

# ET、CGRP、NO 和 NOS 诊断 心气虚证价值的评价※

□ 刘 强\* 钟志国 王伯章 (广东医学院附属医院 广东 湛江 524001)

**摘 要** 目的: 从同病异证、异病同证角度探讨血管活性物质与心气虚证的关系, 评价其作为临床指标诊断心气虚证的价值, 探讨心气虚证的客观化诊断。方法: 本文采用放射免疫法、硝酸还原酶法等观测 60 例心气虚证患者血中内皮素 (ET)、降钙素基因相关肽 (CGRP)、一氧化氮 (NO)、一氧化氮合酶 (NOS) 的含量变化, 并通过与现行辨证标准相比较, 从临床流行病学角度系统评价它们诊断心气虚证的价值。结果: 胸痹心气虚组与心痹气虚组血中的 ET、CGRP、NO、NOS 含量无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但该两组与胸痹心阴虚组和正常对照组之间有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。四指标敏感度都比较高 (平均为 95%), 可作为筛选心气虚证的参考指标; 其中, CGRP、NOS 特异度低 (均为 40%); ET、NO 特异度高 (平均为 89.5%), 造成误诊可能性小。临床流行病学评价表明 ET、NO 的诊断价值优于 CGRP、NOS, 与现行辨证标准符合情况良好。结论: ET、CGRP、NO、NOS 四指标均可作为筛选心气虚证的参考指标。但是, 只有 ET、NO 可作为临床诊断心气虚证的参考指标。

**关键词** 心气虚 内皮素 降钙素基因相关肽 一氧化氮 一氧化氮合酶

心气虚证是临床上常见的一种证型。近些年来, 国内外学者对心气虚证与心功能相关性的研究, 取得了一些临床应用价值较高的成就。研究提示: 心气虚患者存在心功能不全, 尤其是左心功能不全, 且左室舒张功能对心气虚证诊断具有高敏感性 (87%), 左

室收缩功能具有高特异性 (88%)<sup>[1]</sup>。对心功能不全程度的研究认为, 具有舒缩血管的活性物质内皮素 (ET)、降钙素基因相关肽 (CGRP)、一氧化氮 (NO)、一氧化氮合酶 (NOS) 在血中的含量与心功能不全的严重度密切相关<sup>[2]</sup>。这一结论提示了 ET、CGRP、NO、NOS 与心气虚证的临床辨证诊断存在密切联系。本文从同病异证、异病同证角度探讨血管活性物质 ET、CGRP、NO、NOS 与心气虚证的关系, 并通过与现行辨证标准比较, 从临床流行病学角度系统

※基金项目 广东医学院博士启动基金。

\*作者简介 刘 强, 男, 中医诊断学博士, 山西霍州人。现在广东医学院附属医院工作。主要从事心血管疾病证候研究。

评价它们诊断心气虚证的价值，为临床客观诊断心气虚证提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 观察对象

1.1.1 病例来源

2002年6月至2003年6月广东医学院附属医院心内科住院病人。

1.1.2 诊断标准

病名、证名标准：参考《中医临床诊疗术语》(GB/T 16751-1997)，采用胸痹、心痹、心气虚证、心阴虚证作为病名或证名。疾病(胸痹、心痹)诊断标准：参考《国家标准应用·中医内科疾病诊疗常规》<sup>[5]</sup>。辨证(心气虚证、心阴虚证)诊断标准：参考《中医虚证辨证参考标准》<sup>[6]</sup>。

1.1.3 纳入标准

年龄在40~75岁之间，符合诊断标准者。

1.1.4 排除标准

具备以下任何一项者，均予排除。

①严重肝、肾功能损害者 ②妊娠、哺乳期妇女 ③兼有消渴(糖尿病)、中风(脑血管意外)、心痹(急性病毒性心肌炎、感染性心内膜炎)

1.2 分组

根据诊断结果，将纳入的观察对象分为三组：

①胸痹心气虚组 ②胸痹心阴虚组 ③心痹心气虚组

另设正常对照组(由年龄、性别与病例组相匹配的30名健康人组成)。各组患者在性别、年龄方面均无显著性差异( $P > 0.05$ )。见表1。中

表1 各组一般资料分析表

组别	例数	年龄(岁)	方差分析	性别(男/女)	$\chi^2$ 检验(R×C)
胸痹心气虚组	30	63.03±8.96		18/12	
胸痹心阴虚组	30	61.20±8.88	$P > 0.05$	19/11	$P > 0.05$
心痹心气虚组	30	58.40±9.46		15/15	
正常对照组	30	60.13±9.91		16/14	

