

FISSURAS LABIAIS E/OU PALATINAS NÃO SINDRÔMICAS

• *determinantes ambientais e genéticos* •

Andréa do Rego Borges^a

Lorena Mariano^b

Jamile Sá^c

Alena Peixoto Medrado^c

Patricia de Castro Veiga^d

Sílvia Regina de Almeida Reis^e

Resumo

As fissuras labiais e/ou palatinas não sindrômicas (FL/PNS) são anomalias congênicas resultantes de defeitos na fusão dos processos craniofaciais. Estas alterações apresentam incidência variada e são mais comuns na forma não sindrômica. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre as FL/PNS, enfatizando os aspectos genéticos. Na análise crítica dos artigos selecionados observou-se que vários genes e regiões cromossômicas têm sido associados às fendas orofaciais em estudos de associação de larga escala genômica (GWAS), como os genes *IRF6*, *ABCA4*, *MafB* e região 8q24. Trata-se de um distúrbio de desenvolvimento de origem multifatorial, envolvendo agentes ambientais e genéticos. Os autores também observaram uma forte interferência de fatores étnicos, particularmente em estudos do tipo caso-controle. Alguns polimorfismos foram identificados em estudos de GWAS replicados e associados às fissuras na população brasileira, como o polimorfismo rs987525, rs1530300 e rs560426. Quando a população é estratificada, como no Brasil, a composição étnica pode ter um forte efeito sobre a contribuição genética das FL/PNS. Recomenda-se o estudo da ascendência genética associado à investigação de polimorfismos genéticos sobre fissuras orofaciais.

Palavras-chave: Polimorfismo genético. Fissura labial. Lábio leporino. Fissura palatina.

-
- Programa de Pós-graduação em Estomatologia. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. dea_borges@hotmail.com
 - Acadêmica de Odontologia. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.
 - Programa de Pós-graduação em Estomatologia. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.
 - Docente do Curso de Graduação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.
Correspondência.
 - Programa de Pós-graduação em Estomatologia. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

NONSYNDROMIC CLEFT LIP AND/OR PALATE

• *environmental and genetic determinants* •

Abstract

The nonsyndromic cleft lip and/or palate (NSCL/P) is a birth anomaly resulting from fusion defects of craniofacial processes. These changes have varied incidence and are more common in nonsyndromic form. The aim of this paper is conduct a literature review about NSCL/P, emphasizing the genetic aspects. In the critical analysis of the selected articles was founded that several genes and chromosomal regions have been associated with orofacial clefts in Genome Wide Association Studies (GWAS), like the genes IRF6, ABCA4, MAFB and region 8q24. It is a developmental disorder of multifactorial origin, involving environmental and genetic agents. The authors also observed strong interference of ethnic factors, particularly in studies of the case-control type. Some polymorphisms were identified in replicated GWAS studies and associated with cleft in the Brazilian population, like the polymorphism rs987525, rs1530300 and rs560426. When the population is stratified, like in Brazil, the ethnic composition has probably a strong effect on the genetic association with NSCL/P. It is recommended the study of genetic ancestry into research's associating genetic polymorphisms on orofacial clefts.

Keywords: Genetic polymorphism. Cleft lip. Cleft palate.

INTRODUÇÃO

As fendas labiais (FL), labiopalatinas (FLP) e palatinas (FP) são anomalias craniofaciais de etiologia multifatorial, resultantes de defeitos na fusão dos processos craniofaciais.⁽¹⁾ A maioria dos indivíduos portadores destas anomalias apresenta a fissura labial e/ou palatina não síndrômica (FL/PNS), cuja fenda não está associada a outras malformações e a alterações comportamentais ou cognitivas. Na forma síndrômica, menos comum, as fissuras estão relacionadas a outras anomalias, a exemplo da síndrome de Van der Woude, caracterizada pela presença de FL/P e de fossetas labiais.⁽²⁾

A ocorrência das fissuras orofaciais é variada. Sua incidência é de aproximadamente um em cada 500-2.000 nascidos vivos, e varia de acordo com a localização geográfica, etnia e condição socioeconômica da população estudada.⁽³⁾ No Brasil foi observada uma média de 1,46 casos para cada mil nascimentos em um estudo que avaliou a incidên-

cia de fendas labiopalatinas em 15.039 nascimentos em Alfenas, Minas Gerais.⁽⁴⁾

Este trabalho objetivou revisar a literatura sobre as FL/PNS com ênfase nos fatores ambientais e genéticos associados à sua etiologia. O papel da influência étnica no desenvolvimento destas anomalias também foi pesquisado.

