

毛蕊花糖苷调控 TXNIP/NLRP3 通路对发育期惊厥性脑损伤大鼠神经炎症的影响

李 飞, 杨 洁, 李振宏*

赣州市人民医院(南方医科大学南方医院赣州医院) 儿科, 江西 赣州 341000

摘要:目的 探究毛蕊花糖苷(Verb)调控硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)/NOD样受体蛋白3(NLRP3)通路对发育期惊厥性脑损伤大鼠神经炎症的影响。方法 将大鼠随机分为对照组、模型组、Verb低和高剂量(5、10 mg·kg⁻¹)组、TMAO(NLRP3激活剂, 110 mg·kg⁻¹)组、Verb(10 mg·kg⁻¹)+TMAO(110 mg·kg⁻¹)组, 每组12只, 除对照组外, 采用ip 5×10⁶ U的青霉素的方式构建大鼠模型, Verb ip给药, TMAO ig给药, 每天1次, 连续28 d。新物体识别实验检测大鼠认知能力; 记录大鼠惊厥强度评分、发作潜伏期与发作持续时间; 苏木精-伊红(HE)染色检测海马组织病理损伤; 尼氏染色检测神经元存活情况; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测氧化应激指标和炎症反应指标水平; 免疫荧光法检测离子钙结合适配分子1(Iba-1)和胶质纤维酸性蛋白(GFAP)阳性表达; Western blotting法检测TXNIP、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1(Caspase-1)蛋白表达。结果 与对照组比较, 模型组大鼠认知能力下降, 大鼠惊厥强度评分和发作持续时间增加, 海马组织病理损伤加重, 尼氏小体数量减少, 超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性降低, 丙二醛(MDA)、白细胞介素-1β(IL-1β)和白细胞介素-18(IL-18)含量, Iba-1和GFAP阳性表达以及TXNIP、NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白表达量明显升高(P<0.05); 与模型组比较, Verb低和高剂量组大鼠认知能力提高, 大鼠惊厥强度评分和发作持续时间减少, 发作潜伏期延长, 海马组织病理损伤减轻, 尼氏小体数量增多, SOD和GSH-Px活性升高, MDA、IL-1β和IL-18含量, Iba-1、GFAP阳性表达以及TXNIP、NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白表达量明显降低(P<0.05); 与模型组比较, TMAO组大鼠认知能力下降, 惊厥强度和发作持续时间增多, 发作潜伏期缩短, 脑组织神经炎症损伤程度更严重, 尼氏小体数量减少, SOD和GSH-Px活性降低, MDA、IL-1β和IL-18含量, Iba-1和GFAP阳性表达以及TXNIP、NLRP3、ASC和Caspase-1蛋白表达量明显升高(P<0.05); 与Verb高剂量组比较, Verb+TMAO组大鼠认知能力下降, 惊厥强度评分和发作持续时间增加, 发作潜伏期缩短, 海马组织病理损伤加重, 尼氏小体数量减少, SOD和GSH-Px活性降低, MDA、IL-1β和IL-18含量, Iba-1和GFAP阳性表达以及TXNIP、NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白表达量明显升高(P<0.05)。结论 Verb可能通过抑制TXNIP/NLRP3通路, 减轻惊厥大鼠炎症、氧化应激及脑组织损伤, 改善认知能力。

关键词: 毛蕊花糖苷; 发育期惊厥; 脑损伤; 神经炎症; TXNIP/NLRP3通路

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)06-1972-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.06.010

Effect of verbascoside on neuroinflammation in rats with developmental convulsive brain injury by regulating TXNIP/NLRP3 pathway

LI Fei, YANG Jie, LI Zhenhong

Department of Pediatrics, Ganzhou People's Hospital (Ganzhou Hospital-Southern Hospital, Southern Medical University), Ganzhou 341000, China

Abstract: Objective To discuss the effect of verbascoside (Verb) on neuroinflammation in rats with developmental convulsive brain injury by regulating the thioredoxin interacting protein (TXNIP)/NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) pathway. **Methods** The rats were randomly divided into a control group, a model group, Verb low and high dose (5, 10 mg·kg⁻¹) groups, a TMAO (NLRP3 activator, 110 mg·kg⁻¹) group, and a Verb (10 mg·kg⁻¹) + TMAO (110 mg·kg⁻¹) group, with 12 rats in each group. Except for the control group,

收稿日期: 2025-11-14

基金项目: 江西省自然科学基金课题(20242BAB25474); 江西省中医药管理局科技计划项目(2025022718)

作者简介: 李 飞(1989-), 男, 汉族, 硕士, 主治医师, 研究方向为儿童神经系统及肾脏疾病。E-mail: 391486093@qq.com

*通信作者: 李振宏(1971-), 男, 汉族, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为儿童神经系统疾病。E-mail: lflz20251031@163.com

