

· 药理 ·

灯盏细辛-赤芍组方配比及给药途径的脑保护作用

陆苑, 张洁, 兰燕宇, 李勇军, 董莉, 黄勇, 王永林*

(贵阳医学院药学院, 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:研究灯盏细辛与赤芍不同组方配比及给药途径对大鼠局灶性脑缺血的脑保护作用。方法:线栓法制作大鼠中动脉缺血再灌注损伤模型。SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性药物组、灯盏细辛与赤芍不同组方配比给药组。各组动物按各自不同的途径(iv, ig)给药,在预定时间测定神经行为学、脑梗死率等 7 个关键生物学指标。结果采用析因实验设计及分析方法(2×4),通过对各因素(途径、配方)下各个水平(4 个不同配比如方)的全部组合进行实验。用 SPSS 13.0 统计学软件对数据进行分析处理,分析考察因素及其交互作用对指标影响的显著性,同时进一步考察各因素下水平间的显著性差异。结果:60% 赤芍组静脉注射给药,对拟适应症相关的神经行为学、脑梗死率等 7 个关键生物学指标具有统计学意义。结论:60% 赤芍组静脉注射给药,对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠有一定的脑保护作用。

[关键词] 灯盏细辛; 赤芍; 中动脉阻断; 脑缺血再灌注损伤; 脑保护; 析因分析

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0175-05

[doi] 10.11653/syfy2013210175

Effect of Erigerontis Herba and Paeoniae Radix Rubra Compound with Different Proportion and Different Routes of Administration on Brain Damage in Rat Model of Cerebral Focal Ischemia and Reperfusion

LU Yuan, ZHANG Jie, LAN Yan-yu, LI Yong-jun, DONG Li, HUNAG Yong, WANG Yong-lin*

(School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics in Guizhou Province, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Erigerontis Herba and Paeoniae Radix Rubra compound with different proportion and two different routes of administration (intravenous and oral) on brain damage in the rat model of cerebral focal ischemia and reperfusion. **Method:** SD rats were divided into four groups randomly, normal control group, ischemia-reperfusion group, positive control group and different proportion of Erigerontis Herba and Paeoniae Radix Rubra compound group, 16 in each group. The Longa method was used to establish the MCAO model. Paeoniae Radix Rubra compound at different proportion was injected or given by gavage at different time points according to the test design. Based on factorial experiment design and factor analysis method, the whole combinations of each factors (route, proportion) and each levels (four different ratio of formula) were designed. The influence significance of each factors and their interaction for indexes were analyzed. Also, the significant difference of all the levels of every factor was observed. **Result:** The compatibility of Erigerontis Herba and Paeoniae Radix Rubra at a ratio of 1:1.5 was found, which could obviously improve pivotal biological indicator,

[收稿日期] 20130307(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81060335);贵州省社会发展攻关计划(黔科合 SY 字[2011]3033 号);贵州省科学技术基金(黔科合 J 字[2012]2029 号);贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合中药字[2011]5081 号)

[第一作者] 陆苑,在读研究生, Tel:18798090340, E-mail:314521537@qq.com

[通讯作者] *王永林,教授,博士生导师, Tel:0851-6908899, E-mail:gywyl@gmc.edu.cn

and include neuroethology, the rate of cerebral infraction, and so on. **Conclusion:** The compatibility ratio of Erigerontis Herba and Paeoniae Radix Rubra of is 1:1.5, which exerts a protective effect on cerebral ischemia-reperfusion injury.

