

• 基础研究 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.17.003

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20240614.1531.013\(2024-06-17\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20240614.1531.013(2024-06-17))二十碳五烯酸通过 p38 MAPK 通路对肥胖大鼠
骨骼肌胰岛素抵抗的作用研究*刘欢¹, 李天柱², 郝丹丹², 高丽枫², 斯日古楞^{2△}(1. 锦州医科大学赤峰学院研究生培养基地, 内蒙古赤峰 024000; 2. 赤峰学院基础医学院/
内蒙古人类遗传病研究自治区高等学校重点实验室, 内蒙古赤峰 024000)

[摘要] **目的** 探讨二十碳五烯酸(EPA)通过调控 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路对肥胖大鼠骨骼肌胰岛素抵抗的改善作用。**方法** 将 50 只雄性 Wistar 大鼠随机分组为对照组、模型组、抑制剂组、EPA 组、抑制剂+EPA 组, 每组 10 只, 共干预 6 周。造模后抑制剂组灌胃 1 mg/kg p38 MAPK 抑制剂 SB203580, EPA 组灌胃 70 mg/kg EPA, 抑制剂+EPA 组灌胃 SB203580+EPA, 模型组和对照组灌胃等体积生理盐水。测定大鼠空腹血糖、空腹血清胰岛素水平、骨骼肌组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)水平, 采用腹腔葡萄糖耐量实验(IPGTT)和胰岛素耐受实验(ITT)评价大鼠胰岛素抵抗程度, 采用 Western blot 法和实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法测定大鼠骨骼肌组织中磷酸化 p38 (p-p38)蛋白及 p38 mRNA 表达情况。**结果** 与对照组相比, 模型组大鼠体重、附睾脂肪湿重、空腹血糖、空腹胰岛素水平、IPGTT 血糖水平、ITT 血糖水平、MDA 水平明显升高, GSH-Px 和 SOD 活性明显降低, 骨骼肌组织中 p-p38 蛋白表达和 p38 mRNA 表达明显升高($P<0.05$)。与模型组相比, EPA 组和抑制剂+EPA 组大鼠的体重和附睾脂肪湿重明显降低, 抑制剂组和 EPA 组大鼠空腹血糖、空腹胰岛素水平、IPGTT 血糖水平、ITT 血糖水平、MDA 水平明显降低, GSH-Px 和 SOD 活性明显升高, 骨骼肌组织中 p-p38 蛋白表达明显降低($P<0.05$), 但骨骼肌组织中 p38 mRNA 表达无明显改变($P>0.05$)。**结论** EPA 可能是通过抑制 p38 MAPK 信号通路减轻氧化应激反应, 从而改善肥胖大鼠骨骼肌胰岛素抵抗。

[关键词] 二十碳五烯酸; 胰岛素抵抗; p38 MAPK 信号通路; 氧化应激; 骨骼肌; 高脂饮食**[中图法分类号]** R589.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2024)17-2571-06Effect of eicosapentaenoic acid on skeletal muscle insulin resistance of obesity
rats by inhibiting the p38 MAPK pathway*LIU Huan¹, LI Tianzhu², HAO Dandan², GAO Lifeng², SIRI Guleng^{2△}(1. Postgraduate Training Base, Chifeng College of Jinzhou Medical University, Chifeng,
Inner Mongolia 024000, China; 2. Key Laboratory of Research on Human Genetic Diseases at
Universities of Inner Mongolia Autonomous Region, School of Basic
Medicine, Chifeng University, Chifeng, Inner Mongolia 024000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the improving effect of eicosapentaenoic acid (EPA) on the skeletal muscle insulin resistance in obese rats by regulating the p38 MAPK signaling pathway. **Methods** Fifty male Wistar rats were randomly divided into the control group, model group, inhibitor group, EPA group and inhibitor+EPA group, 10 cases in each group. The intervention lasted for 6 weeks. The inhibitor group was given 1 mg/kg p38 MAPK inhibitor SB203580 by gavage. The EPA group was given 70 mg/kg EPA by gavage, the inhibitor+EPA group was given SB203580+EPA by gavage, and the model group and control group were given equal volume of saline. The levels of fasting blood-glucose, fasting serum insulin, glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in the skeletal muscles were determined. The rat insulin resistance degree was evaluated by using the intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) and insulin tolerance test (ITT). The protein and mRNA expression levels of phosphorylation p38 in the rat skeletal muscle tissues were detected by Western blot and qRT-PCR. **Results** Compared with the