1.3 观测指标

1.3.1 内皮素(Endothelin, ET)和降钙素基因相关肽(Calaitonin gene related peptied, CGRP)

晨取静脉血2 ml，注入含7.5% EDTA二钠30  $\mu$ l和抑肽酶40  $\mu$ l的试管中，混匀，3000 rpm离心10 min，分离血浆，-20℃保存。采用北京东雅生物技术研究

所ET和CGRP放免试剂盒，中佳光电公司GC-1200 $\gamma$ 放免计数器进行测试。

1.3.2 一氧化氮(Nitric oxide, NO)和一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, NOS)

方法：晨取静脉血2 ml，3000 rpm离心10 min，分离血清，-20℃保存。采用南京建成生物工程研究所NO和NOS试剂盒。

1.4 统计方法

检测值用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )，表示多组间比较采用方差分析，两组间比较采用 $q$ 检验。

1.5 各指标诊断心气虚证价值分析方法<sup>[7,8]</sup>

以各指标心气虚两组合并后的均数±1.96×标准差，为心气虚证的诊断参考值。将其诊断结果与现行辨证标准的交错分布关系用2×2四格表表达，并与现行辨证标准相对比，计算其敏感度、特异度、诊断指数、可用度、阳性预断值、阴性预断值、总一致性、调整一致性、Youden指数、患病率、阳性似然比、阴性似然比(计算公式见表2)。

表2 诊断价值计算公式表

	计算公式
敏感度(Se)	$a/(a+c)$
特异度(Sp)	$d/(b+d)$
诊断指数	$Se+Sp$
可用度	$\sqrt{2(Se^2+2+Sp^2+2)}-1$
阳性预测值	$a/(a+b)$
阴性预测值	$d/(c+d)$
总一致性/诊断效率	$(a+d)/N$
调整一致性	$1/4[a/(a+b)+a/(a+c)+d/(c+d)+d/(b+d)]$
Youden指数	$a/(a+c)+d/(b+d)-1$
患病率	$c+a/N$
阳性似然比	$[a/(a+c)]/[b/(b+d)]$
阴性似然比	$[c/(a+c)]/[d/(b+d)]$

1.6 与现行辨证标准的比较

与现行辨证标准进行两水平比较结果分为阳性与阴性。①关联性检验：两法关联性可用四格专用  $\chi^2$  公式进行统计处理。 $\chi^2 > \chi^2_{0.05}(1)$ ，表明两法存在关联性；若  $\chi^2 < \chi^2_{0.05}(1)$ ，表明两法无明显关联性。

②吻合性检验：通常按公式计算 kappa 值测定。

$$P_0 = (a + d) / N$$
$$P_e = [(a + b)(a + c) + (c + d)(b + d)] / N_2$$
$$K = (P_0 - P_e) / (1 - P_e)$$
$$S_k = \sqrt{P_0(1 - P_0) / [N(1 - P_e) + 2]}$$
$$u = K / S_k$$

若  $u \geq 1.96$ ，表明吻合性并不是机遇造成的。

K 的 95% 可信区间是  $K \pm 1.95 S_k$ 。吻合性程度的判断：若 K 的 95% 可信区间包括 0.4，表示吻合性

差；若在 0.41 ~ 0.74 之间，表示吻合性中等；若包括 0.75，表示吻合性较好，如包括 0.90，表示吻合性很好，K 越接近 1，其吻合性越高。

③不一致性检验：通常采用配对  $\chi^2$  检验。在  $ad > bc$  且  $(b + c) > 40$  条件下，则按： $\chi^2 = |b - c|^2 / (b + c)$

若  $ad > bc$  但  $(b + c) \leq 40$ ，则按  $X^2 = (|b - c| - 1)^2 / (b + c)$

若  $\chi^2 > \chi^2_{0.05}(1)$ ，表明存在明显的不一致性；如  $\chi^2 < \chi^2_{0.2}(1)$ ，提示两法无明显不一致性。

