记录等。凡属计量资料, 均应以正确的单位和数值作定量表示, 不能笼统提示。必要时应对其进行统计处理, 以保证结论的可靠性。为使结果一目了然, 尽可能将以上有关数据制成一表格或绘成统计图, 以便进行直观地阅读分析和比较。制作表格时, 一般将观察项目列在表内左侧, 由上而下逐项填写, 而将实验中出现的变化, 按照时间顺序, 由左至右逐格填写。绘图时, 应在坐标的纵坐标和横坐标上列出数值刻度, 表明单位, 一般以纵坐标表示反应强度, 横坐标表示作用时间或药物剂量, 并在图的下方注明实验条件, 如果实验的作用不是连续性变化, 也可用柱形图表示。凡有曲线记录的实验, 应及时在曲线图上标注说明。对实验记录中较长的曲线记录, 可选取出现典型变化的段落, 剪下后粘贴保存。这里需要注意的是, 必须以客观的态度来进行裁剪工作, 不论预期内的结果或预期外的结果, 均应保留原始记录。

二、实验报告的书写

实验报告要求结构完整、条理分明、文字简练、书写工整, 措辞应注意科学性和逻辑性。

实验报告一般包括如下几项内容。

① 实验题目: 言简意赅, 20 字以内。

② 实验目的: 实验的意义所在, 要做什么, 用什么方法, 达到什么目的。

③ 实验动物: 种类、性别、体重、数量。

④ 实验药品: 名称、浓度、剂量。

⑤ 实验仪器: 主要使用仪器, 也包括手术器材、玻璃器材等的数量、条件。

⑥ 实验方法: 要详细、步骤清晰, 使别人能看懂、能重复。如果实验方法临时有变更, 或者由于操作技术方面的原因影响观察结果时, 应作简要说明。

⑦ 实验结果：可用文字，也可用表格或图示多种方法表示，是实验报告中重要的部分，需保证其真实性。应随时将实验中观察到的现象在记录本上记录，实验告一段落后立即进行整理。不可单凭记忆或将原始记录搁置很久之后再整理，这样易致实验结果遗漏或错误。实验报告上一般只列经过归纳、整理的结果，但原始记录也应保存备查。

⑧ 讨论：最能显示同学学习水平的一项，应针对实验中所观察到的现象与结果，联系课堂讲授的理论知识，进行分析和讨论。要根据实验内容详细讨论实验结果说明了什么，是否达到了实验目的要求和观察到了设计的现象；各项指标说明了哪些问题；实验成功或失败的原因，应吸取的经验教训。讨论不可脱离实验结果空谈理论，讨论中要判断实验中出现的是否为与理论相一致的预期结果，如果属于非预期结果，则应分析其产生的可能原因。

⑨ 结论：用简短的一两句话，总结实验是否达到预期的目的，实验观察药物作用的结果有无预期的药理作用。实验结论是从实验结果归纳而得出的概括性的判断，也是对本实验所能说明的问题、验证的概念或理论的简要总结。在实验结论中不必重述具体实验结果，未获实验证实的理论分析不能写入实验结论中。

第五节 药理学实验资料常用的统计方法

由于生物性差异的关系，药理实验结果常常参差不齐，不可能用简单的算术方法得出恰当的结论，必须应用统计学处理。根据情况和需要求出均数、标准差、标准误、可信限等进行显著性检验，分析各种差异，从中取得正确的实验结论。

一、统计学中常用数据及意义

(1) 均数(\bar{X})

均数又称平均数或算术均数，是统计学中对计量资料最常用最基本的指标，它表明全体变量值的平均水平和集中趋势，是各变量值总和的平均值。

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \cdots + X_n}{n} = \frac{\sum X}{n}$$

式中 \bar{X} ——均数；

$X_1, X_2, X_3, \cdots, X_n$ ——变量值；

$\sum X$ ——全部变量值总和；

n ——全部变量值的个数。

(2) 标准差(S)

标准差也称变异度，是反映一组观测数值的离散度。

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

其中， $\sum (X - \bar{X})^2$ 是各个观测值和均数差数的平方和； $n - 1$ 为自由度，一般可用 n' 表示。

$\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}$ 称为方差，用 S^2 表示，是衡量离散度的重要指标。

(3) 标准误($S_{\bar{X}}$)

标准误是说明样本均数的离散度。标准误愈小，说明样本均数与总体均数愈接近，用样

本均数估计总体均数的可靠性愈大。

$$S_{\bar{X}} = \frac{S}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{S^2}{n}} = \sqrt{\frac{\sum X^2 - (\sum X)^2}{n(n-1)}}$$

