

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.08.010

临床研究

2 型糖尿病血瘀证患者血浆代谢组学特征

楚淑芳, 李惠林*, 刘德亮, 赵恒侠, 张志玲, 李增英

(广州中医药大学第四临床医学院/深圳市中医院, 广东省深圳市福田区福华路 1 号, 518033)

摘要 目的 探讨 2 型糖尿病血瘀证患者血浆代谢组学特征。方法 收集血瘀证与非血瘀证 2 型糖尿病患者各 25 例, 观察两组患者基本情况、血瘀证证候积分, 运用核磁共振波谱技术 (NMR) 定量检测血浆代谢物含量, 通过主成分分析方法分析造成两组患者代谢组分不同的主要因素, 并以此推断两组患者可能存在差异的代谢通路。结果 血瘀证 2 型糖尿病患者血瘀证证候积分明显高于非血瘀证 ($P < 0.05$); 通过 NMR 共检测出 47 种代谢物, 两组患者代谢物组成有重叠, 但能相互区分; 血瘀证 2 型糖尿病患者丙酮、乙酰乙酸、 α -羟基丁酸、 α -羟基异戊酸、 β -羟基丁酸、 α -酮基异己酸盐、3-甲基-2-氧代戊酸甲酯、3-羟基异丁酸、甘氨酸水平均高于非血瘀证组 ($P < 0.05$), 而延胡索酸、柠檬酸、N-乙酰鸟氨酸、焦谷氨酸、蛋氨酸水平低于非血瘀证组 ($P < 0.05$), 其他 32 种代谢组分在两组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 血瘀证 2 型糖尿病患者可能存在更为严重的脂肪代谢、氨基酸代谢紊乱以及能量代谢障碍。

关键词 2 型糖尿病; 血瘀证; 代谢组学; 核磁共振波谱技术

现代中医证候研究的核心内容是证候的物质基础。代谢组学运用磁共振波谱 (nuclear magnetic resonance, NMR)、高效液相色谱和质谱等分析测量工具研究复杂生物体系的代谢轮廓或代谢指纹图谱^[1-2], 强调将人体作为一个完整的系统来研究, 从整体出发探讨疾病和药物对人体产生的影响, 与中医学的整体观具有高度的一致性。因此, 代谢组学有助于阐明中医证候的物质基础及机制^[3-4]。本研究从代谢组学方面探讨血瘀证与非血瘀证 2 型糖尿病患者之间的差异, 寻找 2 型糖尿病血瘀证患者的特征性代谢物。

1 资料与方法

1.1 诊断标准

2 型糖尿病西医诊断标准参照 1999 年 WHO 提出的糖尿病诊断标准^[5]。

中医辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则 (试行)》^[6]中血瘀证辨证标准, 主症: 刺痛、痛有定处、拒按, 脉络瘀血 (诸如口唇、齿龈、爪甲紫暗, 肤表赤缕, 或腹部青筋外露), 皮下瘀斑, 癥积, 离经之血, 舌质紫暗或有瘀斑、瘀点,

舌脉粗张, 脉涩或沉弦、弦迟。次症: 肌肤甲错, 肢体麻木或偏瘫, 癩癧, 狂躁, 善忘, 局部感觉异常, 外伤史、手术史及人工流产史。血瘀证主症 2 项, 或主症 1 项、次症 2 项即可诊断。

1.2 纳入标准

1) 符合上述诊断标准及中医辨证标准, 中医辨证经 2 位副主任医师以上 (含) 严格辨证后, 确定为血瘀证或非血瘀证者; 2) 年龄 40 ~ 70 岁; 3) 签署知情同意书。

1.3 排除标准

1) 合并肿瘤、高血压病、冠心病及肾、心、肝功能严重损害者; 2) 哺乳期或妊娠期妇女; 3) 1 个月内发生过糖尿病急性并发症者; 4) 1 个月内使用活血化瘀中药治疗者; 5) 认知功能障碍, 不能配合检查者。

