View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۲، شماره ۳/پاییز ۱۳۸۹/ ۳۵-۲۹

ارتباط بین پلی مورفیسم ژن IL 1RA با بیماری تشنج ناشی از تب در کودکان شهرکرد

آهورا نوذری*، دکتر علی محمد فروغمند**، دکتر علی محمد احدی***، دکتر ابوالفضل خوشدل†[1]، شهلا صالحیان††، همایون باقری††، دکتر مرتضی هاشم زاده چالشتری†††، عفت فرخی♦

*کارشناس ارشد ژنتیک-دانشگاه شهید چمران اهواز، ** دانشیار گروه ژنتیک- دانشگاه شهید چمران اهواز، ***دانشیار گروه ژنتیک- دانشگاه شهرکرد، †استادیار گروه اطفال- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ††کارشناس پرستاری- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی-دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ††† استاد ژنتیک انسانی-مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ♦کارشناس ارشد بیوشیمی- مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی-دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

تاریخ دریافت:۸۸/۱۰/۱۵ تاریخ تایید: ۸۹/۱/۱۷

چکیده:

زمینه و هدف: **امروزه تب و تشنج بخش قابل ملاحظه ای از موارد بستری کودکان را در بیمارستان ها به خود اختصاص داده است. با توجه به تحقیقات اخیر که نوعی ارتباط مثبت بین وجود سابقه خانوادگی برای تشنج (از نظر نوع و سن بروز بیماری در کودک) و ابتلا به این بیماری را نشان می دهد، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم توالی های ریز اقماری ژن IL1RA (Inter Leukine 1 Receptor Antagonism) و استعداد ابتلا به بیماری تشنج ناشی از تب کودکان شهرکرد انجام شد.**

روش بررسی: **در این مطالعه موردی- شاهدی تعداد ۱۰۰ بیمار مبتلا به تشنج ناشی از تب مراجعه کننده به بخش های اطفال و اورژانس بیمارستان هاجر شهرکرد و همچنین تعداد ۱۳۰ کودک سالم انتخاب گردید. نمونه های خون تهیه و پس از استخراج DNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن IL 1RA، واکنش PCR جهت تکثیر ژن مربوطه صورت پذیرفت و در نهایت با مقایسه اندازه قطعات VNTR (Variable Number Tandem Repeat) نتایج با استفاده از آزمون کای اسکوار تحلیل شد.**

یافته ها: **میانگین سن کودکان گروه بیمار ۳/٤±۱/٤ سال و میانگین سنی کودکان گروه کنترل ۳/٤±۱/۳ سال بود. ٤٤ مورد از کودکان بیمار سابقه خانوادگی تشنج داشتند. فراوانی ژنوتیپی آلل ۱ و آلل ۲ ژن IL1RA به ترتیب در گروه بیمار ٥٦٪ و ۱۰٪ و در گروه کنترل ٥٥/٤٪ و ٦/۹٪ بود. برای آلل ۱ و ۲ از نظر پلی مورفیسم در این ژن تفاوت آماری معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد (P>۰/۰٥).**

نتیجه گیری: **در کودکان شهرکرد ارتباطی بین پلی مورفیسم های این ژن و ابتلا به بیماری تشنج ناشی از تب وجود ندارد.**

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم، تشنج، تب، ژن IL 1RA، کودکان.

مقدمه:

از هر ۲۰ کودک در سنین شش ماه تا شش سال یکی از آنها به دنبال تب تشنج می‌کند. مطابق آمار منتشر شده اغلب این گونه تشنج ها زیر ۲ سالگی رخ می دهد. از بین کودکان مبتلا ۴۴ درصد موارد زیر ۱۲ ماهگی و ۵۶ درصد بالای ۱۲ ماهگی این بیماری را تجربه کرده‌اند. از بین این کودکان، ۳۳ درصد مجدداً برای بار دوم دچار تشنج می شوند و ۱۶/۵ درصد بـرای بار سوم تشنج می‌کنند (۵-۱).