the rat model was established by ip injection of 5 million U of penicillin. Verb was administered ip, and TMAO was administered ig, once daily for 28 consecutive days. The cognitive ability of the rats was assessed using the novel object recognition test, the convulsive intensity score, seizure latency, and seizure duration of the rats were recorded, hematoxylin-eosin (HE) staining was used to detect histopathological damage in the hippocampus, Nissl staining was used to assess neuronal survival, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure levels of oxidative stress and inflammatory response indicators, immunofluorescence was used to detect the positive expression of ion calcium-binding adaptor molecule 1 (Iba-1) and glial fibrillary acidic protein (GFAP), and Western blotting was used to detect the protein expression of TXNIP, NLRP3, apoptosis-related speck-like protein (ASC), and cysteine aspartate protease 1 (Caspase-1). **Results** Compared with control group, the cognitive ability of rats in the model group decreased, the convulsion intensity score and seizure duration of rats increased, the pathological damage of hippocampal tissue aggravated, the number of Nissl bodies decreased, and the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) decreased, the contents of malondialdehyde (MDA), interleukin-1 β (IL-1 β), and interleukin-18 (IL-18), the positive expressions of Iba-1 and GFAP, and the protein expression levels of TXNIP, NLRP3, ASC and Caspase-1 were prominently increased ($P < 0.05$). Compared with model group, the cognitive ability of rats in the Verb low and high group was improved, the seizure intensity score and seizure duration of rats were reduced, the seizure latency was prolonged, the pathological damage of hippocampal tissue was alleviated, the number of Nissl bodies was increased, and the activities of SOD and GSH-Px were elevated, the contents of MDA, IL-1 β and IL-18, the positive expressions of Iba-1 and GFAP, and the protein expression levels of TXNIP, NLRP3, ASC and Caspase-1 were prominently decreased ($P < 0.05$). In the TMAO group, the cognitive ability of rats decreased, the intensity and duration of convulsions increased, the latency of convulsions shortened, the degree of neuroinflammatory injury in brain tissue was more severe, the number of Nissl bodies decreased, and the activities of SOD and GSH-Px decreased, the contents of MDA, IL-1 β and IL-18, the positive expressions of Iba-1 and GFAP, and the protein expression levels of TXNIP, NLRP3, ASC and Caspase-1 were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with Verb high dose group, the cognitive ability of rats in the Verb high dose + TMAO group decreased, the seizure intensity score and seizure duration of rats increased, the seizure latency shortened, the pathological damage of hippocampal tissue aggravated, the number of Nissl bodies decreased, and the activities of SOD and GSH-Px decreased, the contents of MDA, IL-1 β and IL-18, the positive expressions of Iba-1 and GFAP, and the protein expression levels of TXNIP, NLRP3, ASC and Caspase-1 were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Verb can alleviate inflammation, oxidative stress response, and brain tissue damage, and improve cognitive ability in convulsive rats by inhibiting TXNIP/NLRP3 pathway.

Key words: verbascoside; developmental convulsions; brain injury; neuroinflammation; TXNIP/NLRP3 pathway

惊厥是婴幼儿时期常见的神经系统急症，反复发作可导致严重的惊厥性脑损伤，进而影响患儿的认知功能与神经发育。相关研究显示，神经炎症作为脑损伤后继发性损害的关键环节，是影响预后的重要因素^[1]。尽管现有的抗惊厥药物能有效控制惊厥的急性期发作，但在抑制惊厥后过度神经炎症、减轻远期脑损伤方面仍存在局限，且抗惊厥药物的使用还可能对发育期患儿认知、骨骼生长发育产生不良影响^[2]。因此探寻发育期惊厥性脑损伤的病理机制及寻求更加高效的治疗药物具有积极意义。NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体的异常激活是神经炎症的核心环节，可导致促炎细胞因子成熟与释放，进而引发神经元凋亡和脑组织损伤^[3]。硫氧还蛋白相互作用蛋白 (TXNIP) 可在氧化应激或细胞损伤时与硫氧还蛋白 (TRX) 解离，进而结合并激活 NLRP3 炎症小体，形成 TXNIP/NLRP3 通路的炎症调控轴^[4]。相关研究表明，下调 TXNIP/

NLRP3 通路蛋白表达可减轻脑组织神经元丢失和组织炎症损伤，降低癫痫发作严重程度^[5]。毛蕊花糖苷 (Verb) 是一种天然存在的苯乙醇苷类化合物，广泛分布于多种药用植物中，具有显著的抗氧化、抗炎和神经保护作用^[6]。研究表明，Verb 可通过调控高迁移率族蛋白 1 (HMGB1) /Toll 样受体 4 (TLR4)/NLRP3 通路减轻缺血性脑卒中大鼠脑组织炎症和血脑屏障损伤^[7]，Verb 还可通过增强机体抗氧化能力发挥抗惊厥作用^[8]。基于上述研究，推测 Verb 可能通过调控 TXNIP/NLRP3 通路影响发育期惊厥性脑损伤过程中的神经炎症。本研究通过构建发育期大鼠惊厥模型，旨在探讨 Verb 对大鼠神经炎症的影响，分析其作用是否与调控 TXNIP/NLRP3 通路相关，为临床防治惊厥性脑损伤提供参考。

1 材料

1.1 药品与主要试剂

Verb (质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 115461，温州科

森生物科技有限公司); NLRP3 激活剂 TMAO (批号 1184-78-7, 瑞典 MCE 公司); 苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒、尼氏染色液 [货号 60524、60531, 翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司]; 离子钙结合适配分子 1 (Iba-1)、胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 抗体 (批号 178847、7260, 英国 Abcam 公司); TXNIP、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1 (Caspase-1)、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (批号 7506、15549、6304、6148、7018, 江苏亲科生物研究中心有限公司); 超氧化物歧化酶 (SOD) 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 [批号 J9162, 博辉生物科技 (广州) 有限公司]; 丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18 (IL-18) ELISA 试剂盒 (批号 0354、0571、0310、0266, 上海领科源生物科技有限公司)。