1.4 研究对象

收集 2014 年 6—12 月深圳市中医院住院的 2 型糖尿病患者 50 例, 其中血瘀证组和非血瘀证组各 25 例。

1.5 研究方法

1.5.1 一般情况 包括患者姓名、性别、年龄、病程、体重、身高, 计算体重指数, 体重指数 = 体重 (kg) / 身高 (m)²。

基金项目: 国家自然科学基金 (81173253)

* 通讯作者: sztcmlhl@163.com, 13602666389

1.5.2 临床症状 采用文献[6]中血瘀证证候积分表,观察症状包括刺痛、痛有定处、脉络瘀血、皮下瘀斑、舌质紫暗、舌体瘀斑瘀点、涩脉或无脉、肌肤甲错、肢体麻木或偏瘫、善忘,根据无、轻、中、重分别计0、1、2、3分。

1.5.3 代谢组学样品采集及处理 所有患者空腹12 h后留取标本,清晨用抗凝真空采血管采集左侧肘静脉血4 ml,轻轻摇动采血管,使血液与抗凝剂混合充分,并在1 h内离心处理,4℃ 3500 r/min离心5 min,取上清,再次离心,4℃ 20000 r/min离心10 min,取上清,−80℃冰箱内保存备用。

采用美国安捷伦公司 DD2 600 MHz 核磁共振波谱仪,样品漩涡混旋30 s;取样品500 μl于洗好的超滤膜中,4℃ 13000 r/min离心过滤15 min;剩余血浆继续加入超滤膜中,4℃ 13000 r/min离心过滤30 min;取滤液450 μl于离心管中,加入50 μl DSS 内标的重水;漩涡混旋10 s,使滤液与DSS试剂充分混匀后,4℃ 13000 r/min离心2 min;取480 μl上清液于核磁管中,上机检测;所有的NMR谱均在298.15 K下采集,对应的质子共振频率为599.83 MHz。使用metnoesy脉冲序列采集一维¹H-NMR谱。在该序列中的等待时间(RD, 1 s)和混合时间(tm, 100 ms)施加强度约50 Hz的低功率连续波进行水峰抑制。每一个样品的90°脉冲宽度均设置约10 μs。谱宽设置为7225.4 Hz。采样点数28K, FID累加128次。

数据处理:将¹H-NMR自由感应衰减信号导入到Chenomx NMR suit 8.0 (Chenomx, Edmonton, Canada)软件中,自动进行傅立叶转换,调整相位,校正基线。以DSS-d₆峰(0.0 ppm)作为全部谱图化学位移的标准,并对其进行反转卷积操作,调整谱图峰形(CSI)。根据¹H-NMR谱图中信号的相关信息(如化学位移、峰形、半峰宽、耦合裂分等),以DSS-d₆的浓度和谱峰面积为标准,结合Chenomx自带数据库对血浆样本谱图的信号逐一比对分析,获得代谢物和对应的绝对浓度值[7-8]。

1.6 统计学分析

采用SPSS 20.0软件,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,符合正态分布者组间比较采用独立样本 t 检验,不符合正态分布或方差不齐者组间比较采用Wilcoxon秩和检验;计数资料以构成比表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。NMR采集的数据分析采用Simca-P 11.5软件,分别采用主成分分析(PCA)及偏最小二乘法判别分析(PLS-DA),得出不同组样本间的聚类情况,寻找与

分组相关的代谢物,并根据样本聚类中化合物的贡献度大小,分析化合物组间差异。

2 结果

2.1 两组患者一般情况比较

表1示,两组患者性别构成、年龄、病程、体重、身高以及体重指数差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 两组2型糖尿病患者一般情况比较

项目	血瘀证组 (25例)	非血瘀证组 (25例)	P值
性别 男	16(16%)	13(52%)	0.390
女	9(36%)	12(48%)	
年龄(岁)	61.80 ± 8.30	57.16 ± 8.38	0.055
病程(年)	10.92 ± 6.84	8.49 ± 5.94	0.186
体重(kg)	66.04 ± 9.51	63.56 ± 10.82	0.393
身高(cm)	163.48 ± 7.38	162.40 ± 8.26	0.628
体重指数(kg/m ²)	24.69 ± 3.00	24.07 ± 3.61	0.506

