

·基础研究·

# 基于AMPK/mTOR通路调控氧化应激探讨电针治疗原发性痛经大鼠的作用机制

彭玉婷<sup>1</sup>, 资艳<sup>1</sup>, 魏艳蓉<sup>2</sup>, 张游<sup>1</sup>, 唐旖雯<sup>1</sup>, 岳增辉<sup>1\*</sup>

1 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南长沙 410208;

2 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007

\* 通信作者: 岳增辉, E-mail: 624755064@qq.com

收稿日期: 2025-07-25; 接受日期: 2025-11-20

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(2023SK2045); 湖南省自然科学基金项目(2023JJ30462); 学科建设“揭榜挂帅”项目(22JBZ007);

湖南中医药大学研究生科研创新项目(2022CX110)

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2026.02008

**摘要 目的** 探讨电针三阴交穴对原发性痛经(PDM)模型大鼠疼痛症状及子宫组织损伤的影响,并分析其潜在的作用机制。**方法** 选取60只SPF级雌性SD大鼠,按随机数字表法分为空白组、模型组、假电针组、电针组和药物组,每组12只。空白组不做干预,其余4组均通过苯甲酸雌二醇联合缩宫素制备周期性PDM大鼠模型。从造模第4天起,电针组电针双侧三阴交穴,25 min/次,1次/d,持续5 d;空白组和模型组进行抓取捆绑处理,不进行干预;假电针组于双侧三阴交穴旁开2 mm处针刺,留针25 min/次,1次/d,持续5 d;药物组给予布洛芬灌胃治疗,1次/d,持续5 d。干预结束后,采用动物行为学评估法评估大鼠疼痛反应;采用HE染色法对大鼠子宫组织进行病理学变化分析;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测大鼠血清中前列腺素E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)、前列腺素F<sub>2</sub>α(PGF<sub>2</sub>α)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量;采用二氢乙啶(DHE)免疫荧光探针活性氧(ROS)染色法检测大鼠子宫组织ROS含量;采用蛋白质印迹技术(WB)分析大鼠子宫组织中腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)及其磷酸化形式的表达水平。**结果** ① 行为学指标:与空白组比较,模型组、假电针组、电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数和扭体潜伏期均明显升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数均明显更低( $P<0.05$ ),扭体潜伏期均明显更长( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数均明显更低( $P<0.05$ ),扭体潜伏期均明显更长( $P<0.05$ )。② 子宫组织病理损伤评分:与空白组比较,模型组和假电针组干预后子宫组织病理损伤评分均明显增加( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后子宫组织病理损伤评分均明显降低( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后子宫组织病理损伤评分均明显降低( $P<0.05$ )。③ PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α、SOD、MDA和GSH-Px含量:与空白组比较,模型组、假电针组干预后血清PGE<sub>2</sub>、SOD和GSH-Px含量均明显更低( $P<0.05$ ),MDA、PGF<sub>2</sub>α含量和PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更高( $P<0.05$ );电针组和药物组干预后PGF<sub>2</sub>α含量和PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更高( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后血清PGE<sub>2</sub>、SOD和GSH-Px含量均明显更高( $P<0.05$ ),PGF<sub>2</sub>α、MDA含量和PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更低( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后血清PGE<sub>2</sub>、SOD和GSH-Px含量均明显更高( $P<0.05$ ),PGF<sub>2</sub>α、MDA含量和PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更低( $P<0.05$ )。④ ROS表达水平:与空白组比较,模型组、假电针组、电针组和药物组干预后子宫组织ROS含量均明显更高( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后子宫组织ROS含量均明显更低( $P<0.05$ )。与假电针组

**引用格式:** 彭玉婷, 资艳, 魏艳蓉, 等. 基于AMPK/mTOR通路调控氧化应激探讨电针治疗原发性痛经大鼠的作用机制[J]. 康复学报, 2026, 36(2): 127-136.

PENG Y T, ZI Y, WEI Y R, et al. Mechanism of electroacupuncture treatment on primary dysmenorrhea in rats based on AMPK/mTOR pathway regulating oxidative stress [J]. Rehabil Med, 2026, 36(2): 127-136.

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2026.02008

©《康复学报》编辑部, 开放获取CC BY-NC-ND 4.0协议

© Rehabilitation Medicine, OA under the CC BY-NC-ND 4.0

比较,电针组和药物组干预后子宫组织 ROS 含量明显更低( $P<0.05$ )。⑤ AMPK、mTOR、p-AMPK、p-mTOR 蛋白表达水平:与空白组比较,模型组干预后子宫组织 p-AMPK/AMPK 明显更高( $P<0.05$ ),p-mTOR/mTOR 明显更低( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组与药物组干预后子宫组织 p-AMPK/AMPK 均明显更低( $P<0.05$ ),p-mTOR/mTOR 均明显更高( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后子宫组织 p-AMPK/AMPK 均明显更低( $P<0.05$ ),p-mTOR/mTOR 均明显更高( $P<0.05$ )。**结论** 电针三阴交穴可有效缓解PDM模型大鼠疼痛症状和子宫组织损伤,这可能与调控 AMPK/mTOR 信号通路、抑制氧化应激反应有关。

**关键词** 原发性痛经;电针;三阴交穴(SP6);AMPK/mTOR 信号通路;氧化应激

原发性痛经(primary dysmenorrhea, PDM)是指女性在排除器质性病变情况下出现的月经期下腹疼痛,其症状一般表现为经前或经期开始时出现下腹部痉挛性疼痛,疼痛强度以及持续时间不定,疼痛范围甚至可辐射至大腿根部或腰背部<sup>[1-2]</sup>。据报道,在全世界 25 岁以下年轻女性中,约有 3/4 患有 PDM<sup>[3]</sup>。PDM 已经严重影响广大女性的日常生活质量,亟需寻找有效治疗方法。

电针三阴交穴是临床上治疗 PDM 常选用的治疗方法,在缓解 PDM 患者的疼痛方面具有良好的疗效,甚至优于非甾体抗炎药<sup>[4]</sup>。中医学理论认为,肝、脾、肾三经与胞宫联系密切,三阴交是肝、脾、肾三经交会穴,是针灸临床治疗 PDM 使用频率最高的穴位<sup>[5]</sup>。近年来,随着对 PDM 病理机制认识的深化,氧化应激与缺血、缺氧被证实是其发生、发展的关键环节,且与腺苷酸激活蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路的调控密切相关<sup>[6-9]</sup>。该通路不仅参与氧化应激反应,还在女性生殖系统功能调节中发挥核心作用<sup>[10-12]</sup>。目前研究已初步证实电针三阴交穴可以缓解 PDM 疼痛,并在调节部分炎症与氧化指标上表现出积极效果,但是其是否通过调控 AMPK/mTOR 通路抑制氧化应激从而改善 PDM,尚未有系统研究阐明,这限制了对电针治疗 PDM 深层机制的理解及其临床应用的进一步优化。