* 基金项目: 内蒙古自治区高等学校青年科技英才支持计划(NJYT24032); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2022MS08032); 内蒙古人类遗传病研究自治区高等学校重点实验室开放课题基金项目(YC202303); 赤峰学院科研基金项目(CFXYQNZR2215, JYJXZ202207)。△ 通信作者, E-mail: siriguleng@cfxy.edu.cn。

control group, the body weight, epididymal fat wet weight, fasting blood-glucose and insulin levels, IPGTT and ITT blood glucose levels, and MDA content in the model group were significantly increased, the GSH-Px and SOD activities were significantly decreased, and the relative expression levels of p-p38 protein and p38 mRNA expression in skeletal muscle tissues were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the body weight and epididymal fat wet weight in the EPA group and inhibitor+EPA group were significantly decreased, while the fasting blood-glucose, fasting serum insulin, IPGTT and ITT blood glucose levels and MDA contents in the inhibitor group and EPA group were significantly decreased, the activities of GSH-Px and SOD were significantly increased, and the relative expression level of p-p38 protein in skeletal muscle tissues was significantly decreased ($P < 0.05$). However, the expression of p38 mRNA in skeletal muscle tissues had no significant change ($P > 0.05$). **Conclusion** EPA alleviates the oxidative stress possibly by inhibiting p38 MAPK signaling pathway, thus improves the skeletal muscle insulin resistance of obese rats.

[Key words] eicosapentaenoic acid; insulin resistance; p38 MAPK signaling pathway; oxidative stress; skeletal muscle; high-fat diet

随着人民生活水平提升及膳食结构的改变,肥胖问题已成为全球面临的重大公共卫生问题^[1]。肥胖与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)的发展密切相关,而 IR 又在肥胖相关代谢并发症(包括代谢综合征、2 型糖尿病)的发病机制中发挥着关键作用^[2-3]。IR 是机体靶组织器官(包括骨骼肌、脂肪组织和肝脏)对胰岛素敏感性降低而产生一系列病理生理变化^[4],其中骨骼肌是 IR 发生的主要器官,骨骼肌中脂质沉积、线粒体结构发生紊乱与 IR 有密切关系。二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)是一种 ω -3 多不饱和脂肪酸,对人类健康产生有益影响^[5-6]。研究发现, EPA 在高脂饮食模型中可提高脂联素水平,刺激骨骼肌中葡萄糖利用和脂肪酸氧化而改善 IR^[7]。而在丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族中, p38 MAPK 信号通路是骨骼肌胰岛素信号转导的重要通路之一^[8]。EPA 是否通过调控 p38 MAPK 信号通路改善高脂饮食诱导大鼠骨骼肌 IR 的作用鲜见报道。本研究观察 EPA 对肥胖大鼠骨骼肌 IR 的影响,并初步探讨其是否通过 p38 MAPK 信号通路发挥作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

6 周龄 SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 体重为 180~210 g, 购自北京科宇动物养殖中心[生产许可证号: SCXK(京)2018-0010]。实验前将大鼠适应性饲养于 SPF 级动物房 1 周, 温度(22 ± 2)℃、湿度(50 ± 5)%、明照/暗照各 12 h, 自由饮食。

1.1.2 主要试剂

EPA(纯度 98%)购自上海融禾医药科技发展有限公司, 用无血清 DMEM 培养液稀释至 5 g/L, 滤过、灭菌、分装、冻存。使用前取出融化, 用生理盐水稀释至最终浓度。p38 MAPK 抑制剂 SB203580(纯度 > 98%)购自北京百奥莱博科技有限公司, 用 DMSO 配制, 浓度为 20 mg/mL。高脂肪(脂肪供能比为 45%)