2.2 两组患者血瘀证证候积分比较

血瘀证组血瘀证证候积分为(9.44 ± 2.12)分,非血瘀证组为(3.04 ± 1.51)分,血瘀证组血瘀证证候积分明显高于非血瘀证组($t = 12.17$, $P < 0.001$)。

2.3 两组患者血浆代谢组学比较

2.3.1 两组患者¹H-NMR区别分析 两组患者代谢组学检测中共分析得到47种代谢物,图1为47种代谢物归属图,图2为两组患者典型血浆¹H-NMR波谱叠加图,可以看出,两组患者¹H-NMR波谱图有明显差异,初步说明两种证型患者的内源性代谢谱具有明显差异。

2.3.2 两组患者¹H-NMR的模式识别分析 对¹H-NMR谱峰积分值进行分析后,得到PCA得分图及载荷图,从组间比较的PCA得分图(见图3)可以看出两组患者的代谢轮廓存在差异。

表2 血瘀证与非血瘀证2型糖尿病患者
血浆代谢组分VIP值(VIP值≥1)

代谢物	VIP值	代谢物	VIP值
延胡索酸盐	2.44	乙酰乙酸盐	1.27
二羟基丁酸	1.91	甘氨酸	1.27
二羟基异戊酸	1.91	焦谷氨酸盐	1.23
二酮基异己酸盐	1.86	三羟基丁酸	1.21
三甲基二氧代戊酸甲酯	1.51	蛋氨酸	1.09
丙酮	1.37	N乙酰鸟氨酸	1.09
三羟基异丁酸	1.33	亮氨酸	1.03
柠檬酸盐	1.31		

通过PLS-DA分析中的VIP值(表2, VIP值≥1

表示对两组差异有贡献), 再结合 t 检验, 发现血瘀证组丙酮、乙酰乙酸、 α -羟基丁酸、 α -羟基异戊酸、 β -羟基丁酸、 α -酮基异己酸盐、3-甲基-2-氧代戊酸甲酯、3-羟基异丁酸、甘氨酸高于非血瘀证组

($P < 0.05$), 而延胡索酸、柠檬酸、N-乙酰鸟氨酸、焦谷氨酸、蛋氨酸低于非血瘀证组 ($P < 0.05$), 其他 32 种代谢组分在两组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