FISSURA LABIAL E/OU PALATINA NÃO SÍNDRÔMICA

As fissuras labiais e/ou palatinas não síndrômicas (FL/PNS) são os tipos mais comuns de anomalias craniofaciais. Essas alterações se desenvolvem em períodos distintos, já que a embriogênese do lábio e do palato não ocorrem simultaneamente. Entre a 4ª e a 7ª semana de gestação, os processos medial e lateral nasais fundem-se no processo maxilar

formando o palato primário, a parte central do lábio superior e o nariz. Já o palato duro e o palato mole formam-se entre a 8^a e a 12^a semana de vida intrauterina através da fusão das placas do palato secundário. Quando ocorrem falhas nos processos maxilares e/ou palatinos, o indivíduo é acometido por fissura labial e/ou palatina.⁽⁵⁾

As fendas orofaciais são divididas em quatro grupos e utiliza-se como base anatômica o forame incisivo. Elas são classificadas em fissuras pré-forame incisivo ou fissuras labiais (FL), fissuras pós-forame incisivo ou fissuras palatinas (FP), fissuras transforame incisivo ou fissuras labiopalatinas (FLP) e fissuras raras da face.⁽⁶⁾ Podem ser anomalias completas ou incompletas, encontradas uni e/ou bilateralmente (Figuras 1 a 3).



Figura 1. Fissura labial unilateral completa

Fonte: Hospital Santo Antônio das Obras Sociais Irmã Dulce, Salvador, Bahia.



Figura 2. Fissura palatina

Fonte: Hospital Santo Antônio das Obras Sociais Irmã Dulce, Salvador, Bahia.



Figura 3. Fissura labiopalatina bilateral

Fonte: Hospital Santo Antônio das Obras Sociais Irmã Dulce, Salvador, Bahia.

As fissuras palatinas isoladas parecem ter origem diferente das fendas labiais e labiopalatinas.^(7,8) Por isso, muitos estudos têm sido realizados neste grupo, separadamente, na tentativa de elucidar outros mecanismos biológicos e genéticos envolvidos.

As FL/PNS são mais frequentes no gênero masculino e corresponde na maioria dos casos à fissura labiopalatina. Entre as mulheres, há maior prevalência das fissuras palatinas isoladas.^(3,4,9) Quanto ao lado afetado, a região esquerda é a mais acometida.^(2,10,11)

Na população brasileira, um estudo durante um período de 20 anos, em Bauru-SP, demonstrou uma prevalência de 0,19 casos de fissuras orofaciais para cada mil nascidos vivos.⁽¹⁾ Já na pesquisa realizada em 2006, na região sul do estado de Minas Gerais, observou-se prevalência de 1,46 casos de FL/PNS para cada mil nativos.⁽⁴⁾ Rodrigues et al., (2009)¹² encontraram prevalência estimada de 0,36/1.000 casos em um período de cinco anos no Brasil, a partir de dados extraídos de todas as regiões brasileiras. Quanto à etnia, a prevalência das FL/PNS é mais comum nas populações asiáticas e ameríndias e menos frequente na população de origem africana.⁽²⁾

Os indivíduos acometidos pelas FL/PNS e suas famílias sofrem um grande impacto na qualidade de vida e bem-estar psicossocial, já que esta alteração pode trazer repercussões na fala, respiração, alimentação e nos problemas odontológicos, como hipodontias e alterações no posicionamento dos dentes. Além disso, o tratamento exige um acompanhamento multidisciplinar, o que acarreta altos custos financeiros.^(13,14)

O tratamento das FL/PNS é longo e envolve múltiplos procedimentos cirúrgicos. A primeira cirurgia labial deve ser feita em torno dos seis meses, já a do palato até os 18 meses, para evitar comprometimento da fala e infecções auditivas. O tratamento ortodôntico e ortopédico é indispensável para evitar fístulas, deficiência perinasal maxilar, dentes impactados, má oclusões, devendo ser feito durante a pré dentição, dentição mista e permanente. O enxerto ósseo alveolar é outra etapa importante, que permite a estabilidade maxilar, suporte nasal e estética. Além destas etapas, o paciente deve ter acompanhamento psicológico e fonoaudiológico.⁽¹³⁾

FATORES DE RISCO

Por ser uma doença de múltipla etiologia, diversos fatores de risco têm sido relacionados à presença de fendas orofaciais não sindrômicas (Quadro 1).

Conhecer esses fatores numa determinada população é essencial, pois serve de base para aconselhamento genético e o desenvolvimento de medidas de prevenção.⁽¹⁵⁾

Quadro 1. Distribuição dos fatores de risco das fissuras orofaciais não sindrômicas

FATORES DE RISCO	AUTORES
Tabagismo durante a gestação	Leite & Koifman (2009); ¹⁶ Lebby et al., (2010) ¹⁷
Fumo passivo pela gestante	Taghavi et al., (2012) ¹⁸
Álcool	Leite & Koifman (2009); ¹⁶ Romitti et al.,(2007) ¹⁹
Idade avançada dos pais	Bille (2005) ²⁰
Consaguinidade	Leite & Koifman (2009); ¹⁶ Ravichandran (2012) ²¹
Uso de corticóides e anticonvulsivantes	Leite et al., (2005); ²² Zarante et al., (2009) ²³
Suplementação com ácido fólico	Jonhson et al., (2008); ²⁴ Taghavi et al., (2012) ¹⁸
Exposição a pesticidas	Blanca et al., (2008) ²⁵
Ocorrência prévia de aborto	Blanca et al., (2008) ²⁵
Obesidade materna	Cedergren & Källén (2005); ²⁶ Stott-Miller et al., (2010) ²⁷
Hipertensão	Lebby et al. (2010) ¹⁷
Polimorfismos genéticos	Scapoli et al., (2008); ²⁸ Letra et al., (2010); ²⁹ Vieira et al., (2003); ³⁰ Carinci et al., (2007); ³¹ Paranaíba et al., (2010); ³² Moreno et al., (2009); ³³ Mangold et al., (2009) ³⁴