饲料购自江苏省协同医药生物工程有限公司。p38、p-p38(Thr180/Tyr182)抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司; GAPDH 抗体购自美国 Sigma 公司; 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗购自江苏康为世纪生物科技公司; 血糖仪及血糖试纸购自罗氏诊断产品(上海)有限公司; 全蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒、胰岛素酶联免疫吸附测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒和丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与给药

随机选取 10 只大鼠作为对照组(灌胃等体积生理盐水), 其余 40 只大鼠高脂饲料喂养 4 周制作 IR 模型, 建模成功后随机分为模型组(灌胃等体积生理盐水)、抑制剂组(灌胃 SB203580 1 mg/kg)、EPA 组(灌胃 EPA 70 mg/kg)、抑制剂+EPA 组(同时灌胃 EPA 和 SB203580), 每组 10 只, 每日灌胃 1 次, 共 6 周。

1.2.2 实验标本采集

灌胃 6 周后称重, 大鼠腹腔注射 1%戊巴比妥钠 12 mL/kg 进行麻醉并固定, 暴露腹腔, 通过腹主动脉采集大鼠血液。将血液以 2 000 r/min 离心 15 min 并收集血清, 置于低温冰箱中储存备用。快速剥离其骨骼肌及附睾脂肪, 滤纸吸干多余水分后, 天平称取附睾脂肪湿重。骨骼肌标本使用无菌小剪刀在冰上剪碎, 放入 -80℃冰柜中用于后续检测。

1.2.3 大鼠腹腔葡萄糖耐量实验(intraperitoneal glucose tolerance test, IPGTT)和胰岛素耐受实验(insulin tolerance test, ITT)检测

IPGTT: 灌胃第 5 周的第 1 天, 各组大鼠禁食 6 h, 按照大鼠体重注射 20%葡萄糖溶液至腹腔内(2 g/kg), 随后分别于 0 min(注射葡萄糖前)及 30、60、90、120 min 尾静脉处取血, 测定血糖值。ITT: 灌

胃第6周的第1天,各组大鼠禁食12 h,腹腔内注射0.75 U胰岛素,尾静脉处取血,随后分别于0 min(注射胰岛素前)及30、60、90、120 min尾静脉处取血,测定血糖值。

1.2.4 大鼠空腹血糖、血清胰岛素水平的检测

灌胃6周后各组大鼠禁食6 h,从尾静脉采血,使用血糖仪测定空腹血糖。使用胰岛素酶联免疫吸附测定试剂盒检测胰岛素水平,步骤参照试剂盒说明书进行。

1.2.5 大鼠骨骼肌组织中氧化应激指标的检测

取骨骼肌组织标本,用预冷的生理盐水洗涤,剪碎后14 000 r/min离心10 min,收集组织上清液。采用二硫代二硝基苯甲酸法测定GSH-Px活性;采用嘌呤氧化酶法测定SOD活性;采用硫代巴比妥酸法测定MDA水平,步骤参照试剂盒说明书进行。

1.2.6 大鼠骨骼肌组织中p38 mRNA检测

采用qRT-PCR法,取冻存管内肌肉组织中加入TRIzol,匀浆后室温静置10 min,12 000 r/min,4℃离心10 min,取上清液。取总RNA样品1 μL,按cDNA反转录试剂盒说明书反转录得到cDNA模板。将逆转录后cDNA配置为20 μL的PCR体系,real-time PCR反应体系20 μL,包括SYBR Green PCR Master Mix 10 μL,正向与反向引物分别0.04 μL,cDNA模板2 μL,DEPC水7.92 μL。引物序列分别为:p38正向5'-GAT AAG AAC AGC CGG ACT ACC CAA G-3',反向5'-TAC TAC ACT GGC TGA CGT GCT GCG-3';GAPDH(内参)正向5'-AAT GTC CCG TCT GGA TCC GAC-3',反向5'-TGC GTA GCC GAG ATA CGT TCA-3'。通过2^{-ΔΔCt}计算目的基因相对表达水平。