2 结 果

2.1 ET、CGRP、NO、NOS 与心气虚的关系

表 3 各组检测指标分析比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(n)	ET(pg/ml)	CGRP(pg/ml)	NO(μmol/L)	NOS(u/mol)
胸痹心气虚组	30	48.51 ± 6.59***Δ★	9.26 ± 2.46***Δ★	21.00 ± 3.52***Δ★	9.25 ± 2.83***Δ★
胸痹心阴虚组	30	81.80 ± 9.03***Δ	15.14 ± 4.79***Δ	66.92 ± 6.88***Δ	16.43 ± 7.27*Δ
心痹心气虚组	30	47.65 ± 6.59**	9.47 ± 2.43**	20.52 ± 2.28**	9.69 ± 2.78**
正常对照组	30	34.40 ± 4.82	12.04 ± 3.35	36.83 ± 5.15	13.27 ± 4.98

注：与正常对照组比较：\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ ；与心痹心气虚组比较：Δ  $P < 0.01$ ，★  $P > 0.05$ ；与胸痹心阴虚组比较：◆  $P < 0.01$

研究结果表明，四组 ET 含量，胸痹心阴虚组 > 胸痹心气虚组 > 心痹心气虚组 > 正常对照组；CGRP、NO、NOS 含量，胸痹心阴虚组 > 正常对照组 > 心痹心气虚组 > 胸痹心气虚组，经方差分析，四组之间具有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。进一步进行 q 检验，胸痹心气虚组与心痹心气虚组四指标含量无显著性差异 ( $P > 0.05$ )；但该两组与胸痹心阴虚组、正常对照组比较有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。

2.2 各观测指标诊断心气虚证价值分析

四指标敏感度都比较高，可作为筛选心气虚证的参考指标，NO > NOS > CGRP > ET。其中，CGRP、NOS 特异度低；ET、NO 特异度高，尤其是 NO。

表 4 各观测指标诊断心气虚证价值简表

	ET	CGRP	NO	NOS
敏感度	0.90	0.95	0.98	0.97
特异度	0.81	0.40	0.98	0.40
诊断指数	1.71	1.35	1.96	1.47
可用度	0.71	0.46	0.96	0.48
阳性预测值	0.83	0.62	0.98	0.62
阴性预测值	0.89	0.89	0.98	0.89
总一致性/诊断效率	0.86	0.68	0.98	0.68
调整一致性	0.86	0.72	0.98	0.73
Youden 指数	0.71	0.35	0.96	0.37
患病率	0.51	0.51	0.5	0.5
阳性似然比	4.83	1.6	59	1.62
阴性似然比	0.12	0.12	0.02	0.08

2.3 各观测指标与现行辨证标准的两水平比较分析

表5 各观测指标与现行辨证标准的两水平比较简表

检验	ET	CGRP	NO	NOS
关联性	显著	显著	显著	显著
$\chi^2$	61.984	21.994	112.130	23.764
吻合性	较好	中等	很好	中等
$P_0$	0.858	0.682	0.983	0.683
$P_e$	0.501	0.505	0.500	0.500
K	0.715	0.360	0.966	0.366
$S_k$	0.064	0.086	0.024	0.085
u	11.171	4.186	40.932	4.306
不一致性	不明显	明显	不明显	明显
$\chi^2$	0.941	25.289	0.050	28.658

注： $\chi^2_{0.01(1)} = 6.635, \chi^2_{0.5(1)} = 3.841, \chi^2_{0.25(1)} = 1.323, \chi^2_{0.5(1)} = 0.455$

ET、NO 与现行辨证标准显著关联，吻合性较好或很好，无明显不一致性。可认为，ET、NO 与现行辨证标准的符合情况良好，尤其是 NO。CGRP、NOS 与现行辨证标准显著关联，吻合性中等，但存在显著的 不一致性。可认为，CGRP、NOS 与现行辨证标准的符合情况较差。