因此,本研究在明确电针三阴交穴镇痛效果的基础上,探讨电针对 PDM 氧化应激损伤的保护作用,并分析其与 AMPK/mTOR 通路间的联系,旨在揭示电针是否通过调控该通路影响 PDM 过程中的氧化应激反应,为电针治疗 PDM 提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物与分组

本研究选用 60 只 SPF 级雌性 SD(sprague-daw-

ley)大鼠作为实验对象,鼠龄 7~8 周,体质量 180~220 g。实验动物购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004,在湖南中医药大学实验动物中心的标准条件下进行饲养,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2019-0009,室内温度维持在 20~25 °C,相对湿度控制在 70%~80%。光照周期设置为 12 h 明暗交替(光照时间为 8:00—20:00),实验动物可自由获取饲料和饮用水。所有入选大鼠均处于未孕状态,健康状况良好。大鼠经过 1 周适应性饲养后,按随机数字表法分为空白组、模型组、假电针组、电针组和药物组,每组 12 只。

### 1.2 主要实验试剂

缩宫素(货号:P1029)、苯甲酸雌二醇(货号:S4110)、PEG300 抑制剂(货号:S6704)、Tween80 抑制剂(货号:S6702)均购自美国 Selleck 生物科技有限公司;布洛芬缓释片(中美天津史克制药有限公司,货号:H20013062,规格:0.4 g/粒);瑞氏染色液(北京雷根生物技术有限公司,货号:0312A24);苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染液套装(北京索莱宝科技有限公司,货号:G1120);4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色试剂(货号:G1012)、磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)(货号:G0002-2L)、组织自发光淬灭剂(货号:G1221)均购自武汉塞维尔生物科技有限公司;活性氧(reactive oxygen species, ROS)探针(上海碧云天生物技术股份有限公司,货号:S0033M);大鼠前列腺素 E<sub>2</sub>(prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(货号:ZC-37100)、前列腺素 F<sub>2α</sub>(prostaglandin F<sub>2α</sub>, PGF<sub>2α</sub>) ELISA 试剂盒(货号:ZC-37104)、大鼠谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px) ELISA 试剂盒(货号:ZC-36648)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) ELISA 试剂盒(货号:ZC-36451)、丙二醛(malondial-

dehyde, MDA) ELISA 试剂盒(货号:ZC-55718-J)均购自上海茁彩生物科技有限公司;β-肌动蛋白(β-actin 抗体)(货号:4970)、AMPK 抗体(货号:5831)、p-AMPK 抗体(货号:2535)、雷帕霉素机制靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)抗体(货号:2983)、p-mTOR 抗体(货号:5536)均购自美国 Cell Signaling Technology 公司;山羊-抗兔二抗(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号:A-1003)。

### 1.3 主要实验仪器

脱水机(意大利米兰 Diapath S.p.A 公司,型号:Donatello);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);病理切片机(上海徠卡仪器有限公司,型号:RM2016);组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-P);染色机(意大利米兰 Diapath S.p.A 公司,型号:Giotto);烤箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司,型号:GFL-230);冰冻切片机(型号:NX50)、酶标仪(型号:Rayto RT-6100/MD-SpectraMax 190)均购自赛默飞世尔科技公司;旋涡混匀仪(江苏新康医疗器械有限公司,型号:XK80-A);掌上离心机(美国 SCLOGEX 公司,型号:S1010E);转膜仪(美国 Biorad 公司,型号:041BR318885);电泳仪(美国 Biorad 公司,型号:041BR318885);干燥箱(上海精宏实验设备有限公司,型号:DHG-9148A);奥林巴斯扫描仪(日本 Olympus 公司,型号:VS200);电针仪、一次性无菌针灸针(中国华佗国药股份有限公司,型号:SDZ-II,规格:0.25 mm×25 mm)。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 造模方法** 大鼠适应性喂养 7 d 后,采用阴道瑞氏染色涂片法筛选处于动情间期的未交配 SD 雌性大鼠,注射苯甲酸雌二醇和缩宫素联合制备周期性 PDM 大鼠模型<sup>[13]</sup>。

**1.4.1.1 模型组、假电针组、电针组和药物组** 连续 3 d,每天给予大鼠苯甲酸雌二醇皮下注射(2 mg/kg,浓度 0.5 mg/mL),随后于第 4 天和第 8 天腹腔注射缩宫素(5 mg/mL,用 0.9% NaCl 溶液配制),每只 0.4 mL/次。

**1.4.1.2 空白组** 连续 3 d 皮下注射 0.9% NaCl 溶液(2 mg/kg),随后于第 4 天和第 8 天腹腔注射 0.4 mL 0.9% NaCl 溶液。

PDM 动物模型的成功标准通过以下行为学指标进行判定:在给予缩宫素处理后,实验大鼠若表现出腹部肌肉收缩内凹、脊柱与后肢呈伸展状态,并伴有单侧肢体旋转等典型疼痛反应,即可确认模

型构建成功<sup>[14]</sup>。实验方案经湖南中医药大学实验动物伦理委员会审批通过(审批号:HNUCM21-2311-08),实验设计与实施完全遵照《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)执行。

### 1.4.2 干预方法

**1.4.2.1 空白组和模型组** 从造模的第 4 天开始进行抓取捆绑处理,在鼠架上捆绑 25 min,1 次/d,只捆绑,不进行干预。

**1.4.2.2 假电针组** 从造模第 4 天起干预,固定大鼠后,于双侧三阴交穴旁开 2 mm 处消毒,用 0.25 mm×25 mm 毫针直刺 5 mm(不接电针),留针 25 min/次,1 次/d,持续 5 d。穴位定位依据中国针灸学会实验针灸委员会发布的实验动物腧穴标准图谱,其中三阴交穴位于大鼠后肢内踝尖上方 10 mm 处<sup>[15]</sup>。