[**Key words**] Erigerontis Herba; Paeoniae Radix Rubra; MCAO; cerebral ischemia-reperfusion injury; brain protection; factorial analysis

灯盏细辛、赤芍(辛芍)组方来源于民间验方,用于治疗中风瘀血阻络证及急性脑梗死等病症,应用多年,具有较好的临床基础。辛芍组方民间常以汤剂应用,但没有明确的配伍关系。因此,辛芍组方中药物的用量比例和给药途径的不同是否会影响该组方的疗效有待深入系统研究。本课题组前期对辛芍组方有效组分的提取方法、药理活性等进行了研究,研制了注射用辛芍(冻干粉针)^[1-6]。本试验选用大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型,采取 2×4 型析因实验设计方法,就辛芍组方中给药途径(口服、静脉注射)和药物剂量配比(4 个不同配比)进行了深入的研究,观察不同给药途径下方中两药味不同配比对脑缺血大鼠主要生物学指标的影响,为该方的开发应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,体重(250 ~ 350) g,合格证号 SCXK(黔)2002-0001,由贵阳医学院实验动物中心提供。

1.2 受试药物

1.2.1 提取物 灯盏细辛,产地贵州,规格统装。临用前拣选,用水充分洗净根部残留的泥沙(保证重金属和砷盐检验合格),低温干燥。灯盏细辛提取物得率为 1.5%。赤芍产地四川,规格饮片,临用前拣选,用水洗净。赤芍提取物得率为 3.2%。2 种生药材均由贵阳医学院生药教研室龙庆德副教授鉴定。

1.2.2 受试药物制备 按组方配比量取灯盏细辛提取物、赤芍提取物,按实验设计比例加处方比例量甘露醇和适量注射用水,调 pH 7.0 ~ 7.5,活性炭 2 g,加注射用水至规定量,煮沸 30 min,分装,流通蒸汽灭菌 30 min,冷藏 24 h,在无菌条件下过滤后分装,冷冻干燥,即得各组方配比样品。临用前各样品用 0.9% 的氯化钠注射液稀释,备用。

1.3 药品和试剂

1.3.1 阳性药 尼莫地平注射液(尼膜同,德国拜耳公司,批号 BXBSUZ2)。

1.3.2 试剂 水合氯醛(中国医药集团上海化学试剂公司,批号 20040420)。红四氮唑(TTC,上海

精析化工科技有限公司,批号 050113)。超氧化物歧化酶(SOD)活性试剂盒,脂质氧化(MAD)测定试剂盒,一氧化氮合成酶(NOS)活性测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20060609, 20060607, 20060603)。

2 方法

2.1 析因实验设计 以 2 种给药途径(A)和 4 个水平组方配比(B)按照 2×4 型析因实验设计,析因实验设计方案见表 1。

表 1 2×4 型析因设计因素水平

| 水平 | 给药途径 (A) | 赤芍在组方 中的比例, B/% | 剂量/g·kg ⁻¹ | |
|----|-------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| | | | 灯盏细辛 | 赤芍 |
| B1 | ig | 20 | 0.496 | 0.124 |
| B2 | iv | 40 | 0.372 | 0.248 |
| B3 | | 60 | 0.248 | 0.372 |
| B4 | | 80 | 0.124 | 0.496 |

2.2 大鼠栓线法中动脉阻断(MCAO)缺血再灌注实验

2.2.1 尼龙栓子的制备 按文献[7]方法制备尼龙栓子,置于生理盐水中备用。

2.2.2 大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型的复制及分组 随机取体重 250 ~ 350 g 雄性大鼠,按假手术组、模型组(以上两组给予等容积的生理盐水)、阳性药物尼莫地平组(2 mg·kg⁻¹)、灯盏细辛与赤芍不同组方配比给药组分组及给药(见表 2)。各组动物按各自不同的途径分别静脉注射给药或灌胃给药,每天 1 次,连续给药 2 d。给药容积为 10 mL·kg⁻¹,阳性药物注射给药。第 3 天各组动物用 10% 水合氯醛(300 mg·kg⁻¹, ip)麻醉,参照 Longa 等^[8]的栓线法复制大鼠局灶性脑缺血模型。各组大鼠缺血 3 h 后再灌注 21 h。假手术组除不插尼龙线外其余相同。于造模后 3、23 h 各给药 1 次。各组大鼠分为 2 批,第一批检测梗死率、脑含水量及脑指数;第二批检测 SOD, MDA 及 NOS。以上过程均在室温恒定(25 ± 1) °C 条件下进行,以利于评价脑缺血情况。观察对大鼠局灶性脑缺血行为评分、脑含水量和脑梗死面积等的影响。