1.2.7 大鼠骨骼肌组织中p38、p-p38蛋白检测

通过Western blot法测定p38、p-p38蛋白的表达。采用放射免疫沉淀法(RIPA)裂解骨骼肌组织,冰上静置60 min,保证组织与裂解液充分反应;4℃14 000×g离心15 min,提取总蛋白,BCA法检测蛋白定量,每个样品取20 μg经10% SDS-PAGE分离蛋白、PVDF转膜、室温下10%脱脂奶粉的TBST溶液封闭1 h,分别用相应的p38(1:1 000)、p-p38(1:1 000)、GAPDH(1:1 000)一抗4℃下孵育过夜,TBST洗3次,再加入二抗(1:5 000)室温下孵育1 h;采用增强型发光试剂和Tanon-5200化学发光显影系统检测蛋白条带,以GAPDH为参照,使用Image J软件进行蛋白定量。

1.3 统计学处理

采用SPSS22.0软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用单因素方差分析与LSD-*t*检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠体重与附睾脂肪湿重

与对照组相比,模型组的大鼠体重和附睾脂肪湿重明显增加($P < 0.05$)。与模型组相比,EPA组和抑制剂+EPA组的大鼠体重和睾丸周围脂肪湿重明显减少($P < 0.05$),但抑制剂组减少不明显($P > 0.05$),见表1。

表 1 大鼠体重与附睾脂肪湿重的比较($\bar{x} \pm s, g$)			
组别	<i>n</i>	体重	附睾脂肪湿重
对照组	10	381±13	5.639±0.725
模型组	10	489±12 ^a	10.471±1.072 ^a
抑制剂组	10	433±13	8.712±0.823
EPA组	10	395±14 ^b	6.196±0.818 ^b
抑制剂+EPA组	10	378±11 ^b	5.896±0.982 ^b

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较。

2.2 大鼠空腹血糖和血清胰岛素水平

与对照组相比,模型组的空腹血糖和血清胰岛素水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组相比,抑制剂组和EPA组的空腹血糖和血清胰岛素水平明显降低($P < 0.05$),抑制剂+EPA组的空腹血糖和血清胰岛素水平降低不明显($P > 0.05$),见表2。

表 2 大鼠空腹血糖和血清胰岛素水平的比较($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	空腹血糖(mg/dL)	血清胰岛素(mmol/L)
对照组	10	72.9±3.5	23.77±2.02
模型组	10	91.5±8.3 ^a	84.98±5.49 ^a
抑制剂组	10	80.9±10.2 ^b	71.52±4.35 ^b
EPA组	10	76.8±3.6 ^b	41.86±5.17 ^b
抑制剂+EPA组	10	88.4±13.8	75.74±6.43