**1.4.2.3 电针组** 从造模第 4 天起电针双侧三阴交穴,消毒后同规格毫针直刺 5 mm,连接电针仪(密波,50 Hz),调节强度至局部肌肉轻微颤动但无明显鸣叫,25 min/次,1 次/d,持续 5 d。

**1.4.2.4 药物组** 从造模第 4 天起接受布洛芬治疗,将药物溶解于 0.9% NaCl 溶液制成 1.25 mg/mL 溶液,按 0.8 mL/只的剂量经口灌胃给药,1 次/d,持续 5 d。

### 1.4.3 观察指标

**1.4.3.1 行为学指标评估** 采用动物行为学评估法评估大鼠疼痛反应<sup>[14]</sup>。具体操作如下:在实验第 8 天给予缩宫素注射后 30 min 内,观察疼痛相关行为指标。记录参数包括:扭体潜伏期(即给药至首次出现扭体反应的时间间隔)、扭体次数(当大鼠呈现以下任何一个症状:腹侧内收、腹壁下陷、臀部上抬、躯体扭转或后肢伸直,均记为 1 次扭体次数)以及扭体评分(0 分:正常活动及探索行为,肢体自然伸展;1 分:腹部内收伴躯体侧倾;2 分:后肢伸直伴足背屈曲及骨盆旋转;3 分:腹肌强直收缩伴后肢后伸及躯体僵直扭转)。

**1.4.3.2 子宫组织病理损伤评分** 采用 HE 染色法对大鼠子宫组织进行病理学观察与评估。子宫组织样本首先在 4% 多聚甲醛固定液中室温固定 24 h,随后依次进行乙醇梯度脱水、二甲苯透明,最后完成石蜡包埋。首先,组织切片制备与染色,5 μm 厚纵切切片经二甲苯脱蜡和梯度乙醇复水;然后,进行 HE 染色(苏木精 3~5 min,分化,流水返蓝 5 min,伊红 5 min);最后,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封固。待标本充分晾干后,利用光学显微技

术对子宫组织进行结构学观察与分析。参照WEI等<sup>[16]</sup>评分体系,基于显微观察结果对子宫病理损伤程度进行分级评估。0分:组织结构正常;1分:子宫内膜上皮细胞变性/坏死;2分:子宫内膜固有层水肿;3分:固有层腺体增生;4分:固有层炎性浸润;5分:炎症累及肌层。

**1.4.3.3 PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α、SOD、MDA、GSH-Px含量** 采用ELASA法检测大鼠血清中PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α、SOD、MDA和GSH-Px含量。采用腹主动脉穿刺法采集大鼠血液样本约5 mL,置于室温环境静置10~20 min待其自然凝固。随后将样本置于离心机中,离心约30 min(2 000~3 000 r/min,离心半径15 cm)。分离获得的上清液分装至微量离心管中,密封后标记样本信息,置于-80 °C超低温冰箱保存备用。检测时参照试剂盒操作指南,使用酶标仪在450 nm波长下测定样本吸光度,通过标准曲线定量分析样本中PGF<sub>2</sub>α、PGE<sub>2</sub>、SOD、MDA及GSH-Px的含量。

**1.4.3.4 ROS表达水平** 采用二氢乙啶(dihydroethidium, DHE)免疫荧光探针ROS染色法检测大鼠子宫组织ROS含量。将获取的大鼠子宫组织用最佳切割温度包埋剂(optimal cutting temperature compound, OCT)进行包埋处理,冰冻切片恢复至室温,控干水分;用组化笔在组织周围画圈,加自发荧光淬灭剂5 min,流水冲洗10 min,加ROS染液,避光恒温孵育30 min后用PBS洗3次,5 min/次,洗完后进行封片(抗荧光淬灭封片剂封片)。用奥林巴斯扫描仪和奥林巴斯数字扫描浏览软件进行扫描和取图,最后用ImageJ分析图像,计算每组平均荧光强度值。

**1.4.3.5 AMPK、mTOR、p-AMPK、p-mTOR蛋白表达水平** 采用蛋白质印迹技术(Western blot, WB)分析大鼠子宫组织中AMPK、mTOR蛋白及其磷酸

化形式的表达水平。从-80 °C低温冰箱中取出预先保存的子宫样本,进行蛋白质提取操作。采用二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay, BCA)测定蛋白样品浓度,随后进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白,通过转膜将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,将膜置于封闭液中处理,先后与一抗、二抗进行孵育反应,最后在暗室条件下进行ECL化学发光显影。以β-actin作为内参,通过计算AMPK、mTOR、p-AMPK和p-mTOR条带灰度值与内参的比值,确定各目标蛋白表达水平。

**1.5 统计学方法**

采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。计量资料服从正态分布采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐组间两两比较使用LSD-*t*检验;若方差不齐两两比较采用Dunnett's *T3*法。计量资料不服从正态分布,采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 5组干预后行为学指标比较**

与空白组比较,模型组、假电针组、电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数和扭体潜伏期均明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数均明显更低( $P < 0.05$ ),扭体潜伏期均明显更长( $P < 0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数均明显更低( $P < 0.05$ ),扭体潜伏期均明显更长( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 5组干预后行为学指标比较 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

Table 1 Comparison of behavioral indexes in five groups after intervention [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

组别	<i>n</i>	扭体评分/分	扭体次数/次	扭体潜伏期/s
空白组	12	0	0	0
模型组	12	3.00(2.00, 3.00) <sup>1)</sup>	37.00(32.25, 41.75) <sup>1)</sup>	144.00(123.50, 160.00) <sup>1)</sup>
假电针组	12	3.00(2.00, 3.00) <sup>1)</sup>	35.50(32.25, 37.75) <sup>1)</sup>	120.50(110.75, 151.00) <sup>1)</sup>
电针组	12	1.00(1.00, 1.75) <sup>1)2)3)</sup>	10.00(6.25, 13.00) <sup>1)2)3)</sup>	405.50(395.75, 433.50) <sup>1)2)3)</sup>
药物组	12	1.00(1.00, 1.00) <sup>1)2)3)</sup>	7.00(4.25, 9.50) <sup>1)2)3)</sup>	424.00(404.25, 441.00) <sup>1)2)3)</sup>

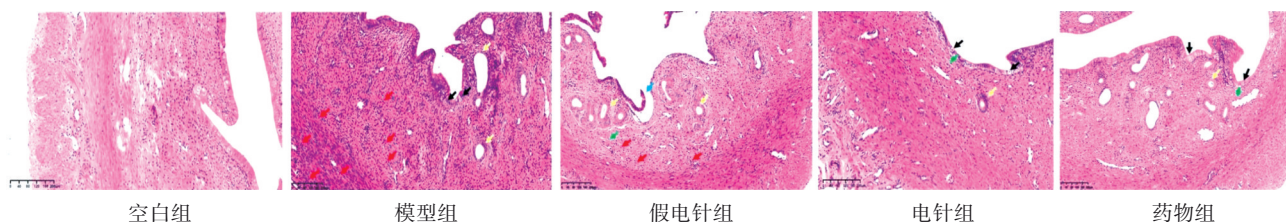
注:与空白组比较,1)  $P < 0.05$ ;与模型组比较,2)  $P < 0.05$ ;与假电针组比较,3)  $P < 0.05$ 。

Note: compared with the blank group, 1)  $P < 0.05$ ; compared with the model group, 2)  $P < 0.05$ ; compared with the sham electroacupuncture group, 3)  $P < 0.05$ .