تشنج همراه تب می تواند ناشی از عفونت های داخل مغزی، عفونت های خارج مغزی یا بدون وجود کانون عفونت موضعی باشد. تشنج ناشی از تب به تشنجی گفته می‌شود که کانون عفونت موضعی را نمی توان تعیین کرد.

مطالعات اخیر نشان دهنده نوعی ارتبـاط مثبت بین سابقه خانوادگی و ابتلا به بیماری است. وراثت-پذیری به دست آمده برای این بیماری ۷۵ درصد

[1]**نویسنده مسئول:** شهرکرد- خیابان پرستار -بیمارستان هاجر(س)- بخش اطفال-تلفن: ۰۳۸۱-۲۲۲۰۰۱٦، E-mail:nikakhosh@gmail.com

گزارش شده است، در صورتی که یکی از والدین در کودکی این بیماری را تجربه کرده باشد، ریسک ابتلا فرزند ۱۰ تا ۲۰ درصد افزایش می‌یابد و در صورت ابتلا هر دو والد این میزان تا ۳۰ درصد افزایش می یابد. در کل می‌توان گفت، ۳۰ درصد کودکان مبتلا نوعی سابقه خانوادگی داشته و نیز سن بروز بیماری در این کودکان نسبت به سایر کودکان مبتلا پایین‌تر است. همچنین در صورتی که فرزند پسر خانواده این بیماری را بروز دهد شانس ابتلا خواهر و برادرهای وی نسبت به زمانی که دختر خانواده بیماری را نشان دهد، بیشتر است (۱۰-۶).

با استفاده از مارکرهای میکروساتلایتی لوکوس های ژنی مختلفی برای این بیماری شناسایی شده است (هتروژنیتی لوکوسی)، FEB1 در موقعیت 8q13-21، FEB 2 در موقعیت 19p13، FEB3 در موقعیت 2q24 (به دلیل جهش در ژنSCN1A)، FEB4 در موقعیت 5q14 (به دلیل جهش در ژن GPR98)، FEB5 در موقعیت 6q، FEB 6 در موقعیت 18p، FEB7 در موقعیت 21q22، FEB 8 در موقعیت 5q31 (به دلیل جهش در ژن GABRG2)، FEB9 در موقعیت p24.2 – p23، FEB10 در موقعیت 3q26 و همچنین GEFS+ در موقعیت 19q13.1، در زیر مجموعه این بیماری قرار می گیرد، به علت وقوع موتاسیون های مختلف در ژن GEFS، نوعی اختلال آتوزوم غالب در کانال های سدیمی وابسته به ولتاژ رخ می دهد (۱۳-۱۱).

عدم تعـادل در پاسخ سیستم ایمنی به واسطه سایتوکین ها (به خصوص سایتوکین های التهاب زا) در ایجاد و آغاز این بیماری تاثیر به سزایی دارد. اینترلوکین ۱ (IL1) یکی از نخستین سایتوکین های شناسایی شده است. در هنگام کشف دانشمندان آن را فاکتور القا کننده تب، فاکتور کنترل کننده لنفوسیت ها، فاکتور افزایش دهنده سلول های مغز استخوان و عامل تخریب مفاصل استخوانی می دانستند (۱۴). اعضای اصلی این خانواده IL1α، IL1β و IL1RA می باشند. IL1 از دو قسمت پروتئینی مجزا IL1α و IL1β ساخته شده است. IL1α، IL1β سایتوکین‌های التهاب زا می باشند که در دفاع ایمنی علیه عفونت ها وارد عمل می شوند. IL1RA مولکولی است که برای اتصال به گیرنده با IL1α و IL1β رقابت می‌کند و فعالیت دفاعی آن ها را مهار می‌کند (۱۵،۱۴).

از نظر موقعیت کروموزومی IL1α در موقعیت 2 q12-21 و IL1β در موقعیت 2 q 13-21 و IL-1RA در موقعیت کروموزومی 21 -2q14 در ناحیه ژنومی لوکوس های α IL 1 و IL1β قرار دارد (۱۶).