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较。

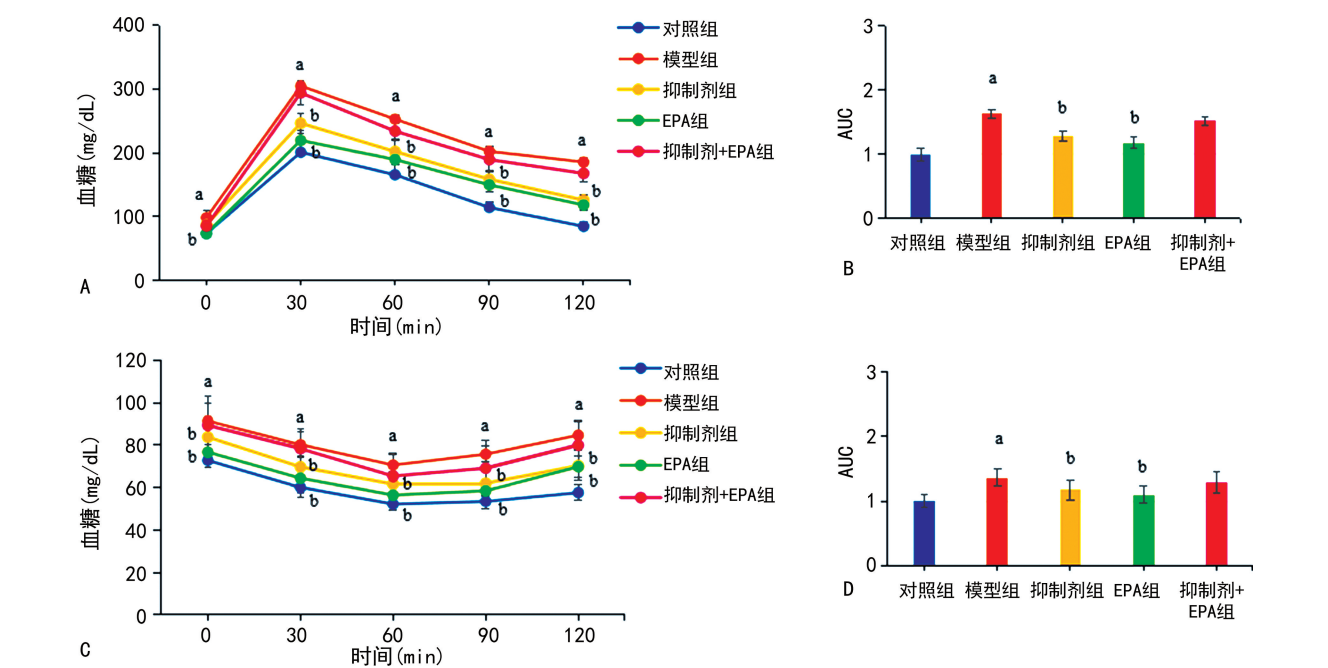
2.3 IPGTT和ITT

IPGTT试验中,与对照组相比,模型组的血糖水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组相比,抑制剂组和EPA组的血糖水平明显降低($P < 0.05$),抑制剂+EPA组的血糖水平降低不明显($P > 0.05$),见图1A。模型组的曲线下面积(area under curve,AUC)高于对照组,抑制剂组、EPA组的AUC低于模型组,抑制剂+EPA组的AUC与模型组相比差异无统计学意义($P > 0.05$),见图1B。ITT试验分析显示,模型组的血糖水平高于模型组($P < 0.05$),抑制剂组和EPA组血糖水平低于模型组($P < 0.05$),抑制剂+EPA组的血糖水平降低不明显($P > 0.05$),见图1C。模型组的AUC高于对照组,抑制剂组和EPA组的AUC低于模型组,抑制剂+EPA组的AUC与模型组相比无明显改变($P > 0.05$),见图1D。

2.4 氧化应激指标

与对照组相比,模型组的GSH-Px和SOD活性明显降低($P < 0.05$),MDA水平明显升高($P < 0.01$)。与模型组相比,抑制剂组、EPA组GSH-Px和SOD活性明显升高($P < 0.05$),MDA水平明显降

低($P<0.05$),而抑制剂+EPA 组的 GSH-Px、SOD、MDA 水平并无明显改变($P>0.05$),见表 3。



A:IPGTT 结果;B:IPGTT 的 AUC;C:ITT 结果;D:ITT 的 AUC;^a: $P<0.05$,与对照组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

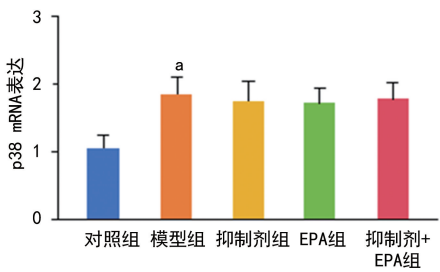
图 1 IPGTT 和 ITT 的检测情况

表 3 大鼠骨骼肌组织中氧化应激指标的比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	GSH-Px (U/mg)	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)
对照组	10	121.23±17.69	67.64±6.80	8.22±1.07
模型组	10	81.79±11.86 ^a	38.08±4.62 ^a	51.42±4.03 ^a
抑制剂组	10	102.58±10.56 ^b	42.84±3.86 ^b	19.61±2.84 ^b
EPA 组	10	120.17±12.93 ^b	66.76±6.25 ^b	12.54±2.19 ^b
抑制剂+EPA 组	10	87.52±13.28	41.93±5.73	48.83±3.61

^a: $P<0.05$,与对照组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

2.5 p38 mRNA 的表达

与对照组相比,模型组的 p38 mRNA 表达明显增加($P<0.05$),与模型组相比,抑制剂组、EPA 组和抑制剂+EPA 组的 p38 mRNA 表达水平无明显改变($P>0.05$),见图 2。