## 2.2 5组干预后子宫组织病理损伤评分比较

空白组大鼠子宫组织呈现典型生理结构特征,内膜上皮细胞层排列整齐有序,未见中性粒细胞浸润现象;模型组呈现明显病理改变,包括上皮细胞空泡变性死亡、固有层腺体扩张及大量中性粒细胞浸润、肌层平滑肌粒细胞散在分布;假电针组呈现大量子宫内膜上皮脱落、固有层裸露及少量炎性浸

润;电针组仅见少量上皮细胞变性死亡、固有层腺体扩张及中性粒细胞浸润;药物组子宫组织损伤程度最为轻微,仅观察到局部区域存在少量上皮细胞形态学改变及散在的中性粒细胞浸润。组织学检测结果显示,除模型组外,其余各组子宫肌层平滑肌纤维均呈现规则有序的排列特征。见图1。



注:蓝色、黑色、黄色、红色、绿色箭头分别表示内膜上皮脱落、上皮细胞水肿、子宫腺扩张、炎性细胞浸润和充血。  
Note: Blue, black, yellow, red, and green arrows indicate endometrial epithelial detachment, epithelial cell edema, uterine gland dilation, inflammatory cell infiltration, and hyperemia, respectively.

图1 5组子宫病理学形态HE染色图(×10,标尺200 μm)

Figure 1 HE-stained images of uterine histopathology in five groups (×10, scale bar 200 μm)

与空白组比较,模型组和假电针组干预后子宫组织病理损伤评分均明显增加( $P < 0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后子宫组织病理损伤评分均明显降低( $P < 0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后子宫组织病理损伤评分均明显降低( $P < 0.05$ )。见表2。

## 2.3 5组干预后PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α、SOD、MDA和GSH-Px含量比较

**2.3.1 5组干预后PGF<sub>2</sub>α、PGE<sub>2</sub>含量比较** 与空白组比较,模型组和假电针组干预后血清PGE<sub>2</sub>含量均明显更低( $P < 0.05$ ),PGF<sub>2</sub>α含量、PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更高( $P < 0.05$ );电针组和药物组干预后PGF<sub>2</sub>α含量、PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后血清PGE<sub>2</sub>含量均明显更高( $P < 0.05$ ),PGF<sub>2</sub>α含量和PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更低( $P < 0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组

干预后血清PGE<sub>2</sub>含量均明显更高( $P < 0.05$ ),PGF<sub>2</sub>α含量、PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>均明显更低( $P < 0.05$ )。见表3。

表2 5组干预后子宫组织病理损伤评分比较( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Comparison of histopathological injury scores in uterine tissues in five groups after intervention ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	病理损伤评分
空白组	6	1.17 ± 1.17
模型组	6	3.83 ± 1.17 <sup>1)</sup>
假电针组	6	3.67 ± 1.03 <sup>1)</sup>
电针组	6	1.67 ± 0.82 <sup>2)3)</sup>
药物组	6	1.33 ± 1.03 <sup>2)3)</sup>

注:与空白组比较,1)  $P < 0.05$ ;与模型组比较,2)  $P < 0.05$ ;与假电针组比较,3)  $P < 0.05$ 。

Note: compare with the blank group, 1)  $P < 0.05$ ; compare with the model group, 2)  $P < 0.05$ ; compare with the sham electroacupuncture group, 3)  $P < 0.05$ .

表3 5组干预后血清PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α含量和PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub>比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2</sub>α contents and PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub> in serum in five groups after intervention ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	PGE <sub>2</sub> /(pg/mL)	PGF <sub>2</sub> α/(pg/mL)	PGF <sub>2</sub> α/PGE <sub>2</sub>
空白组	6	456.79 ± 31.28	64.19 ± 5.75	0.14 ± 0.01
模型组	6	289.76 ± 31.45 <sup>1)</sup>	135.03 ± 10.25 <sup>1)</sup>	0.47 ± 0.05 <sup>1)</sup>
假电针组	6	257.90 ± 21.45 <sup>1)</sup>	129.81 ± 10.89 <sup>1)</sup>	0.51 ± 0.07 <sup>1)</sup>
电针组	6	404.15 ± 13.76 <sup>2)3)</sup>	90.91 ± 4.91 <sup>1)2)3)</sup>	0.22 ± 0.01 <sup>1)2)3)</sup>
药物组	6	425.51 ± 4.04 <sup>2)3)</sup>	84.74 ± 2.94 <sup>1)2)3)</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>1)2)3)</sup>

注:与空白组比较,1)  $P < 0.05$ ;与模型组比较,2)  $P < 0.05$ ;与假电针组比较,3)  $P < 0.05$ 。

Note: compared with the blank group, 1)  $P < 0.05$ ; compared with the model group, 2)  $P < 0.05$ ; compared with the sham electroacupuncture group, 3)  $P < 0.05$ .

**2.3.2 5组血清MDA、SOD和GSH-Px含量比较** 与空白组比较,模型组和假电针组干预后血清MDA含量均明显更高( $P<0.05$ ),SOD和GSH-Px含量均明显更低( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后血清MDA含量均明显更低( $P<0.05$ ),SOD和GSH-Px含量均明显更高( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后血清MDA含量明显更低( $P<0.05$ ),SOD和GSH-Px含量均明显更高( $P<0.05$ )。见表4。

**2.4 5组子宫组织ROS含量比较**

与空白组比较,模型组、假电针组、电针组和药物组干预后子宫组织ROS含量均明显更高( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后子宫

组织ROS含量均明显更低( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后子宫组织ROS含量均明显更低( $P<0.05$ )。见图2、表5。

**2.5 5组干预后子宫组织AMPK和mTOR蛋白表达水平比较**

与空白组比较,模型组干预后子宫组织p-AMPK/AMPK明显更高( $P<0.05$ ),p-mTOR/mTOR明显更低( $P<0.05$ )。与模型组比较,电针组和药物组干预后子宫组织p-AMPK/AMPK均明显更低( $P<0.05$ )、p-mTOR/mTOR均明显更高( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后子宫组织p-AMPK/AMPK均明显更低( $P<0.05$ ),p-mTOR/mTOR均明显更高,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表6、图3。