1.2 实验动物

82 只 SPF 级雄性 SD 大鼠 (21 d 龄) 购自维通达 (苏州) 生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2024-0010, 饲养于赣州市人民医院中心实验室, 实验动物使用许可证号 SYXK (赣) 2023-0006, 大鼠饲养温度为 21~24 °C, 相对湿度 55%~60%。12 h 光暗循环, 自由摄食饮水。本研究经赣州市人民医院动物实验医学伦理委员会批准 (批准号 PJD2025-059-01)。

1.3 实验仪器

DM750 光学显微镜 (德国徕卡公司); SpectraMax i3x 多功能酶标仪 (北京悦昌行科技有限公司); ZYF-1200 荧光显微镜 (上海兆仪光电科技有限公司); Quantum CX5 凝胶成像仪 (上海非凡生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 建模及分组

随机取 70 只大鼠 ip 5×10^6 U 的青霉素, 每隔 1 天注射 1 次, 共注射 7 次。根据 Racine 法对大鼠进行分级, 以达到 III 级或 IV 级且持续超过 30 min 后恢复良好作为造模成功判定标准^[9], 共有 63 只大鼠造模成功。随机选取 60 只成功大鼠分为模型组、Verb 低和高剂量 (5 、 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[10]组、TMAO (NLRP3 激活剂, $110 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[11]组、Verb ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) + TMAO ($110 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, 每组 12 只, 另取 12 只健康大鼠作为对照组。Verb 低和高剂量组大鼠 ip 5 、 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 Verb, TMAO 组大鼠 ig $110 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的

TMAO, Verb+TMAO 组大鼠 ip $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 Verb、ig $110 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 TMAO^[11], 以上给药方式均为每天 1 次, 连续 28 d。

2.2 新物体识别实验

末次给药结束后, 将大鼠置于开放场中, 放入 2 个相同物体, 让其自由探索 1 h。24 h 后, 替换其中 1 个物体为新物体, 再次观察大鼠探索行为。

识别指数 = 新物体探索时间 / 总探索时间

2.3 惊厥行为实验

末次给药 2 h 后, 除对照组外, 其余组大鼠 ip 5×10^6 U 的青霉素诱导惊厥, 记录大鼠惊厥强度 (惊厥强度评分: I 级, 口腔、面部肌肉抽搐; II 级, 头、颈部抽搐; III 级, 前肢抬起和抽搐; IV 级, 四肢抽搐; V 级, 翻身、四肢僵直)、发作潜伏期 (用安装在实验箱内的摄像头记录大鼠首次出现惊厥行为的时间间隔) 和持续时间 (摄像头记录大鼠开始出现惊厥行为到惊厥行为完全停止的时间间隔)。

2.4 HE 染色和尼氏小体染色检测海马组织病理损伤

各组随机取 6 只大鼠安乐死后, 分离出海马组织, 经固定、脱水、石蜡包埋后切片。切片经脱蜡水化、HE 染色、封片后于光学显微镜下观察。

取部分切片脱蜡至水后, 浸入 0.1% 甲酚紫染液中染色后醋酸分化, 脱水、透明、封片后于光镜下观察。

2.5 免疫荧光法检测海马组织 Iba-1、GFAP 蛋白表达

对“2.4”项中石蜡切片依次经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化, 然后用柠檬酸盐缓冲液高温抗原修复, 切片置于湿盒中, 滴加封闭液覆盖组织, 室温封闭 1 h。依次滴加一抗、二抗孵育, 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚复染后封片。使用荧光显微镜观察并定量区域内 Iba-1、GFAP 的平均荧光强度。

2.6 ELISA 法检测海马组织 MDA、IL-1 β 、IL-18、SOD 和 GSH-Px 水平

各组剩余 6 只大鼠安乐死后, 取部分海马组织, 称质量后加 0.9% 氯化钠溶液后匀浆、离心取上清液。经加样、加酶标二抗、显色、终止与读数后, 根据标准曲线的浓度计算各指标含量。

2.7 Western blotting 实验检测 TXNIP/NLRP3 通路蛋白表达

取“2.6”项部分海马组织裂解出总蛋白, 检测

并定量总蛋白。蛋白经变性、电泳分离、转膜、封闭后,分别与 TXNIP、NLRP3 一抗(稀释比例为 1:1000)下 4 °C 孵育过夜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗 IgG (1:1000) 室温孵育 1 h,再次洗膜。可视化处理后,采用 Image J 对条带灰度进行分析。

2.8 统计学方法

使用 SPSS 24.0 软件进行数据分析,计量资料符合正态分布且方差齐,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(ANOVA)进行组间比较,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验进行。

3 结果

3.1 Verb 对大鼠认知功能的影响

与对照组比较,模型组识别指数明显降低 ($P < 0.05$);相较于模型组,Verb 低、高剂量组识别指数明显升高 ($P < 0.05$),TMAO 组识别指数明显降低 ($P < 0.05$);与 Verb 高剂量组比较,Verb+TMAO 组识别指数明显降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 Verb 对大鼠惊厥发作的影响

相较于对照组,模型组大鼠惊厥强度和发作持

表 1 各组大鼠识别指数比较 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Comparison of recognition index among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	识别指数
对照	—	0.74 ± 0.07
模型	—	0.42 ± 0.03*
Verb	5	0.55 ± 0.06 [#]
	10	0.63 ± 0.04 [#]
TMAO	110	0.34 ± 0.03 [#]
Verb+TMAO	10+110	0.48 ± 0.04 [△]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与 Verb 高剂量组比较: [△] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [△] $P < 0.05$ vs Verb high-dose group.