2.3 观测指标

2.3.1 神经行为评分 待缺血再灌注大鼠麻醉清醒后,进行神经行为学检测。末次给药后 1 h,采用文献方法^[4]单盲法对各组大鼠进行行为学评分。

2.3.2 脑梗死范围测定 取完成神经行为学评分的大鼠,采用文献方法^[9-12]进行脑梗死率测定。

2.3.3 测定脑指数及脑含水量^[10-13] 取脑组织,106 ℃烘干至恒重(约 48 h),即干重,计算脑指数和脑含水量。计算公式:

$$\text{脑指数} = \frac{\text{全脑湿重(g)} - \text{脑干重(g)}}{\text{体重(g)}} \times 100\%$$

$$\text{脑含水量} = \frac{[\text{脑湿重(g)} - \text{脑干重(g)}] / \text{脑湿重(g)}}{\text{全脑湿重(g)}} \times 100\%$$

2.3.4 对脑匀浆 SOD 活性 MDA 及 NOS 的影响 断头取脑,冠状切一刀,切成两片,后片取固定

位置脑片匀浆测定 SOD 活性(化学发光法)、MDA (TBA 比色法)含量及 NOS 活性。

2.4 数据处理^[13-15] 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析,以 LSD 法进行组间 *t* 检验。不同给药途径下各配方组数据调用 SPSS 13.0 统计学软件的“Analyze→General Linear Model→Univariate”功能,对数据分析处理,用功能模块中 SNK 法比较组方配比因素 4 个水平的统计学差异。计数资料采用卡方或秩和检验。*P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

不同给药途径下各配方组对大鼠 MCAO 再灌注神经行为学脑指数、脑含水量、梗死率、脑匀浆 SOD、NOS、MDA 的影响,见表 2~3。

表 2 灯盏细辛-赤芍组方不同配比及给药途径对大鼠 MCAO 再灌注神经行为学脑指数、脑含水量和梗死率的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/g 生药/kg | 神经行为学评分 | 脑指数/% | 脑含水量/% | 脑梗死率/% |
|------|----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 假手术 | - | 1.13 ± 0.83 ²⁾ | 0.45 ± 0.06 ¹⁾ | 70.88 ± 3.66 ²⁾ | 0.00 ± 0.00 ²⁾ |
| 模型 | - | 6.25 ± 1.04 | 0.53 ± 0.06 | 82.57 ± 3.81 | 9.72 ± 1.87 |
| A1B1 | 0.62 | 5.88 ± 1.46 | 0.53 ± 0.03 | 79.72 ± 3.94 | 8.93 ± 1.95 |
| A2B1 | 0.62 | 5.00 ± 1.07 ¹⁾ | 0.48 ± 0.05 ¹⁾ | 78.35 ± 2.91 ¹⁾ | 7.68 ± 1.81 ¹⁾ |
| A1B2 | 0.62 | 5.75 ± 1.04 | 0.49 ± 0.04 | 79.07 ± 2.68 ¹⁾ | 7.90 ± 1.39 ¹⁾ |
| A2B2 | 0.62 | 4.88 ± 1.46 ¹⁾ | 0.48 ± 0.05 ¹⁾ | 75.36 ± 3.05 ²⁾ | 7.22 ± 2.01 ²⁾ |
| A1B3 | 0.62 | 5.00 ± 0.76 ¹⁾ | 0.49 ± 0.04 | 78.37 ± 3.29 ¹⁾ | 7.34 ± 2.05 ¹⁾ |
| A2B3 | 0.62 | 3.63 ± 0.92 ²⁾ | 0.47 ± 0.03 ¹⁾ | 71.30 ± 3.07 ²⁾ | 6.25 ± 1.24 ²⁾ |
| A1B4 | 0.62 | 6.00 ± 1.07 | 0.53 ± 0.05 | 79.94 ± 3.54 | 9.01 ± 1.95 |
| A2B4 | 0.62 | 5.25 ± 1.28 | 0.48 ± 0.05 ¹⁾ | 79.03 ± 3.16 ¹⁾ | 7.88 ± 1.36 ¹⁾ |
| 尼莫地平 | 2 × 10 ⁻³ | 3.38 ± 1.19 ²⁾ | 0.49 ± 0.07 | 71.81 ± 2.94 ²⁾ | 5.66 ± 2.14 ²⁾ |