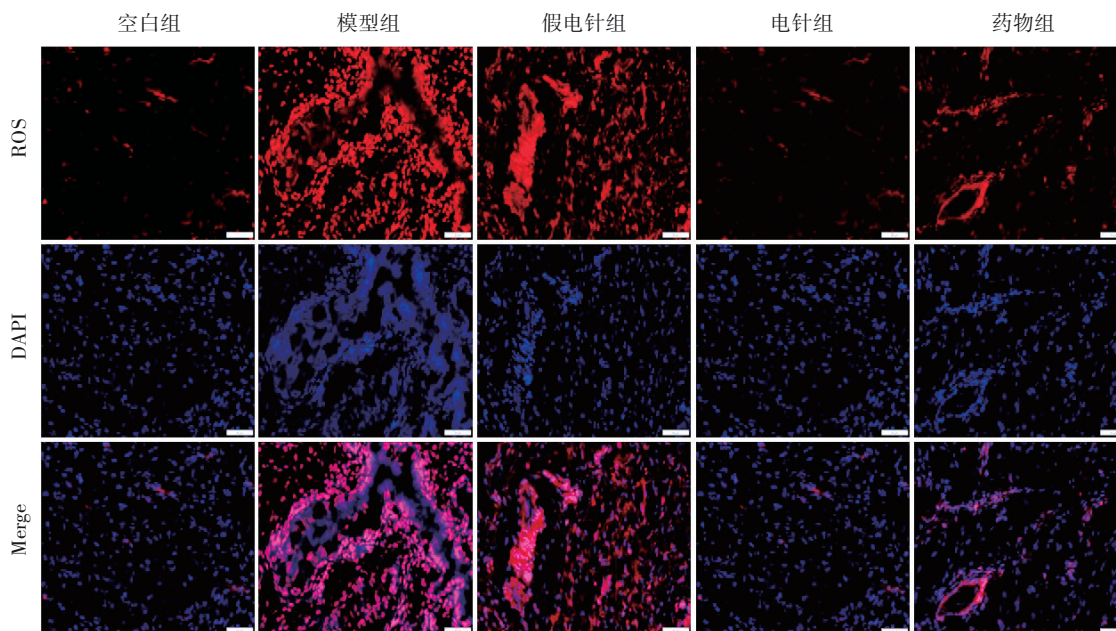
表4 5组血清MDA、SOD和GSH-Px含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 4 Comparison of MDA, SOD and GSH-Px contents in serum in five groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MDA/(nmol/mL)	SOD/(pg/mL)	GSH-Px/(U/L)
空白组	6	2.26±0.53	1353.18±24.04	115.55±7.94
模型组	6	5.61±0.76 <sup>1)</sup>	747.60±22.00 <sup>1)</sup>	64.83±3.34 <sup>1)</sup>
假电针组	6	5.70±1.20 <sup>1)</sup>	694.20±63.52 <sup>1)</sup>	61.74±5.56 <sup>1)</sup>
电针组	6	2.82±0.07 <sup>2)3)</sup>	1197.82±60.32 <sup>2)3)</sup>	106.65±14.39 <sup>2)3)</sup>
药物组	6	2.57±0.21 <sup>2)3)</sup>	1207.63±38.58 <sup>2)3)</sup>	114.39±13.58 <sup>2)3)</sup>

注:与空白组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ ;与假电针组比较,3)  $P<0.05$ 。

Note: compared with the blank group, 1)  $P<0.05$ ; compared with the model group, 2)  $P<0.05$ ; compared with the sham electroacupuncture group, 3)  $P<0.05$ .



注:红色为ROS阳性表达,主要表达在细胞核。

Note: ROS-positive staining is shown in red, predominantly localized in the nucleus.

图2 5组子宫组织DHE免疫荧光探针ROS染色图( $\times 20$ ,标尺50  $\mu\text{m}$ )

Figure 2 DHE fluorescent staining of ROS in uterine tissues in five groups ( $\times 20$ , scale bar 50  $\mu\text{m}$ )

表 5 5 组子宫组织 ROS 含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	ROS 免疫荧光强度
空白组	3	18.03±1.39
模型组	3	43.32±2.51 <sup>1)</sup>
假电针组	3	39.60±2.00 <sup>1)</sup>
电针组	3	30.44±1.10 <sup>1)2)3)</sup>
药物组	3	28.74±2.88 <sup>1)2)3)</sup>

注:与空白组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ ;与假电针组比较,3)  $P<0.05$ 。

Note: compared with the blank group, 1)  $P<0.05$ ; compared with the model group, 2)  $P<0.05$ ; compared with the sham electroacupuncture group, 3)  $P<0.05$ .

表 6 5 组子宫组织 AMPK、mTOR 蛋白表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	p-AMPK/AMPK	p-mTOR/mTOR
空白组	3	1.28±0.09	0.82±0.04
模型组	3	2.04±0.34 <sup>1)</sup>	0.36±0.05 <sup>1)</sup>
假电针组	3	1.69±0.48	0.51±0.14
电针组	3	1.02±0.40 <sup>2)3)</sup>	1.35±0.09 <sup>2)3)</sup>
药物组	3	1.01±0.22 <sup>2)3)</sup>	1.38±0.10 <sup>2)3)</sup>

注:与空白组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ ;与假电针组比较,3)  $P<0.05$ 。

Note: compared with the blank group, 1)  $P<0.05$ ; compared with the model group, 2)  $P<0.05$ ; compared with the sham electroacupuncture group, 3)  $P<0.05$ .

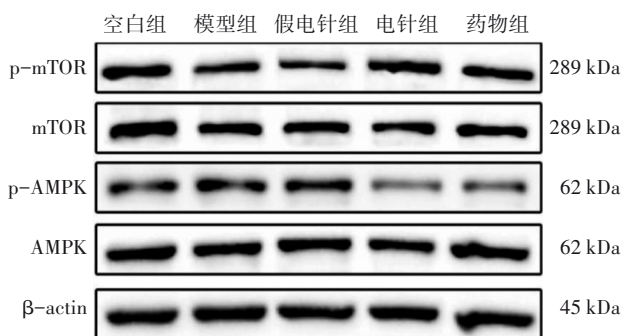


图 3 5 组 AMPK、p-AMPK、mTOR 和 p-mTOR 蛋白条带图  
Figure 3 Protein band figure of AMPK, p-AMPK, mTOR and p-mTOR in five groups