در اینترون شماره ۲ ژن IL1RA ناحیه VNTR ی با انـــدازه 86 bp وجود دارد، که واجد سه جایگاه اتصال قوی جهت پروتئین ها (فاکتورهای رونویسی) شامل (۱۷): Acute - phase response element 3 و Interferon α silencer A، Interferon β silencer B–2 ، جایـــگاه‌هـــای Interferon β silencer B و Acute - phase response element در پاسخ ایمنی علیه ویروس ها دخیل می‌باشند (۱۷). جایگاه اتصال پروتئین Interferon α silencer A نیز در پاسخ ایمنی علیه ویروس ها دخیل بوده و هنگامی که چهار کپی از تکرارهای دنبال هم بین enhancer و promoter قرار گیرد، به عنوان مهار کننده علیه واکنش التهابی عمل می‌کند. تکرارهای چهار تایی این ناحیه التهاب القا شده توسط ویروس ها را دریافت می‌کند اما تکرارهای تکی و دوتایی در شرایط التهابی ایجاد شده توسط ویروس‌ها غیر فعال باقی می‌مانند و بنابراین میزان رونویسی ژن پایین خواهد بود. تعداد تکرارها در افراد مختلف از ۱ تا ۶ تکرار متفاوت است و فرکانس آلل های افراد در نژادها و جمعیت های جغرافیایی مختلف متفاوت است. از این میان افرادی با چهار تکرار (آلل۱) بیشترین فراوانی آللی را به خود اختصاص می‌دهند. هر چه تعداد تکرارها بیشتر باشد میزان تولید این فاکتور بیشتر بوده و اثرات التهابی، سریع تر و بیشتر متوقف می شوند (۲۰-۱۷). از این دیدگاه می‌توان دریافت که چگونه افراد هموزیگوت آلل ۲ این ژن (افرادی با ۲ تکرار از این ناحیه) پاسخ های ایمنی- التهابی شدیدتر و طولانی تری نسبت به افرادی با سایر ژنوتیپ ها بروز می دهند.

بنابراین به دلیل نقش IL1RA در مقابله با اثـرات IL1 و همچنین کاهش میزان بیان IL1 به عنوان یک سایتوکین التهابی ایجاد کننده تب، در این مطالعه پلی مورفیسم ژن IL1RA که منجر به تفاوت میزان بیان آن می شود، مورد بررسی قرار گرفت و پیگیری وجود یا عدم وجود ارتباط میان میزان بیان این فاکتور با ادامه تب و تشنج بررسی شد.

روش بررسی:

در این مطالعه موردی – شاهدی ۱۰۰ بیمار دارای تشنج ناشی از تب (تحت نظر متخصص) مراجعه کننده به بخش های اطفال و اورژانس بیمارستان هاجر شهرکرد و همچنین تعداد ۱۳۰ کودک سالم (بدون تشنج ناشی از تب) برگزیده شدند. پس از کسب رضایت نامه از ولی بیماران از هر فرد مقدارcc ۱/۵ خون در یک میکروتیوب حاوی ماده ضد انعقادی EDTA گرفته شده و سپس تا زمان استخراج در دمای ۲۰°C – نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از روش فنل – کلروفرم استاندارد (۲۱) صورت گرفت و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico 2100 USA) غلظت DNA استخراج شده بررسی گردید. تکثیر ژن مورد نظر توسط دستگاه ترمو سایکر (ASTEC,PC818 Japan) صورت گرفت. در این واکنش به ازای µ ۰/۵ محصول DNA استخراج شده، µ ۲/۵ از هر پرایمر، µ ۲/۵ بافر ۱۰X، µ ۰/۷۵ MgCl2، µ ۰/۵ dNTP (از غلظت پایه ۱۰ mM)، µ ۰/۱۵ آنزیم Taq Polymerase و µ ۱۵/۶ آب مقطر ترکیب می شوند. در این صورت حجم نهایی هر ویال µ ۲۵ خواهد بود. توالی پرایمرهای رفت (Reverse) و برگشت (Forward) مطابق با مطالعه Cantagrel و همکاران (۲۲) به صورت بود:

پرایمر رفت: (5’ - CTCAGCAACACTCCTAT -3’)

پرایمر برگشت: (5’-TCCTGGTCTGCAGGTAA-3’)