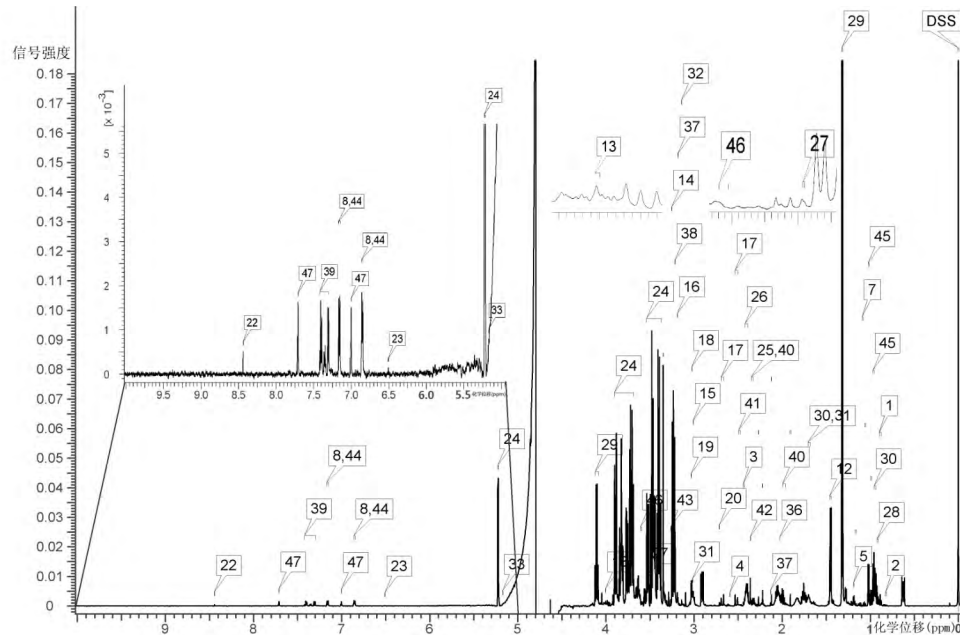


图1 两组2型糖尿病患者47种代谢物归属图

注: 1, 二羟基丁酸; 2, 二羟基异戊酸; 3, 二氧戊二酸盐; 4, 二酮基异己酸盐; 5, 三羟基丁酸; 6, 三羟基异丁酸; 7, 三甲基二氧代戊酸甲酯; 8, 四羟基苯乙酸; 9, 乙酸盐; 10, 乙酰乙酸盐; 11, 丙酮; 12, 丙氨酸; 13, 抗坏血酸盐; 14, 甜菜碱; 15, 戊二胺; 16, 胆碱; 17, 柠檬酸盐; 18, 肌酸; 19, 肌酐; 20, 二甲基砷; 21, 乙醇; 22, 甲酸盐; 23, 延胡索酸盐; 24, 葡萄糖; 25, 谷氨酸; 26, 谷氨酰胺; 27, 甘氨酸; 28, 异亮氨酸; 29, 乳酸盐; 30, 亮氨酸; 31, 赖氨酸; 32, 丙二酸盐; 33, 甘露糖; 34, 甲醇; 35, 蛋氨酸; 36, N-乙酰鸟氨酸; 37, O-乙酰肉碱; 38, O-胆碱磷酸; 39, 苯丙氨酸; 40, 脯氨酸; 41, 焦谷氨酸盐; 42, 丙酮酸盐; 43, 牛磺酸; 44, 络氨酸; 45, 缬氨酸; 46, 肌醇; 47, 赖氨酸