### 3 讨论

#### 3.1 电针三阴交穴可有效缓解 PDM 大鼠疼痛症状和子宫组织损伤

与模型组比较,电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数和子宫组织病理损伤评分均明显更

低,扭体潜伏期均明显更长。与假电针组比较,电针组和药物组干预后扭体评分、扭体次数和子宫组织病理损伤评分均明显更低,扭体潜伏期干预后明显更长。这提示,电针三阴交穴能有效缓解 PDM 大鼠模型疼痛症状和子宫组织损伤。这可能与以下因素有关:痛经多责之“不通则痛”或“不荣则痛”,病机常与肝、脾、肾三脏功能失调及冲任二脉气血运行不畅密切相关<sup>[17]</sup>。三阴交为足太阴脾经要穴,且为足三阴经(肝、脾、肾)交会之处,具有健脾益气、疏肝理气、滋肾调经、调和气血等功效,常作为妇科疾病的经验效穴。刺激该穴可通达三阴,调理冲任,缓解胞宫气血瘀滞或失养状态,从而减轻疼痛<sup>[18-19]</sup>。电针三阴交穴可舒张子宫平滑肌,改善局部微循环,减轻子宫组织的病理损伤程度,降低扭体反应,缓解疼痛程度。这与袁茵钰等<sup>[20-21]</sup>研究结果相似。

#### 3.2 电针三阴交穴缓解 PDM 大鼠疼痛症状和子宫组织损伤可能与抑制氧化应激反应有关

本研究结果显示,与模型组比较,电针组和药物组干预后血清 MDA、ROS、PGF<sub>2</sub>α 含量和 PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub> 均明显更低 ( $P<0.05$ ),PGE<sub>2</sub>、SOD、GSH-Px 含量均明显更高 ( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后血清 MDA、ROS、PGF<sub>2</sub>α 含量和 PGF<sub>2</sub>α/PGE<sub>2</sub> 均明显更低 ( $P<0.05$ ),PGE<sub>2</sub>、SOD、GSH-Px 含量均明显更高 ( $P<0.05$ )。这提示,电针三阴交穴缓解 PDM 大鼠疼痛症状和子宫组织损伤可能与抑制氧化应激反应有关。可能与以下因素有关:氧化应激与 PDM 疼痛密切相关,过量的自由基可损伤子宫组织,加剧炎症与痉挛<sup>[22-23]</sup>。临床研究表明,与健康女性比较,PDM 女性中大多数氧化应激标志物如脂质过氧化产物 MDA 的水平异常升高<sup>[24-27]</sup>,氧化应激可能是 PDM 的关键病理机制。三阴交穴作为多经交汇之枢纽,电针三阴交可能通过整体调节神经-内分泌-免疫网络,增强机体内源性抗氧化防御系统<sup>[28]</sup>。此外,还可能通过调节脏腑功能,改善机体代谢内环境,提升清除氧自由基的能力,减轻脂质过氧化损伤,保护子宫组织免受氧化应激攻击,降低大鼠子宫组织损伤程度和扭体反应,缓解疼痛。这与李晓泓等<sup>[29-30]</sup>研究结果相似。

#### 3.3 电针三阴交穴缓解 PDM 大鼠疼痛和子宫组织损伤可能与调控 AMPK/mTOR 信号通路有关

本研究结果显示,与模型组比较,电针组与药物组干预后子宫组织 p-AMPK/AMPK 均明显更低,

p-mTOR/mTOR均明显更高( $P<0.05$ )。与假电针组比较,电针组和药物组干预后子宫组织p-AMPK/AMPK均明显更低,p-mTOR/mTOR均明显更高。这提示,电针三阴交穴缓解PDM大鼠的疼痛和子宫组织损伤可能与调控AMPK/mTOR信号通路有关。可能与以下因素有关:电针刺激三阴交穴产生的生物信号,由局部神经传入与整体调节,可改善子宫组织的微循环与能量代谢状态,提升细胞内ATP/AMP,减少了AMPK的激活<sup>[31-32]</sup>。AMPK活性受到抑制后,对下游mTORC1复合物的间接抑制作用减弱,mTOR信号通路得以恢复活性。活化的mTOR可通过促进蛋白质合成、增强线粒体功能、抑制过度自噬等多条下游途径,协同上调SOD、GSH-Px等抗氧化酶的合成与活性,并减少线粒体源性ROS生成,从而系统性地抑制氧化应激水平,减轻子宫组织损伤与炎性疼痛<sup>[9,33-34]</sup>。本研究初步揭示了“电针三阴交穴→调控AMPK/mTOR通路→抑制氧化应激→缓解PDM疼痛”这一可能的作用机制,为阐明电针治疗痛经的现代科学机制提供了理论依据。这与周绵莉等<sup>[35]</sup>研究观点相互支持。

#### 4 小 结

电针三阴交穴可有效缓解PDM模型大鼠疼痛症状和子宫组织损伤,这可能与调控AMPK/mTOR信号通路、抑制氧化应激反应有关。但本研究主要从AMPK/mTOR信号通路介导的氧化应激调控角度探究了电针对PDM模型大鼠的影响机制,并未设置通路抑制剂对照组进行反向验证。下一步研究还需综合考察不同机制间的相互作用关系,为阐明电针治疗PDM的作用原理提供更充分的实验依据。

#### 参考文献

[1] OSUGA Y, HAYASHI K, KANDA S. Long-term use of dienogest for the treatment of primary and secondary dysmenorrhea [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2020, 46(4): 606-617.

[2] KAROUT S, SOUBRA L, RAHME D, et al. Prevalence, risk factors, and management practices of primary dysmenorrhea among young females [J]. *BMC Womens Health*, 2021, 21(1): 392.

[3] ARMOUR M, PARRY K, MANOHAR N, et al. The prevalence and academic impact of dysmenorrhea in 21, 573 young women: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Womens Health*, 2019, 28(8): 1161-1171.

[4] LIN J G, KOTHA P, CHEN Y H. Understandings of acupuncture application and mechanisms [J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(3): 1469-1481.

[5] SHARGHI M, MANSURKHANI S M, LARKY D A, et al. An

update and systematic review on the treatment of primary dysmenorrhea [J]. *JBRA Assist Reprod*, 2019, 23(1): 51-57.

[6] AKSOY A N, LALOGLU E, OZKAYA A L, et al. Serum heme oxygenase-1 levels in patients with primary dysmenorrhea [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 295(4): 929-934.

[7] YUSOFF DAWOOD M. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management [J]. *Obstet Gynecol*, 2006, 108(2): 428-441.

[8] ZAHRADNIK H P, HANJALIC-BECK A, GROTH K. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and hormonal contraceptives for pain relief from dysmenorrhea: a review [J]. *Contraception*, 2010, 81(3): 185-196.

[9] ASSAF L, EID A A, NASSIF J. Role of AMPK/mTOR, mitochondria, and ROS in the pathogenesis of endometriosis [J]. *Life Sci*, 2022, 306: 120805.

[10] 王尚嘉, 李丹, 卢路艳, 等. 基于AMPK/mTOR信号通路探究当归芍药散对环磷酰胺诱导的卵巢早衰大鼠卵巢功能的保护作用[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2025, 54(1): 80-85.