3 讨 论

3.1 ET、CGRP、NO、NOS 与心气虚

中医学中，广义的“心气”指心的功能活动，涉及心主血脉，心藏神等方面；狭义的指心脏推动血液循环的功能。“心主血脉”，心脏推动血液在脉管中循环。心与脉管组成一密闭的管道系统。心气的盛衰与脉管的舒缩状态有着密切的关系。提示影响血管舒缩状态的血管活性物质如 ET、CGRP、NO、NOS 与心气虚之间存在着某种内在联系。ET 是迄今为止发现的作用最强和持续最久的缩血管物质，对心脏具有正性肌力作用和正性变时作用，还可促进血管平滑肌细胞增生、肥大。其缩血管效应和促增殖作用可部分被 CGRP、NO 所拮抗。CGRP 是目前已知的最强舒血管物质之一，对 ET 所导致的心肌缺血、缺氧和坏死具有明显的保护作用。下调 ET-1 结合位点密度可能是 CGRP 赖以拮抗 ET 生物学效应的机制之一<sup>[7]</sup>。NOS 是 NO 生成的唯一限速酶。许多内源性舒血管物质，如乙酰胆碱、缓激肽、P 物质等舒血管作用均由 NO

介导<sup>[8]</sup>。CGRP 的舒血管机制中有 NO 的参与，CGRP 可促进血管平滑肌细胞的 NOS 活性增强和 NO 的生成，且具有时间依赖性<sup>[3,4]</sup>，而 NO 可抑制 CGRP 的释放<sup>[9]</sup>。

生理状态下，血管内皮细胞既有 NO 也有 ET 的基础释放，内、外源性 NO 均可拮抗 ET 的缩血管效应，而应用 ET 亦可拮抗 NO 介导内皮依赖性血管舒张。NO 通过 cGMP 途径抑制蛋白激酶 C（PKC）及对转录因子的磷酸化调节而抑制 ET 的进一步合成；ET 还作用于内皮细胞上的 ET<sub>B</sub> 受体，刺激 NOS，增加 NO 的产量。ET/NO 这一对作用于血管平滑肌的相互拮抗的血管活性物质对调节生理状态下血管的舒缩状态和血流动力学有重要意义<sup>[10]</sup>。

因此，ET、CGRP、NO 和 NOS 之间存在着相互促进或相互抑制的复杂关系，共同调节着血管的舒缩状态和平滑肌细胞的增殖情况，直接或间接影响着心功能。当这种复杂关系失衡时，血管功能发生异常，也必然影响着心气的盛衰，正如《素问·痹论》“脉痹不已……内舍于心”。

3.2 心气虚证的客观诊断

本实验采用临床流行病学方法对 ET、CGRP、NO、NOS 诊断心气虚证的价值进行了系统评价。四指标敏感度都比较高（平均为 95%），可作为筛选心气虚证的参考指标。其中，CGRP、NOS 特异度低（均为 40%），造成误诊可能性大；ET、NO 特异度高（平均为 89.5 %），造成误诊可能性小。另外，四指标敏感度（NO > NOS > CGRP > ET）、特异度（NO > ET > CGRP = NOS）中，舒血管物质的敏感度较高，与王硕仁<sup>[1]</sup>左心室舒张功能评价心气虚证诊断的高敏感性相一致；缩血管物质的特异度较高，与王硕仁<sup>[1]</sup>左室收缩功能的特异性相吻合。表明心肌舒缩功能与血管的舒缩状态关系密切，体现了“心主血脉”和中医整体观思想，其机制有待进一步研究。

从临床流行病学角度分析<sup>[7,8]</sup>，只有诊断指数 > 1.5、可用度 ≥ 0.5、总一致性/诊断效率 > 0.75、Youden 指数 > 0.5、调整一致性、阳性似然比越大越好，才具有较好的临床诊断价值。ET、NO 多项指标均较 CGRP、NOS 为高，符合以上要求，可应用于临床。

与现行辨证标准的两水平比较表明：四指标的关联性显著，再次提示它们与心气虚证关系密切，ET、NO 与现行辨证标准的吻合性较好或很好，不一致性不显著，提示二者可以作为临床诊断心气虚证的参考指标，以加强中医证型诊断的客观化。CGRP、NOS 吻合性中等，不一致性明显，提示二者不宜应用于临床证型诊断。在本研究中未发现吻合性很好，不一致性明显的诊断指标，即优于现行辨证标准的诊断性实验。对于是否存在这样的诊断实验，有待进一步研究。