续时间明显增多 ($P < 0.05$)。相较于模型组,Verb 低、高剂量组惊厥强度和发作持续时间明显减少,发作潜伏期延长 ($P < 0.05$),TMAO 组惊厥强度和发作持续时间增多,发作潜伏期缩短 ($P < 0.05$);与 Verb 高剂量组比较,Verb+TMAO 组惊厥强度和发作持续时间明显增多,发作潜伏期缩短 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠惊厥行为比较 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 2 Comparison of convulsive behaviors among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	惊厥强度/分	发作潜伏期/s	发作持续时间/s
对照	—	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型	—	4.17 ± 0.20*	176.81 ± 12.78	25.74 ± 3.10*
Verb	5	3.30 ± 0.10 [#]	269.67 ± 19.16 [#]	17.28 ± 2.05 [#]
	10	2.17 ± 0.18 [#]	356.31 ± 22.34 [#]	9.30 ± 1.27 [#]
TMAO	110	4.83 ± 0.25 [#]	144.50 ± 11.32 [#]	32.85 ± 2.64 [#]
Verb+TMAO	10+110	4.00 ± 0.35 [△]	195.33 ± 13.29 [△]	20.00 ± 2.35 [△]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与 Verb 高剂量组比较: [△] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [△] $P < 0.05$ vs Verb high-dose group.

3.3 Verb 对大鼠脑组织病理损伤的影响

对照组大鼠海马神经元排列整齐、密集,无明显水肿或坏死,尼氏小体分布均匀;模型组神经元排列紊乱、稀疏,组织结构松散,边界模糊,尼氏小体数量减少、染色变浅;相较于模型组,Verb 低、高剂量组神

经元排列紊乱程度减轻,炎症细胞浸润和胶质细胞增生程度降低,尼氏小体数量增多;相较于模型组,TMAO 组神经元排列紊乱、稀疏,尼氏小体数量减少;相较于 Verb 高剂量组,Verb+TMAO 组神经元排列紊乱程度加重,尼氏小体数量减少的更多。见图 1、2。

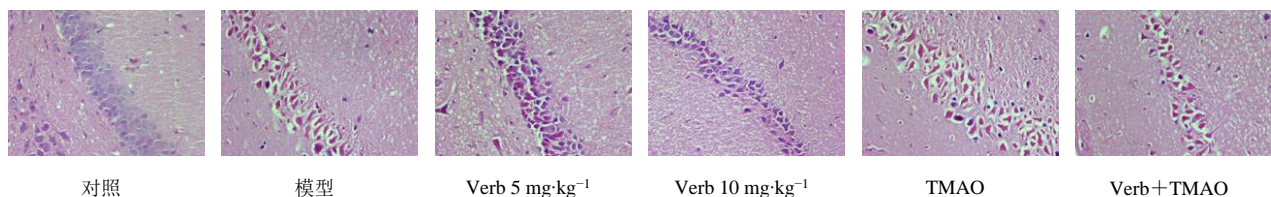


图 1 HE 染色 (×400)

Fig. 1 HE staining (×400)

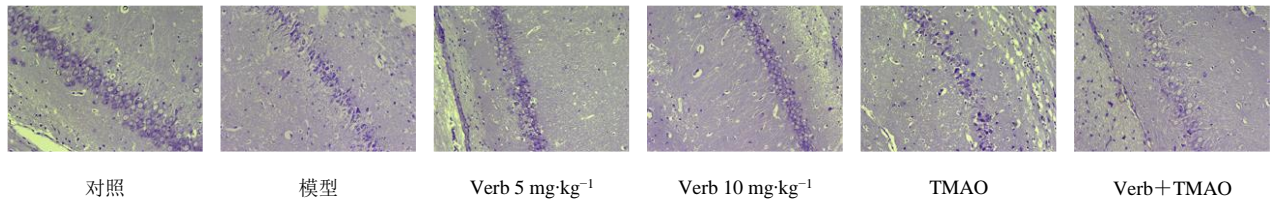


图 2 尼氏小体染色 (×200)
Fig. 2 Nissl body staining (×200)

3.4 Verb 对大鼠海马组织 Iba-1、GFAP 表达的影响

相较于对照组, 模型组大鼠海马组织 Iba-1 和 GFAP 荧光强度显著升高 ($P < 0.05$); 相较于模型组, Verb 低、高剂量组大鼠海马组织 Iba-1 和 GFAP

荧光强度显著降低 ($P < 0.05$), TMAO 组大鼠海马组织 Iba-1 和 GFAP 荧光强度升高 ($P < 0.05$); 与 Verb 高剂量组比较, Verb+TMAO 组大鼠海马组织 Iba-1 和 GFAP 荧光强度升高 ($P < 0.05$)。见图 3、表 3。