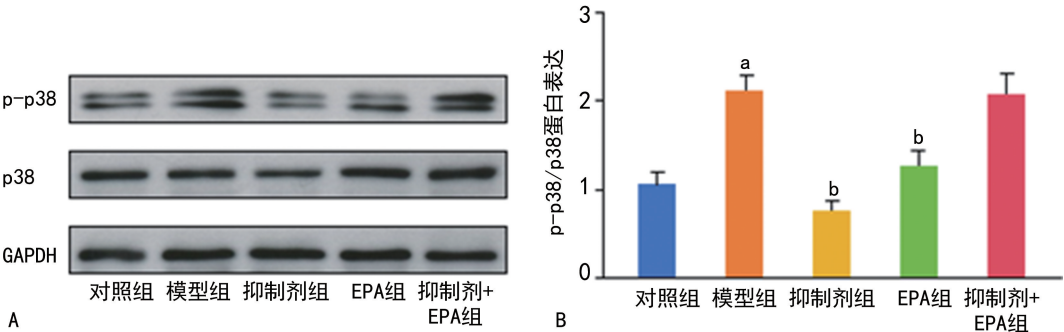


^a: $P<0.05$,与对照组比较。

图 2 大鼠骨骼肌组织中 p38 mRNA 的表达

2.6 p-p38/p38 蛋白表达

与对照组相比,模型组的 p-p38/p38 蛋白表达水平明显增加($P<0.05$)。与模型组相比,抑制剂组和 EPA 组的 p-p38/p38 蛋白表达水平明显减少($P<0.05$),抑制剂+EPA 组的 p-p38/p38 蛋白表达水平无明显改变($P>0.05$),见图 3。



A:Western blot 结果;B:Western blot 结果统计量;^a: $P<0.05$,与对照组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

图 3 大鼠骨骼肌组织中 p-p38/p38 的蛋白表达

3 讨 论

肥胖由高热量、高糖、高脂肪食物的摄入过多导致,是一种慢性代谢性疾病,脂质代谢产物异位沉积在肝脏、骨骼肌、脂肪组织中,最终导致 IR 的发生^[9]。肥胖是 IR 和 2 型糖尿病发生的主要风险因素之一。EPA 是一种 ω -3 多不饱和脂肪酸,主要存在于鱼油中,具有抗炎、抗氧化、调节血脂作用,是国内外营养生化研究热点之一^[10-12]。EPA 可降低血清三酰甘油、非高密度脂蛋白胆固醇水平,还可抑制动脉粥样硬化,减少心血管疾病的发生^[13]。EPA 在改善糖尿病 IR 方面陆续有临床报道^[14],但 EPA 在肥胖患者骨骼肌 IR 中的具体作用及其机制仍处于探索阶段。

本研究采用高脂饮食诱导建立 IR 模型^[15],实验结果显示,高脂饮食诱导后大鼠的体重、附睾脂肪明显增加。EPA 干预后可促进能量消耗,改进脂质代谢紊乱^[16]。此外,增加能量消耗可能有助于抑制脂肪积累^[17-18],这可以解释本研究中 EPA 组的附睾脂肪比模型组少。脂质代谢紊乱是肥胖和 IR 模型中骨骼肌胰岛素敏感性降低的主要原因。IPGTT 和 ITT 是评价 IR 的主要手段^[15]。本研究发现,高脂饮食诱导大鼠的血糖和胰岛素水平明显增高,且 IPGTT 和 ITT 中发现高脂饮食诱导大鼠每个时间段血糖水平都明显升高,这也符合 IR 发生的临床表现,提示造模成功。而 EPA 干预后降低了空腹血糖、胰岛素水平,提高了胰岛素敏感性,改善了 IR,提示 EPA 可能对高脂饮食诱导大鼠 IR 具有一定的改善作用。本研究结果与文献^[19]报道一致。联合干预的大鼠空腹血糖和胰岛素水平与模型组相比没有明显变化。