注:与模型组比较¹⁾*P* < 0.05, ²⁾*P* < 0.01(表 3 同)。A1B1-口服 20% 赤芍组、A2B1-静注 20% 赤芍组;A1B2-口服 40% 赤芍组、A2B2-静注 40% 赤芍组;A1B3-口服 60% 赤芍组、A2B3-静注 60% 赤芍组;A1B4-口服 80% 赤芍组、A2B4-静注 80% 赤芍组。

表 3 灯盏细辛-赤芍组方不同配比及给药途径对大鼠 MCAO 再灌注脑匀浆 SOD、NOS 及 MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | SOD/U·mg ⁻¹ | NOS/U·mg ⁻¹ | MDA/nmol·mg ⁻¹ |
|------|-----------------------|------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 假手术 | - | 196 ± 49 ²⁾ | 1.68 ± 0.58 ²⁾ | 11.87 ± 2.22 ²⁾ |
| 模型 | - | 105 ± 21 | 2.41 ± 0.29 | 17.88 ± 3.42 |
| A1B1 | 0.62 | 131 ± 32 ¹⁾ | 2.45 ± 0.12 | 16.89 ± 1.86 |
| A2B1 | 0.62 | 137 ± 17 ²⁾ | 2.17 ± 0.19 ¹⁾ | 14.85 ± 1.95 ¹⁾ |
| A1B2 | 0.62 | 130 ± 23 ¹⁾ | 2.23 ± 0.28 | 14.97 ± 2.65 ¹⁾ |
| A2B2 | 0.62 | 149 ± 28 ²⁾ | 2.13 ± 0.17 ¹⁾ | 15.01 ± 2.30 ¹⁾ |
| A1B3 | 0.62 | 135 ± 22 ¹⁾ | 2.18 ± 0.25 | 14.05 ± 3.22 ²⁾ |
| A2B3 | 0.62 | 179 ± 22 ²⁾ | 2.11 ± 0.22 ¹⁾ | 12.18 ± 2.34 ²⁾ |
| A1B4 | 0.62 | 112 ± 20 | 2.41 ± 0.24 | 16.82 ± 2.42 |
| A2B4 | 0.62 | 132 ± 23 ¹⁾ | 2.27 ± 0.23 | 15.49 ± 3.10 |
| 尼莫地平 | 2 × 10 ⁻³ | 179 ± 27 ²⁾ | 2.06 ± 0.27 ²⁾ | 12.02 ± 1.89 ²⁾ |

2×4 型析因设计资料方差分析结果(表 4):从“途径”因素来看,考察的 7 个主要生物学指标的“途径”有显著性差异,说明注射给药优于口服给药;从“配方”因素来看,各配方之间除脑指数指标不显著外,各配方水平有显著性差异,说明不同的辛芍配方组对治疗效果有明显影响。交互效应中除脑含水量指标外,其余 6 个主要生物学指标的“途径”