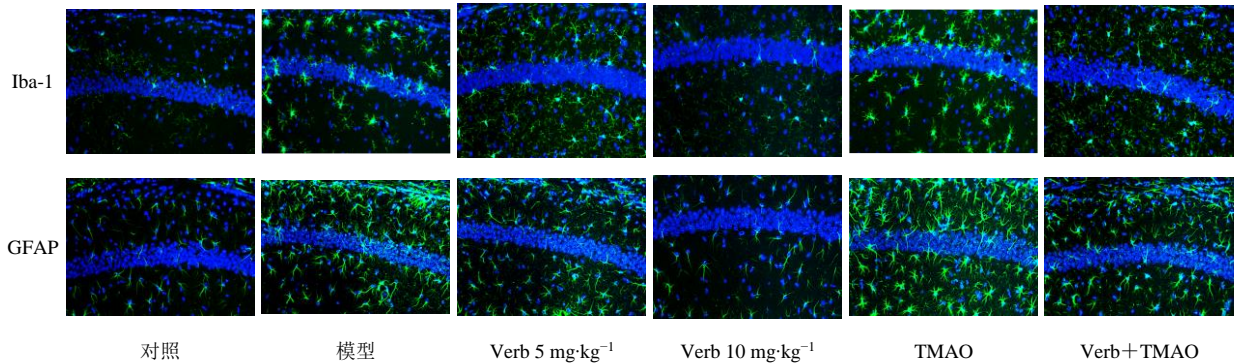


图 3 免疫荧光检测 Iba-1、GFAP 表达 (×200)
Fig. 3 Detection of Iba-1 and GFAP expressions by immunofluorescence (×200)

表 3 各组大鼠海马组织 Iba-1、GFAP 阳性表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Comparison of Iba-1 and GFAP positive expressions in hippocampal tissues of rats among different groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Iba-1 荧光强度	GFAP 荧光强度
对照	—	98.17 ± 7.63	146.71 ± 10.04
模型	—	241.39 ± 19.78*	325.38 ± 24.75*
Verb	5	190.68 ± 15.16 [#]	264.42 ± 20.47 [#]
	10	126.00 ± 10.34 [#]	181.72 ± 15.36 [#]
TMAO	110	287.39 ± 21.08 [#]	401.33 ± 22.52 [#]
Verb+TMAO	10+110	205.34 ± 21.29 [△]	298.45 ± 25.83 [△]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与 Verb 高剂量组比较: [△] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [△] $P < 0.05$ vs Verb high-dose group.

3.5 Verb 对大鼠海马组织炎症和氧化应激反应的影响

相较于对照组, 模型组 MDA、IL-1 β 和 IL-18 水平升高, SOD 和 GSH-Px 活性降低 ($P < 0.05$); 相较于模型组, Verb 低、高剂量组 MDA、IL-1 β 和 IL-18 水平降低, SOD 和 GSH-Px 活性升高 ($P < 0.05$), TMAO 组 MDA、IL-1 β 和 IL-18 水平升高,

SOD 和 GSH-Px 活性降低 ($P < 0.05$); 与 Verb 高剂量组比较, Verb+TMAO 组 MDA、IL-1 β 和 IL-18 水平升高, SOD 和 GSH-Px 活性降低 ($P < 0.05$)。见表 4。

3.6 Verb 对大鼠海马组织 TXNIP/NLRP3 通路蛋白表达的影响

相较于对照组, 模型组大鼠海马组织 TXNIP、

表 4 各组大鼠海马组织炎症和氧化应激反应对比 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Comparison of inflammatory and oxidative stress responses in hippocampal tissues of rats among different groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	MDA/ (nmol·mg ⁻¹)	SOD/ (U·mg ⁻¹)	GSH-Px/ (U·mg ⁻¹)	IL-1β/ (pg·mg ⁻¹)	IL-18/ (pg·mg ⁻¹)
对照	—	3.15±0.10	146.80±11.04	7.72±0.41	134.58±7.04	95.62±6.91
模型	—	8.21±0.58*	68.21±6.75*	2.61±0.15*	327.62±24.34*	223.49±18.70*
Verb	5	6.60±0.47 [#]	99.42±8.47 [#]	4.05±0.21 [#]	254.34±21.30 [#]	174.70±13.85 [#]
	10	4.57±0.39 [#]	131.72±15.36 [#]	6.56±0.47 [#]	162.89±12.46 [#]	121.50±10.37 [#]
TMAO	110	10.11±0.68 [#]	55.20±4.12 [#]	1.33±0.15 [#]	347.52±30.34 [#]	264.39±20.85 [#]
Verb+TMAO	10+110	6.96±0.48 [△]	76.45±5.83 [△]	3.78±0.23 [△]	281.28±24.09 [△]	198.81±15.52 [△]

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与 Verb 高剂量组比较: [△] $P<0.05$ 。

* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; [△] $P<0.05$ vs Verb high-dose group.

NLRP3、ASC 和 Caspase-1 蛋白表达量明显升高 ($P<0.05$); 相较于模型组, Verb 低、高剂量组 TXNIP、NLRP3、ASC 和 Caspase-1 蛋白表达量明显降低 ($P<0.05$), TMAO 组 TXNIP、NLRP3、ASC

和 Caspase-1 蛋白表达量明显升高 ($P<0.05$); 与 Verb 高剂量组比较, Verb+TMAO 组 TXNIP、NLRP3、ASC 和 Caspase-1 蛋白表达量明显升高 ($P<0.05$)。见图 4、表 5。