FATORES GENÉTICOS

Estudos atuais de ligação e de associação do genoma, que abrangem diversas populações, demonstram que inúmeros genes e *loci* gênicos situados em diferentes regiões cromossômicas e que participam das vias de sinalização associadas ao desenvolvimento do lábio e do palato podem estar relacionados à etiologia das FL/PNS.^(31,35) Muitas pesquisas envolvem o estudo de polimorfismos genéticos, que são definidos como mutações no DNA com frequência esperada na população geral de pelo menos 1%. Existem vários tipos de polimorfismos no genoma decorrentes de substituições, deleções, inserções ou duplicações na sequência de nucleotídeos. Os polimorfismos podem ou

não estar associados a uma determinada doença. O tipo mais comum de polimorfismo genético é o polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP), que são formas variantes na sequência de DNA. A hipótese de que a forma variante possa estar associada à função alterada de um gene em particular e, por consequência, exercer algum papel na etiologia das FL/P pode ser analisado por meio do estudo das frequências desses polimorfismos em indivíduos afetados e não afetados.⁽³⁶⁾

Mutações e polimorfismos em genes responsáveis por síndromes que contêm a FL/P como uma característica fenotípica também são fortes candidatos etiológicos para as fissuras não sindrômicas.⁽²⁸⁾

Dentre os genes associados às síndromes que já foram correlacionados às fissuras labiais e/ou palatinas não sindrômicas (FL/PNS) está o *IRF6*. Mutações neste gene foram relatadas em portadores da síndrome de van der Woude, caracterizada pela presença de FL/P.⁽³⁷⁾ Quanto às fissuras, em populações hispânicas, caucasianas e afroamericanas já foram encontradas correlações entre o polimorfismo rs2013162 do gene *IRF6* e a ocorrência de FL/PNS.⁽³⁸⁾ Na Noruega, o polimorfismo rs2235371 do gene *IRF6*, que resulta na substituição de uma valina por uma isoleucina na posição 274 da sequência de aminoácidos (V274I) da estrutura protéica de IRF6 foi associado às FL/PNS.⁽³⁹⁾ Já Mangold et al.,³⁴ não identificaram mutações relacionadas às fissuras no gene *IRF6*, na população da Europa central. O polimorfismo rs642961, do gene *IRF6* foi associado às fissuras labiais na população brasileira de cinco cidades, a saber Santarém, Fortaleza, Barbalha, Maceió e Rio de Janeiro. Entretanto em estudos com a população de fissurados do sul de Minas Gerais não foi observada associação com as FL/PNS.⁽³²⁾

Genes que são altamente expressos durante o desenvolvimento craniofacial também foram estudados em relação ao seu papel na etiologia das FL/PNS, incluindo o *TGF*⁽⁴⁰⁾, *TGF*₃⁽⁴¹⁾, *MSX1*^(42,43), *FOXE1*,⁽³³⁾ *JAG2*,^(8,44) *LHX8*, *MSX2*, *SKI* e *SPRY2*,⁽⁴⁵⁾ *PTCH*,⁽⁴⁶⁾ *PVR* e *PVRL2*,⁽⁴⁷⁾ *PVLR1*,⁽⁴¹⁾ *FGFs*,^(48,49) *RAR*⁽³¹⁾ e *BCL3*.⁽⁵⁰⁾

Genes relacionados ao metabolismo do ácido fólico foram identificados nestes defeitos, a exemplo dos polimorfismos rs1801133 e rs2274976 do gene *MTHFR*, rs2236225, rs1950902, rs10813 e rs17857382 do gene *MTHFD1*, rs1805087 e rs2229274 do gene *MTR*, e o polimorfismo rs1051266 do gene *SLC19A1*, observados na população brasileira de indivíduos fissurados.⁽⁵¹⁾ Entretanto, em um estudo caso controle, também na população brasileira não foi observada associação na ocorrência FL/PNS com os genes polimórficos *MTHFR*, *MTR* e *MTRR*.⁽⁵²⁾

Recentes estudos de larga escala genômica, com abrangência de diversas populações da Eu-

ropa e Ásia, revelaram novos polimorfismos genéticos como marcadores de suscetibilidade ao desenvolvimento de FL/PNS. Entre eles pode-se citar os polimorfismos situados nos *loci* 1p22.1 (rs560426),⁽⁵³⁾ 1q32 (rs2013162),^(7,42,54) 8q24 (rs987525 e rs1530300),^(53,55,56) 9q22 (rs1443434 e rs3758249),⁽³³⁾ 10q25.3 (rs7078160),^(57,61) 18q22 (rs17085106)⁽⁵⁵⁾ e 20q12 (rs13041247).⁽⁵⁸⁾ Esses estudos têm sido replicados em diversas populações, inclusive a brasileira.