和“配方”交互作用均不显著,说明“途径”和“配方”两个因素相互独立。

基于以上结果,作者用功能模块中“SNK 一致性子集(按效应大小分类比较)”法比较组方配比因素 4 个水平的统计学差异,7 个主要生物学指标项下的 SNK 多重比较一致性子集结果,见表 5。

表 4 析因设计方差分析(2×4)

| 变异 | P | | | | | | |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 神经行为 | 脑指数 | 脑含水量 | 脑梗死率 | SOD | NOS | MDA |
| 途径主效应 | 0.001 | 0.003 | 0.000 | 0.021 | 0.000 | 0.009 | 0.044 |
| 配方主效应 | 0.010 | 0.149 | 0.001 | 0.036 | 0.001 | 0.042 | 0.005 |
| 途径与配方交互效应 | 0.875 | 0.481 | 0.036 | 0.971 | 0.163 | 0.503 | 0.642 |

表 5 SNK 多重比较一致性子集

| 配方 | N | 神经行为学 | | 脑指数 | | 脑含水量 | | 脑梗死率 | | SOD | | NOS | | MAD | |
|--------|----|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|--|
| | | 1 组 | 2 组 | 1 组 | 1 组 | 2 组 | 1 组 | 2 组 | 1 组 | 2 组 | 1 组 | 1 组 | 2 组 | | |
| 60% 赤芍 | 16 | 4.31 | | 0.480 | 74.834 | | 6.795 | | 156.94 | | 2.148 | | 13.114 | | |
| 40% 赤芍 | 16 | | 5.31 | 0.484 | | 77.210 | 7.558 | 7.558 | | 139.44 | | 2.178 | | 14.991 | |
| 20% 赤芍 | 16 | | 5.44 | 0.508 | | 79.033 | | 8.304 | | 134.13 | | 2.309 | | 15.869 | |
| 80% 赤芍 | 16 | | 5.63 | 0.508 | | 79.481 | | 8.448 | | 122.00 | | 2.337 | | 16.157 | |
| 显著性水平 | | 1.000 | 0.725 | 0.278 | 1.000 | 0.124 | 0.222 | 0.327 | 1.000 | 0.104 | 0.082 | 1.000 | 0.397 | | |

注:Alpha=0.05。

从结果中可看出神经行为学、脑含水量、SOD、MDA 指标中 60% 赤芍配方组与其他 3 个配方组差异显著;脑梗死率指标的 60% 赤芍配方组与 20% 赤芍、80% 赤芍两组比较差异显著,与 40% 赤芍组相比差异不显著;脑指数、NOS 指标各配方组间无显著差异。因此,60% 赤芍配方组(赤芍在组方中占 60%)的生物学效应明显优于其他配比组。

4 讨论

析因设计是一种全面、均衡、高效的设计方法,广泛应用于实验设计中,也是科研工作者的常用方法。这种设计的另一特点是可以获得三方面重要信息:各因素的效应大小;各因素间交互作用大小;通过比较各种组合的效应,找出各因素各水平的最优搭配^[16]。本实验采用析因分析,使得实验更具有全面性和均衡性,随机误差更小,精度更高。

辛芍组方民间以汤剂入药,两药配比用量随意性较大,为探讨该方的临床应用价值,作者对该方中两味中药的用药比例和给药途径进行研究,并通过析因实验设计及分析方法(2×4),对各因素(途径、配方)下各个水平(4 个不同配比处方)的组合进行实验,得出 60% 赤芍组静脉注射给药为本品的最佳

组方配比和最佳给药途径。从主体效应检验结果中可以看出注射给药优于口服给药,为该方的开发应用提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 陈祖云,迟明艳,王永林. 辛芍提取物对大鼠的毒性研究[J]. 贵阳医学院学报, 2010,35(2):151.
- [2] 王永林,黄勇,郑林,等. 注射用辛芍冻干粉针药味配伍作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(7):38.
- [3] 苏红,王爱民,王永林,等. 注射用辛芍(冻干粉针)指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15):1515.
- [4] 何迅,李勇军,王爱民,等. 注射用辛芍(冻干粉针)与常用输液配伍稳定性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008,14(5):9.
- [5] 刘志宝,苏红,黄勇,等. 注射用辛芍(冻干粉针)安全性实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009,20(5):160.
- [6] 苏红,兰燕宇,马琳,等. 采用聚酰胺除辛芍冻干粉针中赤芍提取物鞣质的工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2008,33(6):632.
- [7] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:1067.