可见，四指标中 NO 的诊断价值最高。沈剑刚<sup>[13]</sup>、吴静<sup>[14]</sup>等研究表明 NO 与“气虚有关；NO 在体内参与神经系统、免疫系统和心血管系统的调节作用，但其对心血管系统的作用最为主要<sup>[15]</sup>”。故 NO 与心气虚的关系尤为密切，与本实验结果一致。目前普遍认为 ET 与血瘀的关系密切，而本研究表明其对心气虚有较好的诊断价值，可能与气虚致瘀、心气是推动血行主要动力等有关。CGRP 对心气虚的诊断价值欠佳，与陈建鸿<sup>[16]</sup>研究一致。NOS 是 NO 合成的关键酶和限速因子，但其与 NO 的诊断价值差别很大，可能与 NOS 活性低、稳定性差、检测灵敏度不高有关。

总之，本研究表明：胸痹心气虚组与心痹心气虚组血中的 ET、CGRP、NO、NOS 含量无显著性差异 ( $P > 0.05$ )，提示心气虚患者的 ET、CGRP、NO、NOS 含量与病种无关；但该两组与胸痹心阴虚组和正常对照组之间有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。该四指标均可作为筛选心气虚证的参考指标。但是，只有 ET、NO 可作为临床诊断心气虚证的参考指标。

## 参考文献

[1] 王硕仁, 赵明镜, 吕希滢, 等. 冠心病心气虚证与左心室功能及心肌缺血相关性的临床研究. 中国中西医结合杂志, 1998, 18 (8):

457-459.

[2] 杨晓红, 王凤飞, 陶桂华, 等. 心力衰竭时血浆内皮素、一氧化氮及血管紧张素 II 的变化及其意义. 临床心血管病杂志, 1998, 14 (2): 114-115.

[3] 陈良海, 罗兴林, 罗刚. 降钙素基因相关肽和内皮素在充血性心力衰竭中的作用. 临床心血管病杂志, 1998, 14 (3): 146-147.

[4] Mohamed A, Gaballa, Goldman S, et al. Overexpression of endothelium nitric oxide synthase reverses the diminished vasorelaxation in the hind-limb vasculature in ischemic heart failure in vivo. J Mol Cell Cardiol, 1999, 31: 1243-1252.

[5] 朱文锋主编. 《国家标准应用·中医内科疾病诊疗常规》. 长沙: 湖南科技出版社, 1999. 247-249, 237-239.

[6] 沈自尹, 王文健. 中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志, 1986, 6 (10): 598.

[7] 贺石林, 陈修. 医学科研方法导论. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 389-396, 410-412.

[8] 章扬熙. 临床流行病学. 中华流行病学杂志, 1997, 18 (2): 118-119.

[9] 谭敦勇, C. Claramelo. 内皮素结合位点下调是 CGRP 拮抗 ET 生物学效应的机制之一. 中国病理生理杂志, 1999, 15 (8): 710.

[10] Fleming I, Busse R, et al. NO: the primary EDRF. J Mol Cell Cardiol, 1999, 31: 5-14.

[11] 康建华, 赵连友, 李雪, 等. CGRP 对高血压病患者动脉 VSMC 的 NOS 活性和 NO 合成的影响. 心功能杂志, 1999, 11 (2): 73-76.

[12] Avontuur J, Boomsma F, Meiracker A, et al. Endothelin-I and blood pressure after inhibition of nitric oxide synthesis in human septic shock. Circulation, 1999, 99: 271-275.

[13] 沈剑刚, 郭志刚, 佟丽, 等. 益气通络丹对冠心病高血压病患者不同中医证型血液脂质过氧化一氧化氮及汗液活性的影响. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4 (3): 37.

[14] 吴静. 一氧化氮与“气”. 中国中西医结合杂志, 1997, 17 (8): 498-499.

[15] 张世仪, 陈经君, 王松岩, 等. 与学习记忆相关的脑内 cGMP 的表达及其与一氧化氮的关系. 基础医学与临床, 2000, 20 (1): 60-62.

[16] 陈建鸿, 杜建. 冠心病中医辨证与内皮素及降钙素基因相关关系的临床研究. 中医杂志, 1998, 39 (2): 108-109.

思想独立 学术自由 广采博收 兼容并蓄

中医药通报杂志

欢迎投稿 欢迎订阅