برنامه حرارتی جهت تکثیر ژن در دستگاه به صورت یک دوره ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه (Denaturation)، ۳۰ دوره ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸ °C به مدت ۳۰ ثانیه،۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه (Annealing) و در نهایت یک دوره ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه (Final extention) می باشد. الکتروفورز محصولات PCR روی ژل ۸ درصد اکریل آمید و با افـزودن µ ۳ از محـلول loading buffer (حاوی ormamid 90%, EDTA (pH= 8) 10 mM, Xylen Cyanol 1 mg/mlBromophenol Blue1mg / ml) به µ ۳ از هر نمونه (رو کاغذ پارافین) صورت پذیرفت و باندها بر اساس اندازه از یکدیگر تفکیک شدند و سر انجام با استفاده از نیترات نقره، رنگ‌آمیزی و قابل رؤیت شدند. آلل ها مطابق با تعداد تکرارهای ۸۶ جفت بازی (هسته مرکزی) مشخص گردید.

آلل ۱ :۴ تکرار bp ۴۱۰ آلل ۲: دو تکرار bp ۲۴۰

آلل ۳ : پنج تکرار bp ۵۰۰ آلل ۴ :سه تکرار bp ۳۲۵

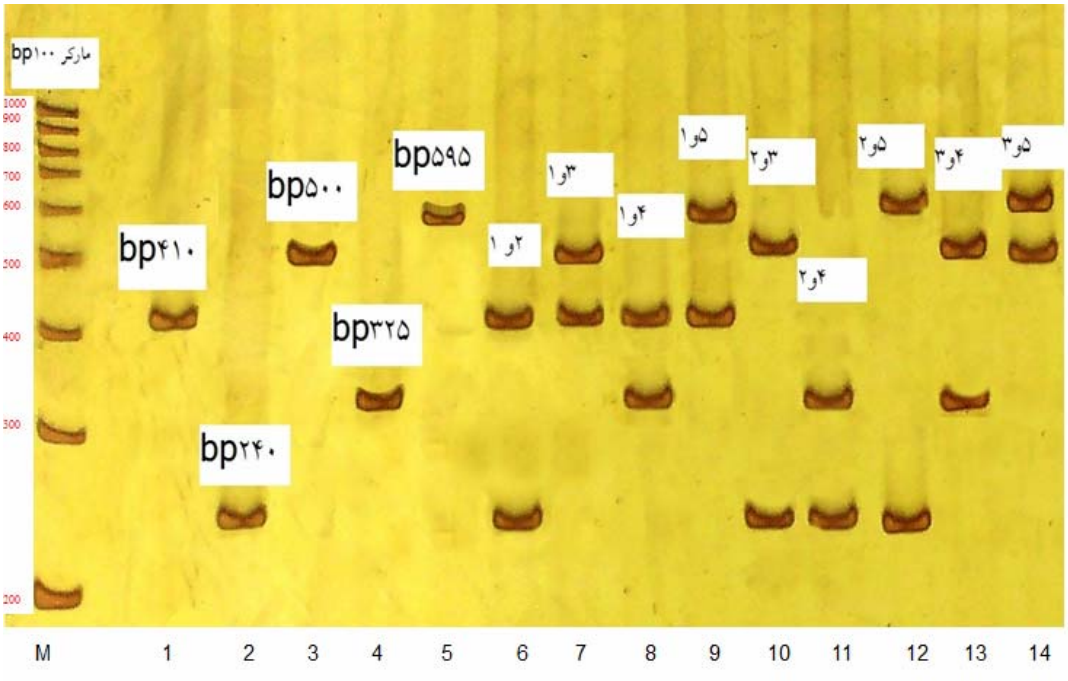
آلل ۵: شش تکرار bp ۵۹۵ آلل ۶: یک تکرارbp ۱۵۴

که به ترتیب آلل ۱ دارای ۴ تکرار از ناحیه ۸۶ جفت بازی، آلل ۲ دو تکرار، آلل ۳ پنج تکرار، آلل ۴ سه تکرار، آلل ۵ شش تکرار و آلل ۶ یک تکرار می باشد (۲۳). همچنین به منظور تجزیه و تحلیل نتایج آماری از آزمون آماری کای دو استفاده شد.