Dentre os genes identificados nessas pesquisas estão o *MAFB* e o *ABCA4*. *ABCA4* codifica uma proteína transmembranar e mutações neste gene desempenham um papel importante na etiologia da doença de Stargardt e retinopatias. *MAFB* codifica um fator de transcrição que é expresso no palato de ratos e desempenha um papel no desenvolvimento do lábio e palato. Mutações nestes genes foram associadas à ocorrência de FLP/NS em asiáticos.⁽⁵⁸⁾ Já na população brasileira houve associação apenas do polimorfismo rs560426 do gene *ABCA4* e a ocorrência de fissura labial com ou sem fissura palatina.^(59,60)

O gene *FOXE1* também foi associado à ocorrência das FL/PNS. Segundo Moreno et al.,⁽³³⁾ este gene é expresso no epitélio envolvido na fusão entre os processos nasais medianos e maxilar. Estes autores realizaram um estudo genético nas populações da Colômbia, EUA e Filipinas e encontraram associação entre os polimorfismos rs3758249 e rs4460498 do gene *FOXE1* e a ocorrência de todos os fenótipos de FL/PNS. Já Marazita et al.,⁽⁷⁾ associaram o polimorfismo rs3758249 do gene *FOXE1* apenas com a ocorrência de fendas labiais com ou sem fissuras palatinas, sem correlação com a ocorrência das fendas palatinas isoladas. Essa associação foi encontrada em famílias de seis países: Filipinas, Colômbia, China, Índia, Turquia e EUA. Na população brasileira oriunda do sul de Minas Gerais este polimorfismo não foi associado às fendas.⁽⁵⁹⁾

Algumas áreas cromossômicas envolvidas na ocorrência de fissuras orofaciais pertencem a regiões intergênicas, como o locus 10q25.3 encontra-

do em indivíduos fissurados originários da Europa central.⁽⁶¹⁾ Na região 18q22, uma variante rara de polimorfismo, o rs17085106, foi identificado em descendentes europeus da região da Filadélfia, Estados Unidos.⁽⁵⁵⁾ O SNP rs7078160, do locus 10q25.3, e rs17085106, da região 18q22, foram pesquisados na população brasileira do sul de Minas Gerais e não foi observada associação com as FL/PNS.⁽⁵⁹⁾

Uma das regiões intergênicas que tem apresentado associação positiva com as FL/PNS em diferentes populações é a 8q24. Foi demonstrado que esta região está associada ao desenvolvimento de vários tipos de cânceres. Entretanto, a região relacionada ao câncer não tem a mesma localização daquela que está associada com FL/PNS.⁽⁶²⁾ O SNP rs987525 foi associado às FL/PNS em indivíduos oriundos da Europa Central,⁽⁵⁶⁾ Filadélfia, Estados Unidos, Polônia⁽⁵⁵⁾ e na população brasileira de fissurados oriundos do sul de Minas Gerais⁽⁵⁹⁾ e Santarém, Fortaleza, Barbalha, Maceió e Rio de Janeiro.⁽⁶³⁾ Entretanto, alguns estudos de replicação em populações da Nigéria⁽⁶⁴⁾ e China⁽⁶⁵⁾ não encontraram relação deste polimorfismo com as FL/PNS. O SNP rs1530300, localizado nesta mesma região, também já foi associado às FL/PNS em populações da Europa Central,⁽⁵⁶⁾ Filadélfia, Estados Unidos⁽⁵⁵⁾ e na população brasileira do sul de Minas Gerais.⁽⁵⁹⁾

ANCESTRALIDADE

Um dos grandes desafios das pesquisas envolvendo polimorfismos genéticos é a influência da ancestralidade, pois a depender da etnia um mesmo polimorfismo pode conferir risco em uma população e proteção em outra. Isso torna-se ainda mais relevante em populações heterogêneas, como a brasileira, que é fruto da mistura de diversas etnias, como ameríndia, africana e europeia.⁽⁶⁶⁾

Nos últimos anos, algumas estratégias foram criadas para a caracterização genômica da ancestralidade dos indivíduos. Foram desenvolvidos painéis informativos de ancestralidade, que são mar-

cadores autossômicos utilizados para estimar a ascendência do genoma de uma população ou indivíduo, e mostram diferenças nas frequências dos alelos entre populações distintas.^(67,68) Outro método para caracterização genômica da ancestralidade é a análise do DNA mitocondrial (mtDNA), a partir da sequência de regiões hipervariáveis (HV) do genoma mitocondrial.⁽⁶⁹⁾ Entretanto, os estudos demonstram que a sequência mitocondrial sozinha não determina a etnia, pois se refere exclusivamente à herança materna.⁽⁷⁰⁾ Isso não têm a mesma eficiência dos estudos que utilizam os painéis informativos de ancestralidade.