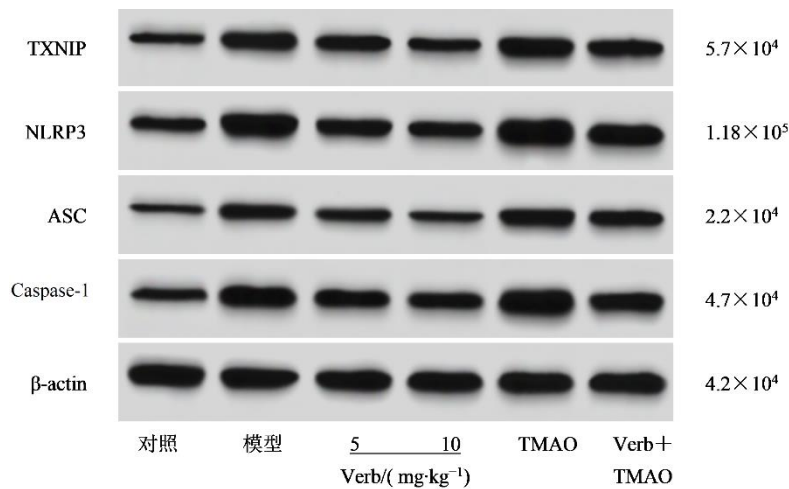


图 4 Western blotting 检测海马组织蛋白表达

Fig. 4 Detection of protein expression in hippocampal tissues by Western blotting

表 5 各组大鼠海马组织 TXNIP、NLRP3、ASC 和 Caspase-1 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Comparison of TXNIP, NLRP3, ASC and Caspase-1 protein expressions in hippocampal tissues of rats among different groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TXNIP/β-actin	NLRP3/β-actin	ASC/β-actin	Caspase-1/β-actin
对照	—	0.36±0.02	0.52±0.03	0.28±0.02	0.47±0.03
模型	—	0.91±0.05*	1.15±0.07*	0.77±0.04*	1.05±0.05*
Verb	5	0.75±0.04 [#]	0.93±0.04 [#]	0.56±0.04 [#]	0.82±0.04 [#]
	10	0.47±0.03 [#]	0.69±0.03 [#]	0.36±0.03 [#]	0.60±0.05 [#]
TMAO	110	1.04±0.06 [#]	1.27±0.08 [#]	0.89±0.05 [#]	1.18±0.06 [#]
Verb+TMAO	10+110	0.83±0.04 [△]	1.04±0.06 [△]	0.71±0.04 [△]	0.94±0.06 [△]

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与 Verb 高剂量组比较: [△] $P<0.05$ 。

* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; [△] $P<0.05$ vs Verb high-dose group.

4 讨论

发育期惊厥性脑损伤是发生在儿童大脑发育关键时期,由惊厥导致的大脑结构和功能损害。惊厥发作可通过激活氧化应激、神经炎症等级联反应,导致海马等关键脑区神经元丢失、突触可塑性异常,最终引发认知障碍、癫痫易感性增加等远期后遗症^[12]。当前,针对发育期惊厥性脑损伤的治疗研究已取得一定进展,但临床治疗仍面临诸多挑战。传统抗惊厥药物如咪达唑仑等虽能快速控制惊厥发作,但其对未成熟脑存在潜在不良影响,可能干扰神经元正常增殖分化且无法有效阻断惊厥后的脑损伤进展。此外,一些调节剂存在作用靶点单一、神经保护效果有限及部分药物安全性不明等问题^[13],因此需要寻求兼具抗惊厥与神经保护双重作用的新型药物。

惊厥发作时,神经元异常放电并伴随能量代谢急剧增加,导致线粒体功能紊乱,活性氧大量产生,触发氧化应激级联反应。发育期大脑抗氧化系统尚未成熟,更易受到氧化损伤,进而导致神经元死亡,是惊厥后认知功能障碍(如学习记忆缺陷)和行为异常(如焦虑、多动)的重要分子基础^[14]。惊厥的核心病理生理基础是神经元异常放电触发中枢免疫细胞活化,导致促炎因子释放增加、炎症反应放大,进而加重神经损伤^[15]。炎症因子是由免疫细胞(如小胶质细胞、星形胶质细胞)和某些神经元释放的细胞信号分子。在发育期惊厥中,其水平变化标志着神经炎症的激活,是脑损伤的核心环节。小胶质细胞是脑内常驻免疫细胞,受到应激刺激时,海马(作为癫痫易损脑区)中的静息态小胶质细胞会迅速被激活,发生形态学改变、数量增多和向损伤部位迁移,其中活化的 Iba-1 阳性小胶质细胞是产生促炎因子的主要来源,介导神经炎症和氧化应激^[16]。星形胶质细胞在发育期大脑中不仅承担支持、营养等基础功能,更在突触形成、神经环路构建等关键过程中发挥核心作用。活化的星形胶质细胞不能有效清除细胞外过多的谷氨酸和钾离子,从而加剧兴奋性毒性和神经元超同步放电,促进癫痫发生;还介导胶质瘢痕形成,阻碍轴突再生和神经网络的重建。其中 GFAP 表达增加是星形胶质细胞活化和增生的标志^[17]。本研究显示,惊厥大鼠海马组织炎症和氧化应激反应增强,免疫细胞活化、神经元凋亡增多,脑损伤加重,符合惊厥期的病理变化。

Verb 作为一种天然多酚类化合物,具有强大的

自由基清除能力和抗炎、神经保护等生物学活性。在抗氧化方面,Verb 可通过直接清除活性氧(ROS)、促进抗氧化酶(SOD、GSH-Px、CAT)的表达,增强内源性抗氧化系统功能。如 Verb 可通过增强机体抗氧化能力减轻帕金森小鼠神经元损伤和凋亡,改善小鼠协调能力^[18]。此外,Verb 可通过靶向调控多种炎症信号通路,发挥抗炎作用,如 Verb 可抑制小胶质细胞和星形胶质细胞的激活,发挥神经保护作用^[19]。本研究结果显示,Verb 可抑制小胶质细胞和星形胶质细胞活化、减轻海马组织炎症因子水平,增强抗氧化能力,改善小鼠惊厥行为及认知能力。结果表明 Verb 具有治疗惊厥性脑损伤的显著功效。