یافته ها:

میانگین سن کودکان گروه بیمار ۱/۴±۳/۴ سال و میانگین سنی کودکان گروه کنترل ۱/۳±۳/۴ سال بود (P>۰/۰۵). همچنین آزمون کای اسکوار مؤید آن بود که تفاوت معنی‌دار آماری در مورد نسبت جنسیتی افراد دو گروه بیمار و کنترل وجود ندارد. از دیدگاه بررسی وجود یا عدم وجود سابقه خانوادگی نیز با توجه به این که ۴۴ درصد افراد بیمار دارای سابقه خانوادگی مثبت بودند، آزمون کای اسکوار ارتباط قوی بین وجود سابقه خانوادگی و ابتلا به بیماری را نشان داد (P<۰/۰۰۱).

فراوانی آلل ۱ با ۴ تکرار از ناحیه VNTRژن مورد نظر در میان هر دو گروه بیمار (۵۶ نفر) و کنترل (۷۲ نفر) از سایر آلل ها بیشتر بود (P<۰/۰۱). همچنین در میان افراد گروه بیمار ۵۶ درصد آلل ۱ و ۱۰ درصـد



تصویرشماره ۱: نتایج مربوط به الکتروفورز محصولات PCR ژن IL1RA روی ژل آکریل آمید ۸٪

آلل ها مطابق با تعداد تکرارهای ۸۶ جفت بازی (هسته مرکزی) مشخص گردید. M-مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۱-هموزیگوت آلل ۱ (دارای ٤ تکرار از ناحیه ۸٦ جفت بازی) ، ۲-هموزیگوت آلل ۲ (دو تکرار) ۳-هموزیگوت آلل ۳ (پنج تکرار)، ٤- هموزیگوت آلل ٤ (۳ تکرار)، ٥- هموزیگوت آلل ٥ (شش تکرار)، ٦- هتروزیگوت آلل ۱ و ۲، ۷-هتروزیگوت آلل ۱ و ۳، ۸-هتروزیگوت آلل ۱ و ٤، ۹-هتروزیگوت آلل ۱ و ٥، ۱۰- هتروزیگوت آلل ۲ و ۳، ۱۱- هتروزیگوت آلل ۲ و ٤، ۱۲-هتروزیگوت آلل ۲ و ٥، ۱۳- هتروزیگوت آلل ۳ و ٤، ۱٤-هتروزیگوت آلل ۳ و ٥

آلل ۲ و در میان گروه کنترل ۵۵/۴ درصد آلل ۱ و ۶/۹ درصد آلل ۲ را داشتند (تصویر شماره ۱). مطابق آزمون آماری کای اسکوار تفاوت آماری معنی داری بین دو گروه بیمار و کنترل از نظر ارتباط پلی مورفیسم های موجود در ژن IL1RA و استعداد ابتلا به بیماری دیده نشد (P>۰/۰۵) (جداول شماره ۱ و ۲).

جدول شماره ۱: فراوانی ژنوتیپی آلل ۱ ژن IL-1RA در مقایسه با سایر آلل ها

مشخصات	بیمار		کنترل		تعداد کل	درصد کل
	تعداد	درصد	تعداد	درصد		
آلل ۲	٥٦	٪٥٦	۷۲	٪٥٥/٤	۱۲۸	٪٥٥/٦
سایر آلل ها	٤٤	٪٤٤	٥۸	٪٤٤/٦	۱۰۲	٪٤٤/٤
X^2 = ۰/۰۰۹		df = ۱		p= ۰/۹۳		

جدول شماره ۲:فراوانی ژنوتیپی آلل ۲ ژن IL-1RA در مقایسه با سایر آلل ها

مشخصات	بیمار		کنترل		تعداد کل	در صد کل
	تعداد	درصد	تعداد	درصد		
آلل ۲	۱۰	٪۱۰	۹	٪٦/۹	۱۹	٪۸/۳
سایر آلل ها	۹۰	٪۹۰	۱۲۱	٪۹۳/۱	۲۳۰	٪۹۱/۷
X2 = ۰/۷۰٦		df = ۱		p = ۰/٤۰۱		