标准误主要用于由样本均数推算总体均数，测算样本间的差异显著性和计算可信限。

(4) 可信限

可信限也称可信区间，用来衡量实验结果的精密性，是在一定概率水平上进行估计的，常用的有 95% 可信限和 99% 可信限。

$$95\% \text{ 可信限} \quad m = \bar{X} \pm t_{0.05} \cdot S_{\bar{X}}$$

$$99\% \text{ 可信限} \quad m = \bar{X} \pm t_{0.01} \cdot S_{\bar{X}}$$

是指总体均数在该范围内的可能性为 95% 或 99%，不在该范围的可能性为 5% 或 1%。

(5) *t* 值检验

t 值检验也称两组均数的显著性检验，主要用于两组间均数(\bar{X})，标准差(*S*)，LD₅₀，ED₅₀，回归系数，以及自身对照或配对对照的差值均数的显著性测验。

配对均数 *t* 检验 \bar{X} ：

$$t = \frac{|\bar{X} - 0|}{S_{\bar{X}}} = \frac{\bar{X}}{S_{\bar{X}}}$$

其中 \bar{X} 为差数的均数， $S_{\bar{X}}$ 为差数均数的标准误，0 为无效假设。

两样本均数 *t* 检验：

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_2} + \frac{S_2^2}{n_1}}}$$

$$\text{其中 } S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} = \sqrt{S^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}; S^2 = \frac{\sum X_1^2 - \frac{(\sum X_1)^2}{n_1} + \sum X_2^2 - \frac{(\sum X_2)^2}{n_2}}{n_1 + n_2 - 2}$$

t 检验的意义：两均数差值比总标准误大多少倍，*t* 值就是这个倍数。*t* 值越大，表示差值的统计意义越大，而 *p* 值越小。附表 1 列出了对应于 *p* = 0.01 或 *p* = 0.05 的 *t* 值。比较计算所得的 *t* 值与查表所得的 *t* 值，就可判断 *p* 的大小，得出 *p* > 0.05，*p* ≤ 0.05 或 *p* ≤ 0.01 的统计结论。

二、实验资料的统计处理

按观察资料的性质，实验资料可分为计量资料和计数资料两类。

(一) 计量资料

计量资料的数据可用计量数字的多少表示，如心率(次/min)，血压(mmHg)，尿量(l/d)，睡眠时间(min, h)，电刺激阈值(mV)等。如尿量的多少、心率的快慢、血压的升降等。根据资料的来源不同检验方法略有差异。

(1) 成对数据平均数差异显著性检验

这是对同一批实验对象经实验因素处理前后(或称配对)的差异进行比较，如使用镇痛药前后小鼠痛阈值(s)差值平均数的显著性检验，高血压治疗前后血压差值均数的显著性检验等。

检验步骤如下:

① 列表求出用药前后痛阈值的差值(X)、差值总和($\sum X$)和差值平方和($\sum X^2$)。

② 计算: 差值平均数

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n}$$

平均差数标准误

$$S_{\bar{X}} = \frac{S}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{S^2}{n}} = \sqrt{\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}{n(n-1)}}$$

③ 差值显著性检验

• 无效假设。即假设用药前后观察指标无明显差别, 则差值平均数=0, 求 t 值。

$$t = \frac{|\bar{X} - 0|}{S_{\bar{X}}}$$

• 查 t 值显著性测验表。自由度 = $n - 1$, n 为实验观察例数。

结果显著性判断:

当 $t \leq t_{0.05}$, 则 $p \geq 0.05$, 无效假设概率 > 5%, 假设成立, 差异不显著;

当 $t \geq t_{0.05}$, 则 $p \leq 0.05$, 无效假设概率 < 5%, 假设不成立, 差异显著;

当 $t \geq t_{0.01}$, 则 $p \leq 0.01$, 无效假设概率 < 1%, 假设不成立, 差异非常显著。

例 1 10 只大鼠用药前后血浆胆固醇含量见表 1-2, 请判定此药是否有降低血浆胆固醇作用, 即计算两者的均数显著性差异。

① 列表。

表 1-2 用药前后大鼠血浆胆固醇(mg%)

动物编号(No)	血浆胆固醇(mg%)		差数 X	X^2
	用药前	用药后		
1	57.0	58.9	-1.9	3.61
2	94.0	51.0	43.0	1 849.00
3	90.0	60.0	30.0	900.00
4	69.0	55.0	14.0	196.00
5	79.5	69.0	10.5	110.25
6	99.0	64.5	34.5	1 190.25
7	101.0	54.5	46.5	2 162.25
8	107.0	49.0	58.0	3 364.00
9	88.0	43.5	44.5	1 980.25
10	101.0	56.0	45.0	2 025.00
$n = 10$			$\sum X = 324.1$	$\sum X^2 = 13 780.36$