附子理中汤对脾阳虚证大鼠免疫细胞因子的影响

韦祎¹, 唐汉庆^{2*}, 李晓华², 朱晓莹²

(1. 海南医学院, 海口 571199; 2. 右江民族医学院, 广西 百色 533000)

[摘要] 目的: 观察附子理中汤对免疫细胞因子白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响, 探讨其对脾阳虚证免疫功能影响的可能机制。方法: Wistar 大鼠 100 只随机分为对照组、模型组、附子理中汤低、中、高剂量组 5 组, 每组 20 只。在模型组基础上, 附子理中汤低、中、高剂量组按 5, 10, 20 g·kg⁻¹ ig, 每天 1 次, 连续 4 周。检测胸腺指数、脾脏指数、IL-2, IL-6, IL-10, TNF- α 含量。结果: 与对照组比较, 模型组胸腺指数, 脾指数, IL-2, IL-6, TNF- α 均降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), IL-10 显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 附子理中汤中、高剂量组胸腺指数, 脾指数, IL-2, IL-6, TNF- α 均升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), IL-10 降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 附子理中汤对细胞免疫因子产生影响, 通过细胞免疫因子之间的效应可能是其改善脾阳虚大鼠免疫功能的机制之一。

[关键词] 附子理中汤; 脾阳虚证; 免疫; 机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0179-04

[doi] 10.11653/syjf2013210179

Effects of Fuzi Lizhong Decoction on Immune Cell Factors in Rats with Spleen Yang Deficiency Syndrome

WEI Yi¹, TANG Han-qing^{2*}, LI Xiao-hua², ZHU Xiao-ying²

(1. Hainan Medical University, Haikou 571199, China;

2. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China)

[收稿日期] 20130604(022)

[基金项目] 广西高等学校优秀人才资助计划(桂教人[2011]40号)

[第一作者] 韦祎, 讲师, 硕士, 中西医结合临床研究, E-mail: sue09cn@163.com

[通讯作者] * 唐汉庆, 副教授, 博士, 中西医结合基础研究, E-mail: iloveyouverymuch0000@yahoo.com.cn

- [8] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20:84.
- [9] 黄勇, 王永林, 兰燕宇, 等. 注射用辛芩对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用和对脑微循环血流量的影响[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(2):119.
- [10] 毛伦林, 毛小薇, 顾桢茂, 等. 天舒胶囊对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15):144.
- [11] 胡跃强, 唐农, 董少龙, 等. 清热化痰方预处理对大鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4):194.
- [12] 倪彩霞, 曾南, 许福会, 等. 芳香开窍药对脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障影响的实验研究[J]. 中国中药杂志, () :2562.
- [13] 尹艳艳, 曹曦, 李维祖. 喜脑宁对大鼠全脑缺血的保护作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23):3087.
- [14] 孙王杰, 战学秋, 孙树文, 等. 用统计软件 SPSS 对学生成绩分析[J]. 吉林化工学院学报, 2003, 20(3):87.
- [15] 张苏江, 陈庆波. 数据统计分析软件 SPSS 的应用(四)-广义因素方差分析[J]. 畜牧与兽医, 2003, 35(8):24.
- [16] 卢纹岱. SPSS for Windows 统计分析[M]. 2 版. 北京: 电子工业出版社, 2002:162.
- [17] 贺石林. 医学科研方法导论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998:201.

[责任编辑] 聂淑琴