骨骼肌在新陈代谢等生理活动中至关重要,在胰岛素介导的葡萄糖转位和运输中起到关键作用。由于骨骼肌是餐后葡萄糖清除的主要器官,骨骼肌 IR 被认为是肥胖和 2 型糖尿病发生的主要原因^[20-22]。有研究报道氧化应激与 IR 有密切关系^[23-24]。本研究结果显示,与对照组相比,模型组大鼠骨骼肌组织中 SOD、GSH-Px 活性下降,而 MDA 水平升高,表明 IR 状态下,机体内的氧化和抗氧化因子的平衡被破坏。与模型组相比,p38 抑制剂干预后 GSH-Px 和 SOD 活性增高,MDA 水平降低。EPA 干预后结果显示,EPA 降低了胰岛素抵抗大鼠骨骼肌组织中的 MDA 水平,同时升高了 SOD、GSH-Px 活性,表明 EPA 具有抑制高脂饮食诱导大鼠骨骼肌氧化应激的作用。

骨骼肌胰岛素信号通路众多,研究较多的是 MAPK 信号通路和磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白[phosphatidylinositol-3-kinase(PI3K)/protein kinase B(Akt)/the mammalian target of Rapamycin(mTOR),PI3K/Akt/mTOR]信号通路,其中 MAPK 家族成员 p38 MAPK 与 IR 密切相关。目前普遍认为,p38 MAPK 是主要的应激信号传导蛋白,能够被高果糖、高脂肪等多种应激信号及

氧化反应激活,在骨骼肌 IR 和调节葡萄糖转运和代谢中发挥着重要作用^[25-26]。通过 Western blot 和 qRT-PCR 检测大鼠骨骼肌组织中 p38 MAPK 蛋白磷酸化的变化,发现高脂饮食诱导大鼠骨骼肌 p38 MAPK 磷酸化较正常大鼠急剧增加,表明高脂状态下大鼠骨骼肌 p38 MAPK 通路被全面激活。通过注射抑制剂几乎完全抑制高脂诱导大鼠骨骼肌组织中 p38 的磷酸化水平,但 p38 mRNA 水平无明显改变;EPA 干预也在蛋白质水平抑制了 p38 磷酸化,有趣的是 EPA 联合抑制剂干预时 p38 磷酸化水平未得到明显抑制,可能由于联合干预反而起到了反馈调节作用^[27],需进一步探讨研究。

综上所述,EPA 可改善肥胖大鼠骨骼肌 IR,该作用可能通过抑制 p38 MAPK 信号通路来减轻氧化应激损伤,从而改善骨骼肌 IR。未来应加深对 EPA 改善 IR 的研究,为防治肥胖有关 IR 疾病提供新思路。

参考文献

[1] COUTINHO W, HALPERN B. Pharmacotherapy for obesity: moving towards efficacy improvement[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2024, 16(1):6.

[2] OGAWA W, ARAKI E, ISHIGAKI Y, et al. New classification and diagnostic criteria for insulin resistance syndrome[J]. *Endocr J*, 2022, 69(2): 107-113.

[3] SZUKIEWICZ D. Molecular mechanisms for the vicious cycle between insulin resistance and the inflammatory response in obesity[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12):9818.

[4] LEE S H, PARK S Y, CHOI C S. Insulin resistance; from mechanisms to therapeutic strategies [J]. *Diabetes Metab J*, 2022, 46(1):15-37.

[5] CHAPMAN M J, ZAMORANO J L, PARHOFER K G. Reducing residual cardiovascular risk in Europe: therapeutic implications of European medicines agency approval of icosapent ethyl/ eicosapentaenoic acid [J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 237:108172.

[6] CALDER P C. Very long-chain n-3 fatty acids and human health: fact, fiction and the future [J]. *Proc Nutr Soc*, 2018, 77(1):52-72.

[7] YU S, XIE Q, TAN W, et al. Different ratios of DHA/EPA reverses insulin resistance by improving adipocyte dysfunction and lipid disorders in HFD-induced IR mice[J]. *Food Funct*, 2023, 14(2):1179-1197.

[8] ZHANG B, YU L D, ZHU R J, et al. Malting

barley carbon dots-mediated oxidative stress promotes insulin resistance in mice via NF- κ B pathway and MAPK cascade[J]. J Nanobiotechnology,2022,20(1):331.

[9] AHMED B,SULTANA R,GREENE M W. Adipose tissue and insulin resistance in obese[J]. Biomed Pharmacother,2021,137:111315.