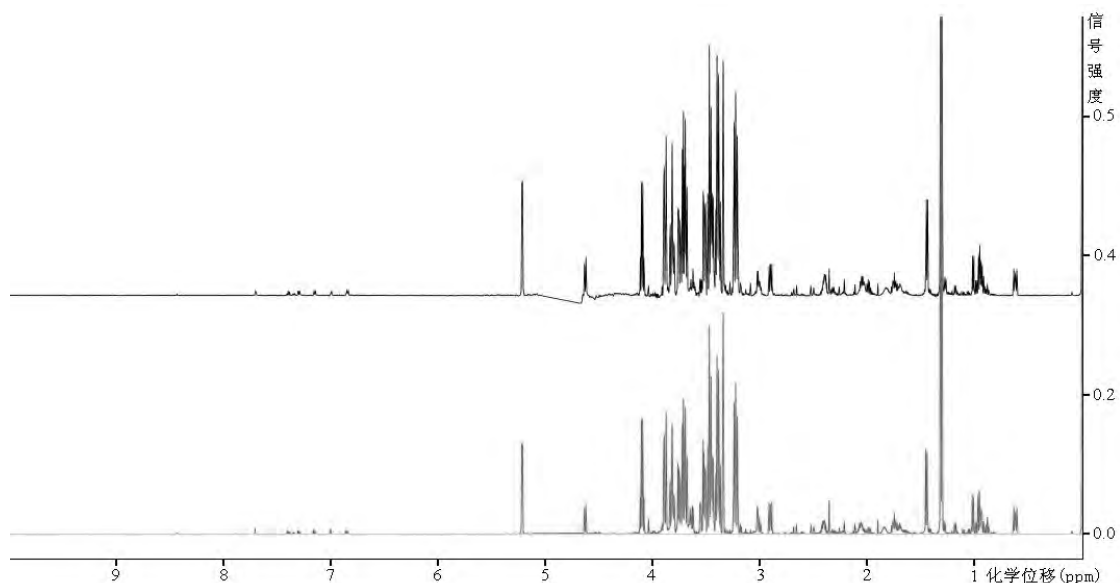
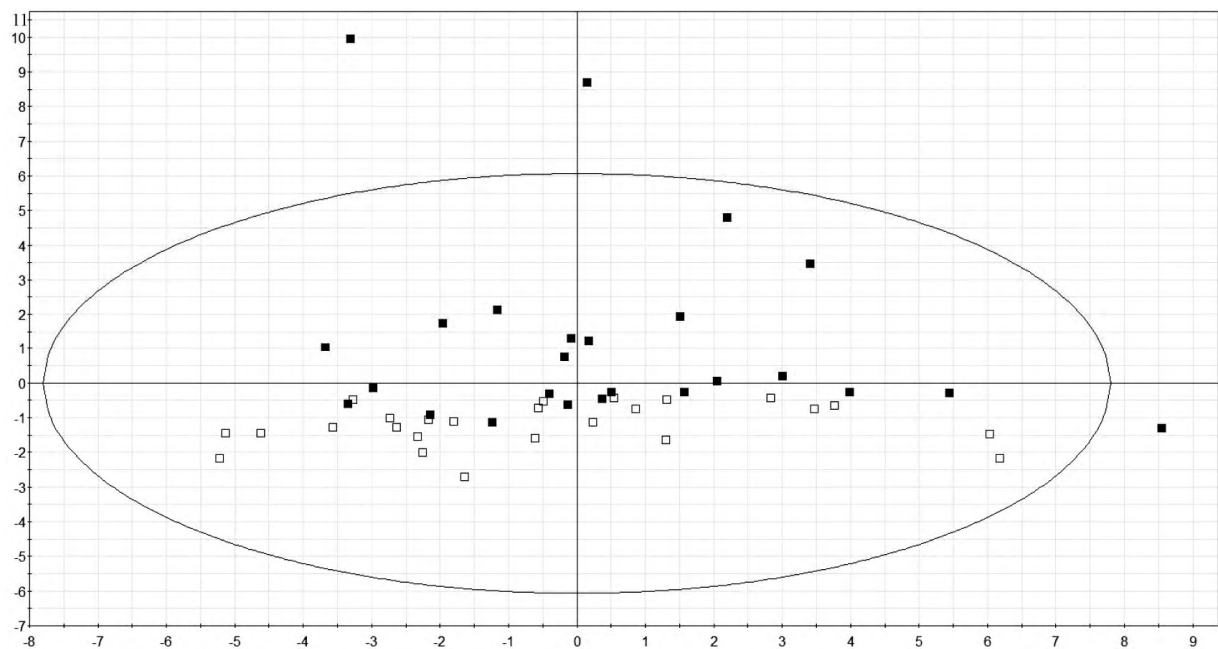


图2 两组2型糖尿病患者典型 ^1H -NMR波谱叠加图(上部分为非血瘀证,下部分为血瘀证)



注: ■, 非血瘀证组; □, 血瘀证组

图 3 两组 2 型糖尿病患者代谢组分 PCA 得分图

表 3 血瘀证与非血瘀证 2 型糖尿病患者血浆代谢组分 (mmol/L) 比较

项目	血瘀证组	非血瘀证组	t/Z 值	P 值
延胡索酸	0.0008 ± 0.0002 **	0.0013 ± 0.0003	-6.192	<0.001
丙酮	0.016 (0.013, 0.031) **	0.010 (0.007, 0.012)	-4.493	<0.001
α-羟基丁酸	0.051 ± 0.021 **	0.029 ± 0.013	4.401	<0.001
α-羟基异戊酸	0.010 ± 0.005 **	0.005 ± 0.002	4.405	<0.001
β-羟基丁酸	0.046 (0.035, 0.090) **	0.025 (0.019, 0.035)	-4.123	<0.001
α-酮基异己酸盐	0.0037 ± 0.0009 **	0.0025 ± 0.0011	4.249	<0.001
乙酰乙酸	0.028 (0.021, 0.061) **	0.015 (0.011, 0.021)	-4.007	<0.001
3-甲基-2-氧代戊酸甲酯	0.0037 ± 0.0011 **	0.0028 ± 0.0011	1.115	0.003
柠檬酸	0.055 ± 0.017 **	0.067 ± 0.016	-2.735	0.009
3-羟基异丁酸	0.012 ± 0.003*	0.010 ± 0.004	2.612	0.012
甘氨酸	0.079 ± 0.047 **	0.052 ± 0.023	2.647	0.012
焦谷氨酸	0.018 ± 0.006*	0.022 ± 0.006	-2.471	0.017
N-乙酰鸟氨酸	0.004 ± 0.001*	0.006 ± 0.003	-2.240	0.032
蛋氨酸	0.008 ± 0.004*	0.011 ± 0.005	-2.092	0.042