WANG S J, LI D, LU L Y, et al. Exploring the protective effect of Danggui Shaoyao powder on ovarian function in cyclophosphamide induced premature ovarian failure rats based on AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Acta Med Univ Sci Technol Huazhong*, 2025, 54(1): 80-85.

[11] SHIGETOMI H, NISHIO M, UMETANI M, et al. Balancing decidualization, autophagy, and cellular senescence for reproductive success in endometriosis biology [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(18): 9125.

[12] SILLS E S, HARRITY C, CHU H I, et al. Semaglutide and human reproduction: caution at the intersection of energy balance, ovarian function, and follicular development [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2025, 23(1): 116.

[13] HONG F, HE G Y, ZHANG M Q, et al. The establishment of a mouse model of recurrent primary dysmenorrhea [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6128.

[14] SCHMAUSS C, YAKSH T L. *In vivo* studies on spinal opiate receptor systems mediating antinociception. II. Pharmacological profiles suggesting a differential association of mu, delta and kappa receptors with visceral chemical and cutaneous thermal stimuli in the rat [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1984, 228(1): 1-12.

[15] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第2部分: 大鼠[J]. *针刺研究*, 2021, 46(4): 351-352.

Chinese Acupuncture and Moxibustion Society. Names and location of commonly used acupoints in experimental animals. Part 2: rats [J]. *Acupunct Res*, 2021, 46(4): 351-352.

[16] WEI A, FENG H, JIA X M, et al. Ozone therapy ameliorates inflammation and endometrial injury in rats with pelvic inflammatory disease [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1418-1425.

[17] 陈梓瑜, 赵耀东, 蒋梅霞, 等. 原发性痛经中医病因病机的研究概况[J]. *中医临床研究*, 2021, 13(27): 109-112.

CHEN Z Y, ZHAO Y D, JIANG M X, et al. Research overview of TCM etiology and pathogenesis of primary dysmenorrhea [J]. *Clin*

- J Chin Med, 2021, 13(27):109-112.
- [18] 胡雅诗,朱昱昕,牛思涵,等.三阴交穴治疗原发性痛经的研究概况[J].中华养生保健,2023,41(7):53-56.  
HU Y S, ZHU Y X, NIU S H, et al. Research overview on primary dysmenorrhea treated with SP6 [J]. Chin Health Care, 2023, 41(7):53-56.
- [19] 黄顺艳.艾灸三阴交穴对阳虚内寒型痛经患者脾、肾经的影响[D].福州:福建中医药大学,2022:3-5.  
HUANG S Y. Effect of moxibustion at Sanyinjiao point on spleen and kidney meridians of patients with cold dysmenorrhea in Yang deficiency [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2022:3-5.
- [20] 袁茵钰,李娟,汪少华,等.电针对原发性痛经大鼠脊髓N-甲基-D-天冬氨酸受体及丝裂原活化蛋白激酶的影响[J].针刺研究,2023,48(5):469-474,487.  
YUAN H Y, LI J, WANG S H, et al. Effects of electroacupuncture on N-methyl-D-aspartate receptor and mitogen activated protein kinase in spinal cord of rats with primary dysmenorrhea [J]. Acupunct Res, 2023, 48(5):469-474,487.
- [21] 李娟,刘余,薛晓,等.基于ERK/COX-2信号通路研究电针干预原发性痛经机制[J].中国中医药信息杂志,2023,30(6):112-116.  
LI J, LIU Y, XUE X, et al. Study on mechanism of electroacupuncture intervention in primary dysmenorrhea based on ERK/COX-2 signaling pathway [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2023, 30(6):112-116.
- [22] ALTUNYURT S, GÖL M, ALTUNYURT S, et al. Primary dysmenorrhea and uterine blood flow: a color Doppler study [J]. J Reprod Med, 2005, 50(4):251-255.
- [23] SIRMALI M, UZ E, SIRMALI R, et al. Protective effects of erdos-teine and vitamins C and E combination on ischemia-reperfusion-induced lung oxidative stress and plasma copper and zinc levels in a rat hind limb model [J]. Biol Trace Elem Res, 2007, 118(1):43-52.
- [24] YANG M X, CHEN X Z, BO L N, et al. Moxibustion for pain relief in patients with primary dysmenorrhea: a randomized controlled trial [J]. PLoS One, 2017, 12(2):e0170952.
- [25] LIU L Y, LI X J, WEI W, et al. Moxibustion for patients with primary dysmenorrhea at different intervention time points: a randomized controlled trial [J]. J Pain Res, 2020, 13:2653-2662.
- [26] ORIMADEGUN B E, AWOLUDE O A, AGBEDANA E O. Markers of lipid and protein peroxidation among Nigerian university students with dysmenorrhea [J]. Niger J Clin Pract, 2019, 22(2):174-180.
- [27] SZMIDT M K, GRANDA D, SICINSKA E, et al. Primary dysmenorrhea in relation to oxidative stress and antioxidant status: a systematic review of case-control studies [J]. Antioxidants, 2020, 9(10):994.
- [28] 侯艺,常晓丽,陈碧玮,等.针灸治疗原发性痛经的基础研究进展及思考[J].世界科学技术-中医药现代化,2023,25(10):3207-3214.  
HOU Y, CHANG X L, CHEN B W, et al. Basic research progress and thinking of acupuncture treatment for primary dysmenorrhea [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2023, 25(10):3207-3214.
- [29] 李晓泓,宋晓琳,徐莉莉,等.即刻针刺和“逆针”三阴交穴对痛经大鼠子宫HSP70、MDA及SOD的影响[J].中华中医药杂志,2010,25(11):1860-1863.  
LI X H, SONG X L, XU L L, et al. Effects of immediate acupuncture and "reverse acupuncture" on HSP70, MDA and SOD in uterus of dysmenorrhea rats [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2010, 25(11):1860-1863.
- [30] 宋晓琳,张露芬,李晓泓,等.电针“三阴交”穴对痛经大鼠子宫丙二醛、 $\beta$ -内啡肽含量及热休克蛋白70表达的影响[J].针刺研究,2010,35(5):342-346.  
SONG X L, ZHANG L F, LI X H, et al. Effects of electroacupuncture of "Sanyinjiao" (SP6) on contents of MDA and  $\beta$ -EP, and expression of HSP 70 in the uterus in rats with dysmenorrhea [J]. Acupunct Res, 2010, 35(5):342-346.
- [31] HERZIG S, SHAW R J. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(2):121-135.
- [32] 杨云昊,陶春鹤,庞芳,等.电针通过调节AMPK/mTOR/ULK1信号通路对衰老小鼠肝脏自噬与氧化应激的影响[J].针刺研究,2022,47(1):7-14.  
YANG Y H, TAO C H, PANG F, et al. Effect of electroacupuncture on hepatocyte autophagy and oxidative stress in SAMP8 mice by regulating AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway [J]. Acupunct Res, 2022, 47(1):7-14.
- [33] KIM J, KIM Y C, FANG C, et al. Differential regulation of distinct Vps34 complexes by AMPK in nutrient stress and autophagy [J]. Cell, 2013, 152(1/2):290-303.
- [34] PENG M L, FU Y, WU C W, et al. Signaling pathways related to oxidative stress in diabetic cardiomyopathy [J]. Front Endocrinol, 2022, 13:907757.
- [35] 周绵莉,喻小兰,施后渊,等.二仙汤通过AMPK/mTOR通路保护早发性卵巢功能不全小鼠免受氧化应激及凋亡影响[J].世界科学技术-中医药现代化,2022,24(12):4889-4896.  
ZHOU M L, YU X L, SHI H Y, et al. Erxian decoction protects primary ovarian insufficiency mice from oxidative stress and apoptosis via AMPK/mTOR pathway [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(12):4889-4896.