TXNIP/NLRP3 通路是调控神经炎症与氧化应激的关键信号轴,在脑损伤中通过介导小胶质细胞过度活化、炎症因子释放及神经元凋亡,成为连接原发性损伤与继发性损伤的核心病理机制^[20]。惊厥状态下,神经元过度兴奋和线粒体功能障碍会导致大量活性氧的产生^[21]。在静息状态下, TXNIP 与 TRX 结合;当氧化应激发生时, ROS 使 TRX 失活,导致 TXNIP 从 TRX 上解离下来。游离的 TXNIP 与 NLRP3 蛋白直接结合,促使 NLRP3 发生构象变化,导致 NLRP3 炎症小体复合物的产生,进而通过产生促炎活性物质(如 IL-1 β 、IL-18),导致海马神经元死亡、损害突触可塑性^[22]。细胞实验指出 TXNIP 敲低可减轻炎症、增强血管生成并减少氧-葡萄糖剥夺后的细胞损伤^[23]。Zhu 等^[24]的研究表明抑制 TXNIP/NLRP3 通路可减轻脑卒中小鼠炎症和氧化应激反应,改善脑微循环缺陷。本研究结果显示,惊厥大鼠海马组织中 TXNIP/NLRP3 通路蛋白表达量明显增加,说明 TXNIP/NLRP3 通路活性升高。Verb 可显著下调该通路蛋白表达,抑制 TXNIP/NLRP3 通路活性;而 TMAO 可进一步加重脑组织病理变化和损伤,说明 Verb 可清除 ROS,下调 NLRP3 炎症小体复合物及促炎因子的表达,减轻脑组织损伤。为验证上述假设,本研究在高剂量 Verb 干预大鼠的同时 ip TMAO,结果显示 Verb 对惊厥大鼠脑损伤的治疗效果减弱,进一步说明 Verb 是通过抑制 TXNIP/NLRP3 通路实现对大鼠神经炎症及惊厥行为的改善作用。

发育期惊厥性脑损伤中, TXNIP/NLRP3 通路的过度激活是导致神经炎症放大与脑功能障碍的核心机制。Verb 可通过抑制氧化应激反应和

TXNIP/NLRP3 通路活性,减轻神经炎症并抑制神经元凋亡。本研究结果为 Verb 的临床应用提供了理论支撑,同时,针对 TXNIP/NLRP3 通路的靶向干预,有望打破脑损伤后继发性病理损伤的恶性循环,为发育期脑功能保护提供新策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 周杨菀. 热性惊厥患儿电解质、炎症指标及乳酸水平的分析 [D]. 衡阳: 南华大学, 2023.
Zhou Y W. Analysis of electrolyte, inflammation indicators, and lactate levels in children with febrile convulsions [D]. Hengyang: University of South China, 2023.
- [2] 方秀英, 毛健. 新生儿缺氧缺血性脑病中连续脑电监测对惊厥的诊断及抗发作药物疗效的评估 [J]. 中国小儿急救医学, 2024, 31(10): 733-737.
Fang X Y, Mao J. Continuous electroencephalogram monitoring in the diagnosis of neonatal seizures in hypoxic-ischemic encephalopathy and the evaluation of the efficacy of antiseizure medications [J]. Chin Pediatr Emerg Med, 2024, 31(10): 733-737.
- [3] 于平, 展美屏, 祝欣欣, 等. 梓醇通过 NLRP3/Caspase-1 通路对糖尿病心肌病大鼠心脏的保护作用及机制 [J]. 锦州医科大学学报, 2024, 45(3): 13-18.
Yu P, Zhan M P, Zhu X X, et al. Protective effect and mechanism of catalpol on rats with diabetic cardiomyopathy through NLRP3/caspase-1 pathway [J]. J Jinzhou Med Univ, 2024, 45(3): 13-18.
- [4] Yang C J, Mo J, Liu Q M, et al. TXNIP/NLRP3 aggravates global cerebral ischemia-reperfusion injury-induced cognitive decline in mice [J]. Heliyon, 2024, 10(6): e27423.
- [5] Yang C J, Mo J, Liu Q M, et al. TXNIP/NLRP3 aggravates global cerebral ischemia-reperfusion injury-induced cognitive decline in mice [J]. Heliyon, 2024, 10(6): e27423.
- [6] 黄文静, 谢兴亮, 盛艳梅. 毛蕊花糖苷药理作用及其制剂研发进展 [J]. 中草药, 2024, 55(23): 8256-8268.
Huang W J, Xie X L, Sheng Y M. Pharmacological effects and preparation development progress of verbascoside [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(23): 8256-8268.
- [7] Liao Y C, Hu J P, Guo C, et al. Acteoside alleviates blood-brain barrier damage induced by ischemic stroke through inhibiting microglia HMGB1/TLR4/NLRP3 signaling [J]. Biochem Pharmacol, 2024, 220: 115968.
- [8] 谢良骐, 柴智, 弓强, 等. 毛蕊花糖苷对中枢神经系统的的作用及其机制研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(7): 179-182.
Xie L Q, Chai Z, Gong Q, et al. Research progress on pharmacological effects and mechanism of acteoside on central nervous system diseases [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(7): 179-182.
- [9] 李振宏, 纪剑清, 许运琳. 齐墩果酸激活 GPR39 对发育期惊厥性脑损伤大鼠神经发育的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(10): 1468-1472.
Li Z H, Ji J Q, Xu Y L. Effects of oleanolic acid activation of GPR39 on neural development in developmental convulsive brain injury rats [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2024, 40(10): 1468-1472.
- [10] 徐霞, 张艺森, 雷瑞瑞. 毛蕊花糖苷通过 Wnt/ β -catenin 信号通路对新生大鼠缺血缺氧性脑损伤的改善作用 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(10): 4897-4901.
Xu X, Zhang Y S, Lei R R. Improvement effect of verbascoside on ischemia-hypoxic brain damage in neonatal rats through Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(10): 4897-4901.
- [11] 王雪莹, 李晓龙, 王禹, 等. 隐丹参酮调节 TXNIP/NLRP3 信号通路对肺炎克雷伯菌肺炎大鼠炎症反应的影响 [J]. 中国病原生物学杂志, 2025, 20(7): 851-855.
Wang X Y, Li X L, Wang Y, et al. The effect of cryptotanshinone on the inflammatory response of Klebsiella pneumoniae pneumonia rats by regulating the TXNIP/NLRP3 signaling pathway [J]. J Pathog Biol, 2025, 20(7): 851-855.
- [12] 任婷婷, 杨艳娥, 王彦华, 等. 热性惊厥患儿血清铁蛋白、同型半胱氨酸和泛酸羟基末端水解酶 L1 水平变化及其发病相关性分析 [J]. 现代生物医学进展, 2024, 24(23): 4542-4544.
Ren T T, Yang Y E, Wang Y H, et al. Levels of serum ferritin, homocysteine and hydroxy-terminal hydrolase pantothenic acid L1 levels in children with febrile seizures and their correlation analysis [J]. Prog Mod Biomed, 2024, 24(23): 4542-4544.
- [13] Zitek T, Schepke K A, Antevy P, et al. Midazolam and ketamine for convulsive status epilepticus in the out-of-hospital setting [J]. Ann Emerg Med, 2025, 85(4): 305-312.
- [14] 张琳佳, 周芸, 蒋巧平. 小儿热性惊厥后认知功能下降影响因素调查分析 [J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(6): 1104-1107.
Zhang L J, Zhou Y, Jiang Q P. Investigation and analysis on influencing factors of cognitive decline after febrile convulsion in children [J]. Matern Child Health Care