注: 与非血瘀证组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

NMR 是目前代谢组学的主要研究方法之一, 这种研究方法与传统物质指认方法不同, 它是通过比对标准数据库对样本核磁共振谱图进行去卷积抽取, 根据信号的相对高度差异、耦合常数及化学位移进行物质鉴定, 并通过绝对定量内标, 利用核磁共振信号无偏好和高线性范围的特点对指认出来的代谢物进行定量。

本研究通过与非血瘀证 2 型糖尿病患者血清代谢物比较, 发现一些可能与 2 型糖尿病血瘀证相关的特征性代谢物, 其中血瘀证 2 型糖尿病患者丙

酮、乙酰乙酸、α-羟基丁酸、α-羟基异戊酸、β-羟基丁酸、α-酮基异己酸盐、3-甲基-2-氧代戊酸甲酯、3-羟基异丁酸、甘氨酸高于非血瘀证, 而延胡索酸、柠檬酸、N-乙酰鸟氨酸、焦谷氨酸、蛋氨酸低于非血瘀证, 与国内学者利用代谢组学方法获得的血瘀证患者血液中主要代谢物的研究结果相似^[9-10]。

丙酮、乙酰乙酸和 β-羟基丁酸是酮体的组成成分, 酮体是脂肪酸代谢的中间产物, 其生成是以脂肪酸 β 氧化生成的乙酰辅酶 A (CoA) 为原料, 在肝细胞线粒体内经由乙酰 CoA → 乙酰乙酰 CoA → 羟甲基戊二酸单酰 CoA → 乙酰乙酸 → β-羟基丁酸合成

而来,其中合成的乙酰乙酸可少量转化为丙酮。酮体含量增加说明脂肪酸 β 氧化增加,可以认为血瘀证 2 型糖尿病患者体内脂肪分解增加,合成减少。

与能量代谢有关的有延胡索酸和柠檬酸。本次研究发现,血瘀证 2 型糖尿病患者血浆中延胡索酸和柠檬酸均较非血瘀证患者低,分析其可能原因为血瘀证 2 型糖尿病患者体内三羧酸循环受阻。再结合血瘀证 2 型糖尿病患者脂肪酸 β 氧化增加,可以推测血瘀证 2 型糖尿病患者体内由于脂代谢紊乱,脂肪酸氧化分解增加,生成乙酰 CoA 增加;同时由于糖代谢障碍,草酰乙酸减少,乙酰 CoA 进入三羧酸循环受阻,导致乙酰 CoA 大量堆积,酮体生成增加,而柠檬酸和延胡索酸合成减少。遗憾的是,本次研究未能检测出两组患者柠檬酸合酶等 TCA 中关键限速酶的水平。

差异代谢物中与其他代谢途径相关的还有甘氨酸、蛋氨酸、焦谷氨酸和 N-胰液鸟氨酸。血瘀证 2 型糖尿病患者体内甘氨酸水平升高,蛋氨酸、焦谷氨酸和 N-乙酰鸟氨酸水平降低。甘氨酸并不是必须氨基酸,且经过一系列代谢后可以形成亚铁血红素,具有肾毒性。蛋氨酸是一种生糖氨基酸,考虑其可能参与糖异生途径。焦谷氨酸在体内以游离形式存在于多种体液和组织中,参与组成神经紧张素、促甲状腺释放激素等多种神经肽的氨基末端。其在体内可与谷氨酸互相转化、拮抗谷氨酸受体,并与一系列遗传性疾病相关,血瘀证 2 型糖尿病患者体内焦谷氨酸水平降低的机制有待进一步研究。N-乙酰鸟氨酸可以经过脱乙酰基酶的作用转化为鸟氨酸或经氨甲羟转移酶的作用形成 N-乙酰瓜氨酸,再经脱乙酰基,形成瓜氨酸参与鸟氨酸循环,合成尿素,属于氨基酸代谢途径中的组成成分。