As pesquisas de caracterização da ancestralidade na população brasileira têm demonstrado resultados interessantes. Um estudo realizado em pelo menos uma cidade de cada região brasileira, demonstrou que independente da região do país, a contribuição europeia é a mais prevalente.⁽⁷¹⁾ Outros estudos em indivíduos oriundo do sul de Minas Gerais, Fortaleza, Maceió, Santarém, Barbalha, Rio de Janeiro e São Paulo também demonstraram predomínio europeu.^(59,63,69) Acredita-se que devido à imigração de seis milhões de europeus durante os séculos 19 e 20 ocorreu um fenômeno descrito como “branqueamento” do Brasil, mesmo em regiões com maior influência de outras etnias, como o nordeste e norte, que são conhecidos pela alta contribuição africana e ameríndia, respectivamente.⁽⁷²⁾

Algumas doenças associadas aos fatores genéticos sofrem influência da etnia, a exemplo das fissuras labiais e/ou palatinas não sindrômicas. Essas anomalias apresentam maior prevalência em indivíduos de ancestralidade asiática e europeia e uma frequência menor em populações africanas. A influência da etnia pode ser observada nos estudos do polimorfismo rs987525, na região cromossômica 8q24. A presença do alelo C neste polimorfismo foi significativamente correlacionada com um risco para desenvolvimento de fissuras em indivíduos de origem europeia, incluindo Alemanha, Estônia, Lituânia e Polônia e descendentes de europeus oriundos dos Estados Unidos.^(53,55,56,57,58) Já indivíduos de ascendência asiática ou africana não demonstram risco aumentado na presença do alelo de risco

C.^(58,64,65,73) Entretanto, essas associações são baseadas nas características físicas dos indivíduos. A ancestralidade genômica não foi pesquisada nesses estudos.

A partir de 2012, algumas pesquisas sobre as FL/PNS, já contemplam o estudo da ancestralidade genômica, pois a associação de polimorfismos com as fissuras é insuficiente no esclarecimento da etiologia destas anomalias.^(59,63,74)

Brito et al.,⁽⁶³⁾ estudaram o polimorfismo rs987525, na região cromossômica 8q24 na população de fissurados oriunda do sul de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Fortaleza, Maceió e Barbalha. Verificaram que o alelo A desse polimorfismo demonstrou risco para as fissuras labiais e labiopalatinas. Além disso, os autores investigaram a influência da ancestralidade nesta associação através da estratificação das amostras de fissurados em dois grupos, um europeu com 361 pacientes com mais de 50% de ascendência europeia e outro composto por não europeu com 110 pacientes com menos de 50% de ascendência europeia. Observaram associação mais forte do polimorfismo rs987525 com as FL e FL/P no grupo europeu do que no não europeu.

Já Bagordarkis et al.,⁽⁵⁹⁾ não encontraram associações entre os marcadores polimórficos de susceptibilidade 1q32 (rs2013162), 9q21 (rs1443434 e rs3758249), 10q25.3 (rs7078160), 18q22 (rs17085106) e 20q12 (rs13041247) e a ocorrência de FL/PNS na população brasileira oriunda do sul de Minas Gerais. Os autores acreditam que estes polimorfismos não desempenham papel importante na etiologia das FL/PNS em grupos altamente miscigenados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As FL/PNS tem origem multifatorial, com envolvimento de fatores ambientais e genéticos além da forte interferência de fatores étnicos. Em amostras de indivíduos fissurados e homogêneas do ponto de vista étnico, muitos marcadores polimórfi-

cos associados à ocorrência de FL/PNS, não desempenham papel importante na etiologia destas anomalias em populações miscigenadas. Faz-se portanto necessário, o estudo da ancestralidade genômica nas pesquisas que associam polimorfismos genéticos às fissuras labiais e/ou palatinas não sindrômicas.

REFERÊNCIAS

- Loffredo LCM, Souza JMP, Freitas FAS, Mossey PA. Oral clefts and vitamin supplementation. *Cleft Palate Craniofac J*. 2001; 38(1):76-8
- Gorlin R, Cohen M, Hennekam R. *Syndromes of the head and neck*. 4th ed. New York: Oxford University Press: 2001.
- Genisca AE, Frías JL, Broussard CS, Honein MA, Lammer EJ, Moore CA et al. Orofacial Clefts in the National Birth Defects Prevention Study, 1997-2004. *Am J Med Genet A*. 2009; 149A(6): 1149-1158.
- Martelli-Júnior H, Orsi Júnior J, Chaves MR, et al. Estudo epidemiológico das fissuras labiais e palatais em Alfenas - Minas Gerais - de 1986 a 1998. *RPG*. 2006; 13: 31-5.
- Pegelow M, Peyrard-Janvid M, Zucchelli M, Fransson I, Larson O, Kere J et al. Familial non-syndromic cleft lip and palate: analysis of the IRF6 gene and clinical phenotypes. *Eur J Orthod*. 2008; 30(2):169-75.
- Spina V, Psillakis JM, Lapa FS, Ferreira MC. Classification of cleft lip and cleft palate. Suggested changes. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo*. 1972;27(1):5-6
- Marazita ML, Lidral AC, Murray JC, et al. Genome scan, fine-mapping, and candidate gene analysis of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate reveals phenotype-specific differences in linkage and association results. *Hum Hered*. 2009; 68(3): 151-70.
- Jagomagi T, Nikopensius T, Krjutskov K, Tammekivi V, Viltrop T, Saag M, Metspalu A. MTHFR and MSX1 contribute to the risk of nonsyndromic cleft lip/palate. *Eur J Oral Sci*. 2010;118(3): 213-220.
- Nagase Y, Natsume N, Kato T, Hayakawa T. Epidemiological Analysis of Cleft Lip and/or Palate by Cleft Pattern. *J. Maxillofac. Oral Surg*. 2010;9(4):389-395.