بحث:

تشنج بعلت تب شایع‌ترین تشنج در دوران کودکی است (۱). این بیماری وابسته به سن بوده و قبل از ۹ ماهگی و بعد از ۵ سالگی بسیار نادرمی باشد. در محدوده سنی ۱۸-۱۴ ماهگی بیشترین استعداد ابتلا دیده شده و بطور کلی در ۴-۳ درصد بچه های سنین پائین گزارش شده است (۲). تاریخچه فامیلی از تب با تشنج در خواهران و برادران و والدین بیمار مشخصه یک

استعداد ژنتیکی در ایجاد بیماری است (۲۵،۲۶،۲۴). بسیاری از دانشمندان تلاش هایی جهت مرتبط ساختن تشنج ناشی از تب با دستگاه ایمنی از طریق اینترلوکین‌ها، سایتوکین ها، ایمنوگلوبین ها و اینترفرون داشته اند (۲۷). در حقیقت تشنج ناشی از تب در کودکان نتیجه تداخل پروسه های ایمنی – التهابی، فعال شدن سایتوکین‌ها و عوامل ژنتیکی است. در ایجاد تب، آزاد شدن سایتوکین های تب زا همانند IL1، TNF α (فاکتور نکروز دهنده تومور نوع آلفا) و IL6 (اینترلوکین ۶) INF α (اینترفرون آلفا) و IFN δ (اینترفرون گاما) و IL8 (اینترلوکین ۸) در پاسخ به عوامل تب زای خارجی مثل توکسین میکروب ها نقش دارند. این سایتوکین‌ها در مغز با ایجاد پروستوگلاندین‌ها باعث تغییر در ترموستات بدن در هیپوتالاموس و ایجاد تب می‌شوند (۲۸). مطابق تحقیقات Reiner و همکارانش IL1 نقش مهمی در ایجاد تشنج ناشی از تب دارد و در فاز حاد تشنج ناشی از تب بیماران سطح سرمی بالایی از IL1β دارند لذا به نظر می رسد که این سایتوکین نیز ممکن است در ایجاد تشنج ناشی از تب دخیل باشد (۲۶).

طبق اطلاعات موجود، در ارتباط با بیماری تشنج ناشی از تب در ایران، تحقیقات به عمل آمده در مورد مسائل کلینیکی و پزشکی بوده است و شواهدی مبنی بر پژوهش با استفاده از روش‌های ژنتیک مولکولی مشاهده نشده است. تحقیقات مولکولی انجام گرفته روی ژن IL1RA در سایر نقاط جهان نیز بیشتر روی بیماری‌های التهابی نظیر لوپوس سیستمک، پسوریازیس، سقط های مکرر، ناباروری بوده است (۱۸).

در یک بررسی به عمل آمده در تایوان توسط Tsai پلی مورفیسم IL1RA در کودکان مبتلا به تشنج ناشی از تب مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده گردید که آلل یک از IL1RA همراهی بیشتری در استعداد ابتلا به تشنج ناشی از تب دارد و از این مارکر می شود به عنوان پیش آگهی در استعداد ابتلا به تشنج ناشی از تب استفاده کرد (۲۸). در این مورد تفاوت های نژادی بین جمعیت های مختلف را می توان به عنوان یکی از علل دخیل در این زمینه مطرح نمود. IL1RA از نظر ساختمانی با IL1 α, IL1β ارتباط داشته و در اشغال گیرنده های سطح سلولی IL1 با آن ها رقابت می کند. مطالعات in vitro نیز نشان می دهد که حضور آلل تیپ ۲، IL1RA با افزایش تولید IL1β همراه است (۲۹). نوعی پلی مورفیسم در اینترون شماره ۲ ژن IL1RA دیده شده است. به طوری که آلل ۲ ژن IL1RA روی میزان محصول همین ژن در پلاسما تاثیر می گذارد و در حضور شرایط هموزیگوت برای این آلل میزان IL1β افزایش می یابد. افراد هموزیگوس برای آلل ۲ این ژن پاسخ ایمنی التهابی بسیار شدیدتری نسبت به افرادی با سایر ژنوتیپ های این ژن دارند (۲۸) وجود این آلل به صورت هموزیگوت با انواعی از بیماری های التهابی مزمن نظیر لوپوس سیستمک، پسوریازیس و... در ارتباط است و در مورد سقط های مکرر و خود به خودی و تولد زود هنگام نیز حضور این آلل مشاهده گردیده است (۱۸).