此外,本次研究还发现血瘀证 2 型糖尿病患者血浆中 α -羟基丁酸、3-羟基异丁酸、 α -酮基异己酸盐、 α -羟基异戊酸、3-甲基-2-氧代戊酸甲酯这 5 种有机酸水平较非血瘀证患者升高。其中, α -羟基丁酸可经由一系列转化形成琥珀酰 CoA 参与三羧酸循环,而 α -酮基异己酸盐、 α -羟基异戊酸和 3-甲基-2-氧代戊酸甲酯均为缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等氨基酸代谢产物,提示血瘀证 2 型糖尿病患者可能还存在一定程度的氨基酸代谢紊乱。 α -羟基异戊酸在 KEGG 数据库中未搜索到相关信息,其作用和所属代谢通路有待进一步研究。

本研究结果表明,血瘀证 2 型糖尿病患者血浆代谢物谱与非血瘀证 2 型糖尿病患者存在显著差

异,其差异主要集中在脂肪酸氧化、三羧酸循环和氨基酸代谢等代谢途径中,提示血瘀证 2 型糖尿病患者可能存在更为严重的脂肪代谢、氨基酸代谢紊乱以及能量代谢障碍。在本次研究中,有一些代谢物分析结果在多元统计和 t 检验中存在矛盾,如亮氨酸,对其检测结果进行 t 检验分析,认为两组存在差异,但其 VIP 值小于 1,其原因为多元统计学和单元统计学的关注点不同,所以这两个分析方法得到的结果可能不一样。多元统计学关注的是哪些变量最主要贡献于组间的分离,而单元统计学关注的是单个变量在两组间是否有显著性不同。

此外,本次研究中所检出的代谢物种类有限,这可能与 NMR 的检测线有关。从这次的研究中我们发现血瘀和脂毒在糖尿病发病过程中有一定关系,接下来可以通过灵敏度更高的靶向性检测方法对特定的通路进行研究,从代谢组学角度分析血瘀和脂毒在糖尿病发病过程中的相互关系,并通过研究不同证型的糖尿病患者之间存在的代谢组差异,为中医治疗糖尿病的量化辨证打下基础。

参考文献

- [1] LARIVE CK. Metabonomics, metabolomics, and metabolic profiling [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 387(2): 523.
- [2] LU X, ZHAO X, BAI C, et al. LC-MS-based metabolomics analysis [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2008, 866(1/2): 64-76.
- [3] 薛睿. 代谢组学技术: 中医药发展的重大契机 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(1): 176-177.
- [4] 纪云西, 黄贵华, 钱方, 等. 代谢组学与中医药发展 [J]. 广西中医学院学报, 2010, 13(1): 71-73.
- [5] 世界卫生组织. 糖尿病的诊断和分型 [J]. 吕文山, 董砚虎, 译. 中国糖尿病杂志, 2000, 8(1): 60-61, 58.
- [6] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 233-234.
- [7] WELJIE AM, NEWTON J, MERCIER P, et al. Targeted profiling: quantitative analysis of ^1H NMR metabolomics data [J]. Anal Chem, 2006, 78(13): 4430-4442.
- [8] SUHRE K, WALLASCHOFSKI H, RAFFLER J, et al. A genome-wide association study of metabolic traits in human urine [J]. Nature Genetics, 2011, 43(6): 565-569.
- [9] 魏星, 万玲, 刘石蜜, 等. 冠心病血瘀证血浆代谢组学研究 [J]. 中医杂志, 2013, 54(7): 587-591.
- [10] 华何与, 贾钰华, 张红栓, 等. 冠心病心绞痛三种血瘀证的血浆代谢组学研究 [J]. 热带医学杂志, 2010, 10(3): 258-260.