- Freitas JA, Dalben GS, Santamaria M, Júnior Freitas PZ. Current data on the characterization of oral clefts in Brazil. *Braz Oral Res.* 2004;18(2):128-33.
- Martelli-Junior H, Porto LV, Martelli DR, Bonan PR, Freitas AB, Della Coletta R. Prevalence of nonsyndromic oral clefts in a reference hospital in the state of Minas Gerais, Brazil, between 2000-2005. *Braz Oral Res.* 2007;21(4):314-7.
- Rodrigues K, Sena MF, Roncalli AG, Ferreira MA. Prevalence of orofacial clefts and social factors in Brazil. *Braz Oral Res.* 2009;23(1):38-42.
- Guerrero CA. Cleft lip and palate surgery: 30 years follow-up. *Ann Maxillofac. Surg.* 2012;2(2): 153-157.
- Jugessur A, Farlie PG, Kilpatrick N. The genetics of isolated orofacial clefts: from genotypes to subphenotypes. *Oral Dis.* 2009;15(7):437-53.
- Kohli SS, Kohli VS. A comprehensive review of the genetic basis of cleft lip and palate. *J Oral Maxillofac. Pathol.* 2012;16(1):64-72.
- Leite ICG, Koifman S. Oral clefts, consanguinity, parental tobacco and alcohol use: a case-control study in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz Oral Res.* 2009;23(1):31-7.
- Lebby KD, Tan F, Brown CP. Maternal Factors and Disparities Associated with Oral Clefts. *Ethn Dis.* 2010;20(1):146-9.
- Taghavi N, Mollaian M, Alizadeh P, Moshref M, Modabernia S, Akbarzade AR. Orofacial Clefts and Risk Factors in Tehran, Iran: A Case Control Study. *Iran Red Crescent Med J* 2012; 14(1):25-30.
- Romitti PA, Sun L, Honein MA, Reefhuis J, Correa A, Rasmussen SA. Maternal periconceptional alcohol consumption and risk of orofacial clefts. *Am J Epidemiol.* 2007; 166(7):775-85.
- Bille C, Skytthe A, Vach W, Knudsen LB, Andersen AN, Murray JC et al. Parent's Age and the Risk of Oral Clefts. *Epidemiology.* 2005;16(3):311-316.
- Ravichandran K, Shoukri M, Aljohar A, Shazia NS, Al-Twajiri Y, Al Jarba I. Consanguinity and occurrence of cleft lip/palate: a hospital-based registry study in Riyadh. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(3):541-6.
- Leite IC, Paumgartten FJR, Koifman S. Fendas orofaciais no recém-nascido e o uso de medicamentos e condições de saúde materna: estudo caso controle na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.* 2005; 5(1):35-43.
- Zarante I, Lopez MA, Caro A, Garcia-Reyes JC, Ospina JC. Impact and risk factor of craniofacial malformations in a colombian population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2009; 73(10):1434-7.
- Johnson CY, Little J. Folate intake, markers of folate status and oral clefts: is the evidence converging? *International Journal of Epidemiology.* 2008;37(5):1041-1058.
- Blanca SG, Lopez ML, Rico MA, Garduno F. Oral clefts: a retrospective study of prevalence and predisposal factors in the state of Mexico. *Journal of Oral Science.* 2008;50(2):123-129.
- Cedergren M, Källén B. Maternal obesity and the risk for orofacial clefts in the offspring. *Cleft Palate Craniofac J.* 2005;42(4):367-71.
- Stott-Miller M, Heike CL, Kratz M, Starr JR. Increased risk of orofacial clefts associated with maternal obesity: case-control study and Monte Carlo-based bias analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2010; 24(5):502-12.
- Scapoli L, Martinelli M, Arlotti M, Palmieri A, Masiero E, Pezzetti F et al. Genes causing clefting syndromes as candidates for non-syndromic cleft lip with or without cleft palate: a family-based association study. *Eur J Oral Sci.* 2008;116(6):507-11.
- Letra A, Menezes R, Fonseca RF, Govil M, McHenry T, Murphy MJ et al. Novel cleft susceptibility genes in chromosome 6q. *J Dent Res.* 2010;89(9):927-32.
- Vieira AR, Orioli IM, Castilla EE, Cooper ME, Marazita ML, Murray JC. MSX1 and TGFB3 contribute to clefting in South America. *J Dent Res.* 2003;82(4):289-92.
- Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzetti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: an update. *Int J Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2007;71(10):1509-19.
- Paranaíba LM, Bufalino A, Martelli-Júnior H et al. Lack of association between IRF6 polymorphisms (rs2235371 and rs642961) and non-syndromic cleft lip and/or palate in a Brazilian population. *Oral Dis.* 2010;16(2):193-7.
- Moreno LM, Mansilla MA, Bullard SA, Cooper ME, Busch TD, Machida J. FOXE1 association with both isolated cleft lip with or without cleft palate, and isolated cleft palate. *Human Molecular Genetics.* 2009;18(24).