## Mechanism of Electroacupuncture Treatment on Primary Dysmenorrhea in Rats Based on AMPK/mTOR Pathway Regulating Oxidative Stress

PENG Yuting<sup>1</sup>, ZI Yan<sup>1</sup>, WEI Yanrong<sup>2</sup>, ZHANG You<sup>1</sup>, TANG Yiwen<sup>1</sup>, YUE Zenghui<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> School of Acupuncture, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

<sup>2</sup> The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

\*Correspondence: YUE Zenghui, E-mail: 624755064@qq.com

**ABSTRACT Objective** To investigate the effects of electroacupuncture at Sanyinjiao (SP6) acupoint on pain symptoms and uterine tissue damage in a rat model of primary dysmenorrhea (PDM), and to elucidate its potential mechanisms. **Methods** A total of 60 SPF-grade female Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned into blank group, model group, sham electroacupuncture (EA) group, EA group, and medication group, with 12 rats in each group. The blank group received no intervention, while the other four groups were subjected to a cyclic PDM animal model by subcutaneous injections of estradiol benzoate followed by oxytocin administration. Starting from the 4th day of model establishment, the EA group received electroacupuncture at the bilateral Sanyinjiao (SP6) acupoints for 25 minutes per session, once daily for five consecutive days. The blank group and the model group underwent grasping and restraint procedures without any therapeutic intervention. The sham EA group received needle insertion at sites 2 mm lateral to the bilateral SP6 acupoints, with needles retained for 25 minutes per session, once daily for five days. The medication group received intragastric administration of ibuprofen once daily for five days. After intervention, animal behavior assessment was used to evaluate pain response; hematoxylin-eosin (HE) staining was used to analyze histopathological changes in uterine tissues. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the contents of prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), prostaglandin F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in serum. Dihydroethidine (DHE) immunofluorescence staining was used to detect reactive oxygen species (ROS) content in rat uterine tissues. Western blot (WB) was used to determine the expression levels of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), mammalian target of rapamycin (mTOR), and their phosphorylated forms in rat uterine tissues. **Results** (1) Behavior indexes: compared with the blank group, the writhing scores, frequencies, and latency in the model group, the sham EA group, the EA group and the medication group increased significantly after intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the writhing scores and frequencies in the EA group and the medication group were significantly lower after intervention ( $P < 0.05$ ), and the writhing latency was significantly longer ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham EA group, the writhing scores and frequencies in the EA group and the medication group were significantly lower after intervention ( $P < 0.05$ ), and the writhing latency was significantly longer ( $P < 0.05$ ). (2) Uterine histopathological injury scores: compared with the blank group, the uterine histopathological injury scores in the model group and the sham EA group increased significantly after intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the uterine histopathological scores in the EA group and the medication group decreased significantly after intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham EA group, the uterine histopathological scores in the EA group and the medication group decreased significantly after intervention ( $P < 0.05$ ). (3) Contents of PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, SOD, MDA and GSH-Px: compared with the blank group, the contents of serum PGE<sub>2</sub>, SOD and GSH-Px in the model group and the sham EA group were significantly lower ( $P < 0.05$ ), while the contents of MDA, PGF<sub>2α</sub> and PGF<sub>2α</sub>/PGE<sub>2</sub> were significantly higher after intervention ( $P < 0.05$ ); the contents of PGF<sub>2α</sub> and PGF<sub>2α</sub>/PGE<sub>2</sub> were significantly higher in the EA group and the medication group after intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the contents of serum PGE<sub>2</sub>, SOD and GSH-Px in the EA group and the medication group were significantly higher after intervention ( $P < 0.05$ ), while the contents of PGF<sub>2α</sub>, MDA and PGF<sub>2α</sub>/PGE<sub>2</sub> were significantly lower ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham EA group, the serum levels of PGE<sub>2</sub>, SOD and GSH-Px in the EA group and the medication group were significantly higher after intervention ( $P < 0.05$ ), while the serum levels of PGF<sub>2α</sub>, MDA and PGF<sub>2α</sub>/PGE<sub>2</sub> were significantly lower ( $P < 0.05$ ). (4) ROS expression level: compared with the blank group, the uterine ROS contents in the model group, the sham EA group, the EA group and the medication group were significantly higher after intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the uterine ROS contents were significantly lower in the EA group and the medication group after intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham EA group, the uterine ROS levels in the EA group and the medication group were significantly lower after intervention ( $P < 0.05$ ). (5) Protein expression levels of AMPK, mTOR, p-AMPK and p-mTOR: compared with the blank group, the p-AMPK/AMPK in uterine tissue of the model group was significantly higher ( $P < 0.05$ ), and the p-mTOR/mTOR was significantly lower ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the uterine tissue p-AMPK/AMPK was significantly lower ( $P < 0.05$ ) and p-mTOR/mTOR was significantly higher in the EA group and the medication group after intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham EA group, the uterine tissue p-AMPK/AMPK was significantly lower ( $P < 0.05$ ) and p-mTOR/mTOR was significantly higher in the EA group and the medication group after intervention ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Electroacupuncture at Sanyinjiao (SP6) acupoint can effectively alleviate pain and uterine tissue injury in PDM rat models, which may be associated with the modulation of the AMPK/mTOR signaling pathway and suppression of oxidative stress response.

**KEY WORDS** primary dysmenorrhea; electroacupuncture; Sanyinjiao (SP6) acupoint; AMPK/mTOR signaling pathway; oxidative stress

**DOI:**10.3724/SP.J.1329.2026.02008