[10] CRUPI R,CUZZOCREA S. Role of EPA in inflammation: mechanisms, effects, and clinical relevance[J]. Biomolecules,2022,12(2):242.

[11] SHERRATT S C R,LIBBY P,DAWOUD H, et al. Eicosapentaenoic acid (EPA) reduces pulmonary endothelial dysfunction and inflammation due to changes in protein expression during exposure to particulate matter air pollution [J]. Biomed Pharmacother,2023,162:114629.

[12] NARTEY M N N,SHIMIZU H,SUGIYAMA H, et al. Eicosapentaenoic acid induces the inhibition of adipogenesis by reducing the effect of PPAR γ activator and mediating PKA activation and increased COX-2 expression in 3T3-L1 cells at the differentiation stage[J]. Life (Basel),2023,13(8):1704.

[13] SWEENEY T E,GAINE S P,MICHOS E D. Eicosapentaenoic acid *vs.* docosahexaenoic acid for the prevention of cardiovascular disease[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes,2023,30(2):87-93.

[14] TAKESHITA Y,TERAMURA C,KAMOSHITA K, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on serum levels of selenoprotein P and organ-specific insulin sensitivity in humans with dyslipidemia and type 2 diabetes[J]. J Diabetes Investig,2022,13(3):532-542.

[15] GOU Y,LIU B,CHENG M, et al. d-Allulose ameliorates skeletal muscle insulin resistance in high-fat diet-fed rats [J]. Molecules, 2021, 26(20):6310.

[16] DING L,YANG J,GUO H, et al. Dietary eicosapentaenoic acid containing phosphoethanolamine plasmalogens remodels the lipidome of white adipose tissue and suppresses high-fat diet induced obesity in mice[J]. Mol Nutr Food Res,2023,67(18):e2200321.

[17] WANG Q,SUN J,LIU M, et al. The new role of AMP-activated protein kinase in regulating fat metabolism and energy expenditure in adipose tissue [J]. Biomolecules, 2021, 11(12):1757.

[18] WERNICKE C,POHRT A,PLETSCH-BORBA L, et al. Effect of unsaturated fat and protein intake on liver fat in people at risk of unhealthy aging: 1-year results of a randomized controlled trial[J]. Am J Clin Nutr,2023,117(4):785-793.

[19] ZHUANG P,LI H,JIA W, et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids attenuate hyperglycemia through the microbiome-gut-organs axis in db/db mice[J]. Microbiome,2021,9(1):185.

[20] MERZ K E,THURMOND D C. Role of skeletal muscle in insulin resistance and glucose uptake[J]. Compr Physiol,2020,10(3):785-809.

[21] ALEKSANDROWICZ R,STRACZKOWSKI M. Link between insulin resistance and skeletal muscle extracellular matrix remodeling[J]. Endocr Connect,2023,12(5):e230023.

[22] SYLOW L,TOKARZ V L,RICHTER E A, et al. The many actions of insulin in skeletal muscle, the paramount tissue determining glycemia [J]. Cell Metab,2021,33(4):758-780.

[23] PIERI B L D S,RODRIGUES M S,FARIAS H R, et al. Role of oxidative stress on insulin resistance in diet-induced obesity mice[J]. Int J Mol Sci,2023,24(15):12088.

[24] SINGH A,KUKRETI R,SASO L, et al. Mechanistic insight into oxidative stress-triggered signaling pathways and type 2 diabetes [J]. Molecules,2022,27(3):950.

[25] LIU Y,HAN X,CAI M, et al. Jianpi Qinghua Formula alleviates insulin resistance via restraining of MAPK pathway to suppress inflammation of the small intestine in DIO mice[J]. BMC Complement Med Ther, 2022, 22(1):129.

[26] BENGAL E,AVIRAM S,HAYEK T. p38 MAPK in glucose metabolism of skeletal muscle: beneficial or harmful? [J]. Int J Mol Sci,2020,21(18):6480.

[27] AMBROSINO C,MACE G,GALBAN S, et al. Negative feedback regulation of MKK6 mRNA stability by p38alpha mitogen-activated protein kinase[J]. Mol Cell Biol,2003,23(1):370-381.