Mangold E, Reutter H, Birnbaum S et al. Genome-wide linkage scan of nonsyndromic orofacial clefting in 91 families of central European origin. *Am J Med Genet A*. 2009;149A(12):2680-94.

Marazita ML, Mooney MP. Current concepts in the embryology and genetics of cleft lip and palate. *Clin Plastic Surg*. 2004;31(2):125-40.

Prescott NJ, Lees MM, Winter RM, Malcolm S. Identification of susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in a two stage genome scan of affected sib-pairs. *Hum Genet*. 2000;106(3):345-350.

Kondo S, Schutte BC, Richardson RJ, Bjork BC, Knight AS et al. Mutation in *IRF6* cause van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nat Genet*. 2002;32(2):285-289.

Blanton SH, Cortez A, Stal S, Mulliken JB, Finnell RH, Hecht JT. Variation in *IRF6* contributes to nonsyndromic cleft lip and palate. *Am J Med. Genet A*. 2005;137A(3):259-262.

Jugessur A, Rahimov F, Lie RT et al. Genetic variants in *IRF6* and the risk of facial clefts: single-marker and haplotype-based analyses in a population-based case-control study of facial clefts in Norway. *Genet Epidemiol*. 2008;32(5):413-24.

Sull JW, Liang K, Hetmanski JB. et al. Evidence that *TGFA* influences risk to cleft lip with/without cleft palate through unconventional genetic mechanisms *Hum Genet*. 2009;126(3): 385-394.

Saleem S, Rajendran R, Moinak B, Anna J, Pramod BJ. Evidence for transforming growth factor-beta 3 gene polymorphism in non-syndromic cleft lip and palate patients from Indian sub-continent. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;17(2):197-200.

Park J, Park BY, Kim H, Lee JE, Suh I, Nam CM et al. *MSX1* polymorphism associated with risk of oral cleft in Korea: Evidence from case-parent trio and case-control studies. *Yonsei Medical Journal*. 2007;48(1):101-108.

Ingersoll RG, Hetmanski J, Park J, Fallin MD, McIntosh I, Wu-Chou Y et al. Association between genes on chromosome 4p16 and non-syndromic oral clefts in four populations. *European Journal of Human Genetics*. 2010;18(6):726-732.

LM, Aquino SN, Bufalino A, Martelli-Júnior H, Graner E, Brito LA et al. Contribution of polymorphisms in genes associated with craniofacial development to

the risk of nonsyndromic cleft lip and/or palate in the Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18(3):414-20.

Avila JR, Jezewski PA, Vieira AR, Orioli IM, Castilla EE, Christensen K et al. *PVRL1* variants contribute to non-syndromic cleft lip and palate in multiple populations. *Am J Med Genet*. 2006;140(23):2562-70.

Mansilla MA, Cooper ME, Goldstein T, Castilla EE, Lopez Camelo JS, Marazita ML, Murray JC. Contributions of *PTCH* gene variants to isolated cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J*. 2006;43(1):21-9.

Warrington A, Vieira AR, Christensen K, Orioli IM, Castilla EE, Romitti PA et al. Genetic evidence for the role of loci at 19q13 in cleft lip and palate. *J med Genet*. 2006;43(6):1-6.

Riley BM, Murray JC. Sequence evaluation of *FGF* and *FGFR* gene conserved non-coding elements in non-syndromic cleft lip and palate cases. *Am J Med Genet A*. 2007;143A(24):3228-34.

Aquino SN, Messetti AC, Bagordakis E, Martelli-Júnior H, Swerts MSO, Graner E et al. Polymorphisms in *FGF12*, *VCL*, *CX43* and *VAX1* in Brazilian patients with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *BMC Medical Genetics*. 2013;14:53.

Gaspar DA, Matioli SR, Pavanello RC et al. Maternal *MTHFR* interacts with the offspring's *BCL3* genotypes, but not with *TGFA*, in increasing risk to nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *European Journal of Human Genetics*. 2004;12: 521-526.

Bufalino A, Ribeiro Paranaíba LM, Nascimento de Aquino S, et al. Maternal polymorphisms in folic acid metabolic genes are associated with nonsyndromic cleft lip and/or palate in the Brazilian population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010; 88(11):980-6.