(下转第 672 页)

The Effect of *Qufeng Zhidong Decoction* (祛风止动方) on Regulatory T cells in Peripheral Blood of Child Patients with Tic Disorder

ZHANG Xin^{1,2}, WU Min¹, YU Jian'er², GAO Ge¹

(1. Xinhua Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092; 2. Chinese Medicine Hospital of Shanghai City, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the effect of *Qufeng Zhidong Decoction* (祛风止动方) on expression level of regulatory T cells (Treg) in peripheral blood of child patients with tic disorder. **Methods** Thirty children patients with tic disorder were collected as the treatment group. Another 20 healthy children were selected as the control group. The treatment group was given *Qufeng Zhidong Decoction* granules 1 dose per day for 3 months. The expression of Treg in peripheral blood of subjects was tested before and after treatment in the treatment group, and at the time when entered group in the control group. **Results** Before treatment, the expression level of Treg in peripheral blood of children in the treatment group was remarkably lower than that in the control group. At their preschool period (3 ~ 6 years old) and school age (7 ~ 16 years old), the expression level of Treg in peripheral blood in the treatment group also decreased compared with the control group ($P < 0.01$). After treatment The expression level of Treg in peripheral blood of child patients in the treatment group at their preschool period and school age all showed rising trend compared with that before treatment, but there was no statistical significance in differences ($P > 0.05$). **Conclusion** Abnormal expression of Treg is related to the attack of tic disorder. *Qufeng Zhidong Decoction* has up-regulation effect on Treg expression of child patients with tic disorder.

Keywords tic disorder; regulatory T cells; *Qufeng Zhidong Decoction*

(收稿日期: 2016-09-21; 修回日期: 2016-12-21)

编辑: 邓 媛

(上接第 668 页)

Characteristics of Plasma Metabonomics of Patients of Diabetes Mellitus Type 2 with Blood Stasis Syndrome

CHU Shufang, LI Huilin, LIU Deliang, ZHAO Hengxia, ZHANG Zhiling, LI Zengying

(The Fourth School of Clinic Medicine, Guangzhou University of Chinese medicine/Chinese Medical Hospital of Shenzhen, Shenzhen, 518033)

ABSTRACT Objective To explore the features of plasma metabonomics in patients with diabetes mellitus type 2 with blood stasis syndrome. **Methods** Fifty patients with diabetes mellitus type 2 were enrolled, among whom 25 with blood stasis syndrome and 25 without blood stasis syndrome. The basic condition and blood stasis syndrome scores of patients in two groups were observed. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy was applied to conduct quantitative determination on plasma contents of metabolites. Main factors contributing to the differences in metabolic components of patients in the two groups were analyzed using principal component analysis method. The possible metabolic pathways in the two groups were concluded. **Results** Blood stasis syndrome scores of type 2 diabetic patients with blood stasis syndrome were remarkably higher than that of without blood stasis syndrome ($P < 0.05$). Forty-seven kinds of metabonomics were detected totally using NMR. Some of those were found in both two groups, but there were significant differences between the groups. Levels of acetone, acetoacetate, alpha hydroxy butyric acid, alpha hydroxy isovaleric acid, beta hydroxy butyric acid, alpha keto alien acid salt, 3-methyl-2-oxopentanoate, 3-hydroxy isobutyric acid and glycine in patients with blood stasis syndrome were higher than that in those without blood stasis syndrome ($P < 0.05$). However, levels of fumaric acid, citric acid, N-acetyl ornithine, pyroglutamic acid, and methionine in group with blood stasis syndrome were lower than those in the group without blood stasis syndrome ($P < 0.05$). There was no statistical significant difference in other 32 kinds of metabonomics between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Patients with diabetes mellitus type 2 with blood stasis syndrome may have more severe fat metabolic, amino acid metabolic and energy metabolic disorders.

Keywords diabetes mellitus type 2; blood stasis syndrome; metabonomics; nuclear magnetic resonance spectroscopy

(收稿日期: 2016-11-08; 修回日期: 2017-01-10)

编辑: 王利芬