- China, 2023, 38(6): 1104-1107.
- [15] 廖醒, 吴玲, 杨荣荣. 炎症指标对新型冠状病毒奥密戎变异株感染患儿惊厥发作的预测价值 [J]. 中华传染病杂志, 2023, 41(11): 701-705.
- Liao X, Wu L, Yang R R. Predictive value of inflammatory markers for convulsions in children infected with the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 Omicron variant [J]. Chin J Infect Dis, 2023, 41(11): 701-705.
- [16] Kempuraj D, Dourvetakis K D, Cohen J, et al. Neurovascular unit, neuroinflammation and neurodegeneration markers in brain disorders [J]. Front Cell Neurosci, 2024, 18: 1491952.
- [17] Zheng X Y, Zhang H W, Zhang Y H, et al. Salidroside ameliorates cerebral ischemic injury and regulates the glutamate metabolism pathway in astrocytes [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1472100.
- [18] 张明洋, 杨新玲. 毛蕊花糖苷对 MPTP 制备的帕金森病模型小鼠的神经保护作用及机制研究 [J]. 神经疾病与精神卫生, 2024, 24(5): 364-370.
- Zhang M Y, Yang X L. Research on the protective effect and mechanisms of verbascoside on Parkinson disease model mice prepared by MPTP [J]. J Neurosci Ment Health, 2024, 24(5): 364-370.
- [19] Chen S S, Liu H H, Wang S M, et al. The neuroprotection of verbascoside in Alzheimer's disease mediated through mitigation of neuroinflammation via blocking NF- κ B-p65 signaling [J]. Nutrients, 2022, 14(7): 1417.
- [20] Zhao Q L, Liu G H, Ding Q, et al. The ROS/TXNIP/NLRP3 pathway mediates LPS-induced microglial inflammatory response [J]. Cytokine, 2024, 181: 156677.
- [21] 余欢, 郭文媛, 邓羿馥, 等. 基于 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路探讨温和汤治疗热性惊厥药效机制 [J]. 中国中医药信息杂志, 2025, 32(7): 25-33.
- Yu H, Guo W Y, Deng Y J K, et al. Exploration on the pharmacodynamic mechanism of Wenhe Decoction in the treatment of febrile seizures based on the NLRP3/caspase-1/GSDMD signaling pathway [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2025, 32(7): 25-33.
- [22] Fei J W, Wang H X, Han J, et al. TXNIP activates NLRP3/IL-1 β and participate in inflammatory response and oxidative stress to promote deep venous thrombosis [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2023, 248(18): 1588-1597.
- [23] He C X, Bao Y, Xu Y, et al. Targeting TXNIP for neuroprotection: A novel approach to reducing inflammation and promoting recovery in ischemic stroke [J]. Biomol Biomed, 2025, 25(3): 553-562.
- [24] Zhu L, Yang Y M, Huang Y, et al. Shexiang Tongxin dropping pills protect against ischemic stroke-induced cerebral microvascular dysfunction via suppressing TXNIP/NLRP3 signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 322(1): 117567-117578.

[责任编辑 兰新新]