Brandalize AP, Bandinelli E, Borba JB et al. Polymorphisms in genes *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2007; 40(6):787-791.

Mostowska A, Hozyasz KK, Wojcicki P, Biedziak B, Paradowska P, Jagodzinski PP. Association between genetic variants of reported candidate genes or regions and risk of cleft lip with or without cleft palate in the polish population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010; 88(7):538-45.

- Wang Y, Li X, Zhu WL, Guo JZ, Song XM, Li SQ, Li Y. Genome-wide and interaction linkage scan for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in two multiplex families in Shenyang, China. *Biomed Environ Sci.* 2010;23(5):363-70.
- Grant SF, Wang K, Zhang H et al. Genome-wide association study identifies a locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on 8q24. *J Pediatr.* 2009;155(6):909-13.
- Birnbaum S, Ludwig KU, Reutter H et al. Key susceptibility locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on chromosome 8q24. *Nat Genet.* 2009;41(4):473-7.
- Nikopensius T, Ambrozaityte L, Ludwig KU et al. Replication of novel susceptibility locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on chromosome 8q24 in Estonian and Lithuanian patients. *Am J Med Genet.* 2009;149A(11):2551-2553.
- Beaty TH, Murray JC, Marazita ML et al. A genome-wide association study of cleft lip with and without cleft palate identifies risk variants near MAFB and ABCA4. *Nat Genet.* 2010;42(6): 525-9.
- Bagordakis E, Paranaíba LM, Brito LA, Aquino SA, Masetti AC, Martelli-Junior H et al. Polymorphisms at Regions 1p22.1 (rs560426) and 8q24 (rs1530300) Are Risk Markers for Nonsyndromic Cleft Lip and/or Palate in the Brazilian Population. *Am J Med Genet.* 2013; Part A 161A:1177-1180.
- Fontoura C, Silva RM, Granjeiro JM, Letra A. Further evidence of association of the ABCA4 gene with cleft lip/palate. *Eur J Oral Sci.* 2012;120(6): 553-557.
- Mangold E, Ludwig KU, Birnbaum S et al. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Nat Genet.* 2010. 42(1): 24-6.
- Ghousaini M, Song H, Koessler T, Al Olama AA, Kote-Jarai Z, Driver KE et al. Multiple loci with different cancer specificities within the 8q24 gene desert. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(13):962-6.
- Brito LA, Paranaíba LM, Bassi CF, Masotti C, Malcher C, Schlesinger D, Rocha KM et al. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2012;94(6):464-8.
- Butali A, Mossey PA, Adeyemo WL, Jezewski PA, Onwuamah CK, Ogunlewe MO et al. Genetic studies in the nigerian population implicate an MSX1 mutation in complex oral facial clefting disorders. *Cleft Palate Craniofac J.* 201;48(6):646-53.
- Xu MY, Deng XL, Tata LJ, Han H, Chen XH, Liu TY, Chen QS et al. Case-Control and Family-Based Association Studies of Novel Susceptibility Locus 8q24 in Nonsyndromic Cleft Lip with or Without Cleft Palate in a Southern Han Chinese Population Located in Guangdong Province. *DNA Cell Biol.* 2011;31(5):700-5.
- Salzano FM, Bortolini MC. The Evolution and Genetics of Latin American Populations. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2002.
- Bastos-Rodrigues L, Pimenta JR, Pena SD. The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. *Ann Hum Genet.* 2006;70(5):658-65.
- Santos NP, Ribeiro-Rodrigues EM, Ribeiro-Dos-Santos AKC, Pereira R, Gusmão L, Amorim A et al. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. *Hum Mutat.* 2010; 31(2):184-90.
- Cardena MM, Ribeiro-Dos-Santos A, Santos S, Mansur AJ, Pereira AC, Fridman C. Assessment of the relationship between self-declared ethnicity, mitochondrial haplogroups and genomic ancestry in Brazilian individuals. 2013;8(4):e62005.
- Lee C, Mandoiu II, Nelson CE. Inferring ethnicity from mitochondrial DNA sequence. *BMC Proc.* 2011;5(2):1-9.
- Pena SD, Di Pietro G, Fuchshuber-Moraes M, Genro JP, Hutz MH, Kehdy F de S et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One.* 2011;6(2):e17063.
- Leite FP, Callegari-Jacques SM, Carvalho BA, Kommers T, Matte CH, Raimann PE et al. Y-STR analysis in Brazilian and South Amerindian populations. *Am J Hum Biol.* 2008;20(3):359-63.
- Weatherley-White RC, Ben ST, Jin Y, Riccardi S, Arnold TD, Spritz RA. Analysis of genomewide association signals for nonsyndromic cleft lip/palate in a Kenya African cohort. *Am J Med Genet Part A.* 2011; 155A(10):2422-2425.
- Filézio MR, Bagordakis E, Aquino SN, Masetti ACP, Martelli-Júnior H, Swerts MS et al. Polymorphisms in GABRB3 and oral clefting in the Brazilian population. *DNA Cell Biol.* 2013;32(3):125-9.