② 计算。

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = \frac{324.1}{10} = 32.41$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}{n-1}} = \sqrt{\frac{13 780.36 - \frac{(324.1)^2}{10}}{10-1}} = 19.08$$

$$S_{\bar{X}} = \frac{S}{\sqrt{n}} = \frac{19.08}{\sqrt{10}} = 6.03$$

或

$$S_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{13780.36 - \frac{(324.1)^2}{10}}{10 \times (10-1)}} = 6.03$$

假设给药前后血浆胆固醇含量无差异(差值均数=0), 则

$$t = \frac{\bar{X}}{S_{\bar{X}}} = \frac{32.41}{6.03} = 5.375$$

根据其自由度 $10-1=9$, 查 t 值表(附表1), 当 $p=0.01$ 时 t 值为 3.250, 因为 $5.375 > 3.250$, 故应 $p < 0.01$, 假设概率不成立, 即表明用药前后大鼠血浆胆固醇的平均含量有非常显著的差别。

结论: 差异非常显著, 所用药物有明显降低大鼠血浆胆固醇的作用。

(2) 两个样本平均数的显著性检验(组间比较)

它是药理实验中常用的方法之一, 能比较两种处理因素引起同一指标的变化是否有差异。样本来自同一总体, 按组间一致原则分为两组, 彼此除实验因素不同外其他条件完全一致, 动物数尽量相等(也可不等)。

检验步骤:

① 列表, 分别求出每组样本的 $\bar{X}_1, \sum X_1, \sum X_1^2, (\sum X_1)^2; \bar{X}_2, \sum X_2, \sum X_2^2, (\sum X_2)^2$ 。

② 求合并标准差

$$S^2 = \frac{\sum X_1^2 - \frac{(\sum X_1)^2}{n_1} + \sum X_2^2 - \frac{(\sum X_2)^2}{n_2}}{n_1 + n_2 - 2}$$

③ 差值标准误

$$S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} = \sqrt{\frac{S^2 \cdot (n_1 + n_2)}{n_1 \times n_2}}$$

④ 求 t 值

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}}$$

⑤ 查 t 值表(附表1): 自由度 = $n_1 + n_2 - 2$ 。

显著性判断: $t < t_{0.05}, p > 0.05$, 差异不显著;

$t > t_{0.05}, p < 0.05$, 差异显著;

$t > t_{0.01}, p < 0.01$, 差异非常显著。

例2 细辛油对塑料环所致肉芽肿重量(g)的影响数据见表1-3, 判定细辛油是否有扩肉芽组织增生作用?

① 列表, 求出各组的 $\bar{X}, \sum X, \sum X^2, (\sum X)^2$ 及 $\frac{(\sum X)^2}{n}$ 。

$$\bar{X}_1 = 0.71, \sum X_1 = 4.27, \sum X_1^2 = 3.07, (\sum X_1)^2 = 18.24, \frac{(\sum X_1)^2}{n_1} = 3.04$$

$$\bar{X}_2 = 0.56, \quad \Sigma X_2 = 3.35, \quad \Sigma X_2^2 = 1.89, \quad (\Sigma X_2)^2 = 11.16, \quad \frac{(\Sigma X_2)^2}{n_2} = 1.86$$

表 1-3 细辛油对塑料环所致肉芽肿重量(g)的影响

组 别	动物编号	肉芽组织重量(g)	计 算 值
对 照 组	1	0.75	$n_1 = 6$
	2	0.69	$\bar{X}_1 = 0.71166$
	3	0.64	$\Sigma X_1 = 4.27$
	4	0.82	$\Sigma X_1^2 = 3.0735$
	5	0.77	$(\Sigma X_1)^2 = 18.2329$
	6	0.60	$\frac{(\Sigma X_1)^2}{n_1} = 3.0388$
实 验 组	1	0.54	$n_2 = 6$
	2	0.67	$\bar{X}_2 = 0.55666$
	3	0.48	$\Sigma X_2 = 3.347$
	4	0.53	$\Sigma X_2^2 = 1.886$
	5	0.50	$(\Sigma X_2)^2 = 11.1556$
	6	0.62	$\frac{(\Sigma X_2)^2}{n_2} = 1.86$

$$\textcircled{2} S^2 = \frac{3.07 - 3.04 + 1.89 - 1.86}{6 + 6 - 2} = 0.006$$

$$\textcircled{3} S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} = \sqrt{0.006^2 \times \frac{6+6}{6 \times 6}} = 0.045$$

$$\textcircled{4} t = \frac{|0.71 - 0.56|}{0.045} = 3.33$$

⑤ 查 t 值表(见附表 1): 自由度 = 6 + 6 - 2 = 10, $t_{0.05} = 2.228$, $t_{0.01} = 3.196$, $t > t_{0.01}$, $p < 0.01$, 差异非常显著, 细辛油有抗肉芽组织增生作用。