نتیجه گیری:

بر اساس این مطالعه بین حضور آلل های ۱ و ۲ ژن IL1RA و افزایش استعداد ابتلا کودکان به بیماری همراهی مشاهده نگردید. اما با توجه به این که مطابق تحقیقات، IL1 یکی از سایتوکین‌های مهم تب زا محسوب می شود، کنترل میزان بیان آن اهمیت ویژه ای دارد و بنابراین یکی از سایتوکین های مهم در ایجاد این بیماری محسوب شده و لازم است مطالعات بیشتری روی این سایتوکین و سایتوکین‌های مرتبط صورت گیرد، لازم به ذکر است یکی از دلایل بسیار مهم و تعیین کننده در زمینه مشاهده یا عدم مشاهده همراهی حضور یک آلل، تفاوت‌های نژادی جمعیت‌های مختلف می باشد. بنابراین نتایج به دست آمده برای یک جمعیت قابل تعمیم به سایر جمعیت ها نخواهد بود.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کارکنان بیمارستان هاجر(س) و مسئولین بخش اطفال و اورژانس به دلیل همکاری در تهیه نمونه ها، همچنین همکاران محترم مرکز تحقیقات سلولی، مولکـــولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و مشاور آماری محترم جناب آقای دکتر سلیمان خیری صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

منابع:

1. Al-Ajlouni SF, Kodah IH. Febrile convulsions in children. Saudi Med J. 2000 Jul; 21(7): 617-21.

2. Chen CY, Chang YJ, Wu HP. New-onset seizures in pediatric emergency. Pediatr Neonatol. 2010 Apr; 51(2): 103-11.

3. Rantala H, Uhari M, Diagnosis, treatment and prevention of febrile convulsions. Duodecim. 2009; 125(24): 2704-8.

4. Reid AY, Galic MA, Teskey GC, Pittman QJ. Febrile seizures: current views and investigations. Can J Neurol Sci. 2009; 36: 679-86.

5. Dura-Trave T, Yoldi-Petri ME. A long-term follow-up of 234 children with febrile seizures. Rev Neurol. 2004 Dec; 39(12): 1104-8.

6. Mustafic N, Tahirovic H, Trnovcevic J, Kapidzic A. Clinical characteristics at onset of first febrile convulsions. Acta Med Croatica. 2008 Dec; 62(5): 511-5.

7. Vestergaard M, Christensen J. Register-based studies on febril seizures in Denmark. Brain Dev. 2009 May; 31(5): 372-7.

8. O'donovan CA, Orr HT, Anderson VE. Gilnagela. Review febrile convulsions in children. Hum Mol Genet. 2000 Jul; 21(7): 617-21.

9. Kira R, Ishizaki Y, Torisu H, Sanefuji M, Takemoto M, Sakamoto K, et al. Genetic susceptibility to febrile seizures: case-control association studies. Brain Dev. 2010 Jan; 32(1): 57-63.

10. Siren A, Polvi A, Chahine L, Labuda M, Bourgoin S, Anttonen AK, et al. Suggestive evidence for a new locus for epilepsy with heterogeneous phenotypes on chromosome 17q. Epilepsy Res. 2010 Jan; 88(1): 65-75.

11. Gordon KE, Dooley JM, Wood EP, Bethune P. Is temperature regulation different in children susceptible to febrile seizures? Can J Neurol Sci. 2009 Mar; 36(2): 192-5.

12. Wang XH, Zhou SZ, Guo Q, Sun DK. Clinical analysis and screening for SCN1A gene mutation in two pedigrees of generalized epilepsies with febrile seizures plus. Zhonghua Er Ke Za Zhi. 2009 Aug; 47(8): 570-4.