(二) 计数资料(相对数)的显著性检验

计数资料是用不同性质反应例数的多少来表示的数据, 通过计数阳性或阴性反应的动物数而取得, 如死亡与否、痊愈与否、惊厥与否等。通常以 χ^2 (卡方)法进行显著性检验。

(1) 四格表法

又称 2×2 , 是最简单的 χ^2 检验法, 用于检验两个百分率间的差异。公式为

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

例 3 某医院用肝素治疗心肌梗塞, 其结果与一般治疗的结果比较见表 1-4。

表 1-4

组 别	例 数		合 计
	生	死	
一般治疗	74(a)	51(b)	125(a+b)
肝素治疗	56(c)	19(d)	75(c+d)
合 计	130(a+c)	70(b+d)	200(a+b+c+d)

将各值代入公式, 得

$$\chi^2 = \frac{(a+b+c+d) \times (ad-bc)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)} = \frac{200 \times (74 \times 19 - 51 \times 56)^2}{125 \times 75 \times 130 \times 70} = 4.93$$

结果查 χ^2 表(见附表 2):

$$\text{自由度 } n' = (\text{行数} - 1)(\text{列数} - 1) = (2 - 1) \times (2 - 1) = 1$$

$$\chi_{0.05}^2 = 3.841, \chi_{0.01}^2 = 6.635$$

本例 $\chi^2 = 4.93 > 3.84$, $4.93 < 6.635$, 故 $p < 0.05$ 。

因此, 可以证明两种治疗方法差异显著, 即肝素治疗急性心肌梗塞疗效较一般疗法好。

(2) χ^2 检验

可用于检验两个或多个百分率之间的差异。

步骤如下:

① 首先假设两组差异是由机会造成的, 即两组阳性率和阴性率完全相同(假设无差异)。

② 根据假设, 从两组总观察数及总阳性数求得共同阳性率(假设阳性率), 并由此推算出各组阳性和阴性动物数理论值(T)。

③ 求算理论值(T)和实验观察值(A)之间的差异。

④ 求 χ^2 值:

$$\text{大样本} \quad \chi^2 = \sum \frac{(A - T)^2}{T}$$

$$\text{小样本时用校正} \quad \chi^2 = \sum \frac{(|A - T| - 0.5)^2}{T}$$

使用校正公式的条件: ④自由度为 1 时; ⑤任何一个观察值都小于 5 时; ⑥需要求得更准确的概率。

⑦查 χ^2 值表(见附表 2), 判断假设是否成立。自由度 = (行数 - 1)(列数 - 1), 横为行、竖为列。

例 4 镇痛药对致痛剂所致小鼠扭体反应的影响, 吗啡组 17 只动物 4 只出现扭体反应, 阳性率为 23.5%; 对照组 15 只动物 11 只出现扭体反应, 阳性率为 73.3%。判断两组扭体反应阳性率是否有差异?

检验步骤:

① 列表, 并假设两组阳性率和阴性率无差异, 即两组阳性率相同。求出阳性率, 结果见表 1-5。

$$\text{两组共同阳性率} = \frac{\text{两组扭体总阳性}}{\text{两组动物总数}} = \frac{11 + 4}{15 + 17} = 46.9\%$$

表 1-5

组 别	扭体反应		合计	阳性百分率
	阳性	阴性		
对 照 组	11	4	15	73.3(实测)
吗啡镇痛组	4	13	17	23.5(实测)
总 计	15	17	32	46.9(假设共同)

② 根据假设求出两组扭体阳性和阴性动物数理论值(T):

对照组阳性动物数 = $15 \times 46.9\% = 7$, 对照组阴性动物数 = $15 - 7 = 8$;

吗啡组阳性动物数 = $17 \times 46.9\% = 8$, 吗啡组阴性动物数 = $17 - 8 = 9$ 。

③ 用实验观察值(A) - 理论值(T), 并列表求出 χ^2 值或校正 χ^2 值, 见表 1-6。

表 1-6

组 别	A	T	A - T	$\frac{(A + T - 0.5)^2}{T}$	$\frac{(A - T)^2}{T}$
吗啡组阳性数	4	8	-4	1.531	2.000
吗啡组阴性数	13	9	4	1.361	1.777
对照组阳性数	11	7	4	1.750	2.286
对照组阴性数	4	8	-4	1.531	2.000
总 计	32	32	0	$\chi^2 = 6.1735$	$\chi^2 = 8.063$

④ 查 χ^2 值判断假设是否成立: 自由度 = $(2 - 1)(2 - 1) = 1$, 查表(见附表 2)。

$$\chi_{0.05}^2 = 3.84, \chi_{0.01}^2 = 6.63$$

由于实测 χ^2 值 $> \chi_{0.01}^2$, 因此 $p < 0.01$, 两组阳性率差异显著, 药物有镇痛作用。