13. Offringa M, Derksen-Lubsen G, Habbema JD. Two Cases with past and family history of febrile convulsion developed seizure-like movements during sevoflurane anesthesia. Anesthesiology. 2008; 109(3): 821-5.

14. Tsuboi T, Endo S. Genetic studies of febrile convulsions: analysis of twin and family data. Epilepsy Res Suppl. 1991; 4: 119-28.

15. Johnston EW, Dubovsky J, Richs S, Ahmannp Dokeen CG, Schinider DT, Weber JL. Evidence for a novel gene for familial febrile convulsions, FEB2, linked to chromosome 19p in an extended family from the midwest. Hum Mol Genet. 2002; 7: 63-7.

16. Vezzani A, Moneta D, Richichi C, Perego C, De Simoni MG. Functional role of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in seizures. Adv Exp Med Biol. 2004; 548: 123-33.

17. Tarlow JK, Alexandra IFB, Andrew L, Solari R, Howard N Hughes A, et al. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. Hum Genet. 1993 May; 91(4): 403-4.

18. Kanemoto K, Kawasaki J, Miyamoto T, Obayashi H, Nishimura M. Interleukin (IL)1beta, IL-1alpha, and IL-1 receptor antagonist gene polymorphisms in patients with temporal lobe epilepsy. Ann Neurol. 2000 May; 47(5): 571-4.

19. Steinkasserer A, Spurr NK, Cox S, Jeggo P, Sim RB. The human IL-1 receptor antagonist gene (IL1RN) maps to chromosome 2q14-q21, in the region of the IL-1 and IL-1 beta loci. Genomics. 1992; 13(5): 654-7.

20. Rafiq S, Stevens K, Hurst AJ, Murray A, Henley W, Weedon MN, et al. Common genetic variation in the gene encoding interleukin-1-receptor antagonist (IL-1RA) is associated with altered circulating IL-1RA levels. Genes Immun. 2000 Jul; 10(4): 315-9.

21. Coombs NJ, Gough AC, Primrose JN. Optimization of DNA and RNA extraction. Nucleic Acids Research. 2000 Aug; 27(16): e12.

22. Cantagrel A, Navaux Loubet-Lescoulie, Nourhashemi, F, Enault G, Abbal M, Constantin A, et al. Interleukin-1 beta, interleukin-1 receptorantagonist, interlukin-4 and interlukin-10 gene polymorphisms: relationship to occurrence and severity of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1999 Jun; 42(6): 1093-100.

23. Serdaroglu G, Alpman A, Tosun A, Pehlivan S, Ozkinay F, Tekgul H, et al. Febrile seizures: interleukin 1beta and interleukin-1 receptor antagonist polymorphisms. Pediatr Neurol. 2009 Feb; 40(2): 113-6.

24. Laina I, Syriopoulou VP, Daikos GL, Roma ES, Papageorgiou F, Kakourou T, et al. Febrile seizures and primary human herpesvirus 6 infection. Pediatr Neurol. 2010 Jan; 42(1): 28-31.

25. Lux AL. Treatment of febrile seizures: historical perspective, current opinions, and potential future directions. Brain Dev. 2010 Jan; 32(1): 42-50.

26. Reiner AP, Wurfel MM, Lange LA, Carlson CS, Nord AS, Carty CL, et al. Polymorphisms of the IL1-receptor antagonist gen e (IL1RN) are associated with multiple markers of systemic inflammation. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008; 28: 1407-12.

27. Rothwell NJ, Luheshi GN. Interleukin 1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target. Trends Neurosci. 2000; 23(8): 618-25

28. Tsai FJ, Hsieh YY, Chang CC, Lin CC, Tsai CH. Polymorphism for interkeukin a beta Exon 5 and interleukin 1 receptor antagonist in taiwanese children with febrile convulsion. Arch Pediatr Adolesc Med. 2002 Jun; 156(6): 529-30.

29. Ishizaki Y, Kira R, Fukuda M, Torisu H, Sakai Y, Sanefuji M, et al. Interleukin-10 is associated with resistance to febrile seizures: genetic association and experimental animal studies. Epilepsia. 2009 Apr; 50(4):761-7.