

ANDRÉIA REGINA BOFF LEMOS

FATORES GENÉTICOS E AMBIENTAIS ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO
DAS FENDAS PALATINAS/LÁBIO LEPORINO EM PACIENTES NÃO-SINDRÓMICOS

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade de Ciências da Saúde

PORTO

2019

ANDRÉIA REGINA BOFF LEMOS

FATORES GENÉTICOS E AMBIENTAIS ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO
DAS FENDAS PALATINAS/LÁBIO LEPORINO EM PACIENTES NÃO-SINDRÓMICOS

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade de Ciências da Saúde

PORTO

2019

ANDRÉIA REGINA BOFF LEMOS

FATORES GENÉTICOS E AMBIENTAIS ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO
DAS FENDAS PALATINAS/LÁBIO LEPORINO EM PACIENTES NÃO-SINDRÓMICOS

Orientadora: Professora Doutora Inês Lopes Cardoso

Co-Orientadora: Professora Doutora Fernanda Leal

Assinatura do Aluno

Trabalho apresentado à
Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em
Medicina Dentária.

RESUMO

As fendas labiopalatinas são as malformações congênitas mais comuns ao nascimento. Resultam da falha no processo normal de desenvolvimento craniofacial, que requer a coordenação de uma série complexa de eventos. Do ponto de vista embriológico, a fenda labialpalatina é consequência da falha do primeiro arco branquial superior em completar a fusão com o processo frontonasal durante a gestação. Pensa-se que estes defeitos congênitos resultam da interação complexa de múltiplos genes e fatores ambientais. Clinicamente, as fendas orofaciais são classificadas como síndromicas e não-síndromicas. Na forma síndromica, apresentam-se associadas a outros fenótipos, como por exemplo as cardiopatias. Por outro lado, as formas não-síndromicas não apresentam outros sintomas associados.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre as fendas labiopalatinas em pacientes não-síndromicos, destacando os aspetos genéticos e ambientais. Na análise crítica dos artigos observou-se que as fendas labiopalatinas têm origem que favorece o modelo multifatorial e inúmeras investigações futuras são necessárias.

Palavras-chave: Fenda Labial, Fenda Palatina, Não-Síndromica, Predisposição Genética, Meio Ambiente.

ABSTRACT

Cleft lip and palate are the most common congenital malformations at birth. They result from a failure in the normal craniofacial development process, which requires the coordination of a complex series of events. From the embryological point of view, the cleft lip and palate is a consequence of the failure of the first superior branchial arch to complete fusion with the frontonasal process during pregnancy. These birth defects are believed to result from the complex interaction of multiple genes and environmental factors. Clinically, orofacial clefts are classified as syndromic and non-syndromic. In syndromic forms, they are associated with other phenotypes, such as heart disease. On the other hand, non-syndromic forms have no other related symptoms.

The purpose of this study was to review the literature on cleft lip and palate in non-syndromic patients, highlighting the genetic and environmental aspects. In the critical analysis of the articles, it was observed that the cleft lip and palate has origins that favor the multifactorial model and numerous future investigations are needed.

Keywords: Cleft Lip, Cleft Palate, Non-syndromic, Genetic Predisposition, Environment.

DEDICATÓRIA

Dedico esse final de mais uma trajetória, ao meu eterno companheiro, meu esposo, Gustavo, pois sem ele nada disso seria possível. Obrigada por sempre me apoiar, incentivar e ajudar.

Dedico aos meus filhos, Isadora e Nicolas, que me acompanharam nessa jornada. Apoiando-me, ajudando e compreendendo muitas vezes minha ausência, e aceitando o desafio de mudar de país. Vocês três são os motivos de todas as minhas batalhas e enfrentamentos. Amo vocês.

Agradeço eternamente a Deus pela proteção, força nos momentos mais difíceis, acalento quando foi preciso, e por ter colocado em minha trajetória pessoas que foram instrumentos do Seu amor por mim.

Agradeço à minha família no Brasil, por me dar todo o apoio e amor necessários. Em especial aos meus Pais, irmãos e sobrinhos, que sempre se fizeram presentes mesmo estando a milhares de quilômetros de distância. Amo vocês.

Aos amigos do Brasil que sempre de uma forma ou outra se fazem presentes e torcem por mim. Muito obrigada.

Em especial aos amigos que fiz aqui, Toni e Rafaela, que desde o primeiro contato se fizeram instrumento de Deus, sempre me ajudando, compreendendo, amparando e demonstrando que nunca estamos sozinhos. Ganhei irmãos dos quais tenho muito orgulho, estaremos sempre juntos nesta batalha da vida.

Agradeço à todos os colegas que passaram por mim pelo curso, ora incentivando, ora dividindo conhecimentos, angústias, alegrias. Muito obrigada.

Finalizo os agradecimentos a este País, Portugal, que recebeu a mim e a minha família de braços abertos.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof. Doutora Inês Lopes Cardoso, e a Prof. Fernanda Leal por todo o conhecimento adquirido e por toda a sua generosidade, atenção, carinho e disponibilidade para ajudar-me a construir cada linha desse trabalho. Obrigada pelo apoio e pela confiança.

Agradeço muitíssimo a todos os funcionários e professores da Universidade Fernando Pessoa que, de forma direta ou indireta, sempre muito atenciosos, me agregaram conhecimento para a construção desse projeto e enfim poder atuar como médica dentista nesse país que tem me acolhido com muito afeto e generosidade.

INDICE

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
DEDICATÓRIA.....	vii
AGRADECIMENTOS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
I. INTRODUÇÃO.....	1
I.1. Materiais e Métodos.....	2
II. DESENVOLVIMENTO.....	4
II.1. Classificação das Fendas Orofaciais Não-Sindrômicas.....	4
II.2. Aspetos Embriológicos das Fendas Palatinas/Lábio Leporino.....	4
II.3. Epidemiologia e Etiologia das Fendas Palatinas/Lábio Leporino.....	5
II.4. Fatores Genéticos.....	6
II.5. Fatores Ambientais.....	9
II.6. Prevenção.....	12
II.7. Tratamento.....	12
III. DISCUSSÃO.....	15
IV. CONCLUSÃO.....	16
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

LISTA DE ABREVIATURAS

FL/P Fenda labial e/ou fenda palatina = fenda labial + fenda labial e palatina + fenda palatina (sem exclusões).

FLP Fenda labial com ou sem fenda palatina = fenda labial + fenda labial e palatina (exclui fenda palatina).

FOF Fenda orofacial

FOT Fendas Orofaciais Típicas

FP Fenda Palatina

FP/LL Fenda palatina/Lábio Leporino

IRF6 Fator Regulador do Interferão 6 (do inglês *Interferon Regulatory Factor 6*).

MTHFR Metilenotetraidrofolato redutase

SNP Polimorfismo de um único nucleótido (do inglês *single nucleotide polymorphism*).

I. INTRODUÇÃO

As fendas orofaciais (FOF) são as malformações congénitas mais comuns ao nascimento (Farronato *et al.*, 2014). As fendas palatinas/lábio leporino (FP/LL) são defeitos caracterizados pelo encerramento incompleto do lábio superior com fenda alveolar e/ou encerramento incompleto do palato duro (Borges *et al.*, 2014; Leslie e Marazita 2013; Jiang *et al.*, 2006). As fendas da linha média do lábio superior ou do lábio inferior, fendas raras e fendas faciais oblíquas não fazem parte do conjunto das fendas labiais palatinas (FLP) (Dixon *et al.*, 2011).

A incidência média mundial de qualquer tipo de malformação orofacial é de 1 a cada 1000 nascimentos, sendo as FP/LL as malformações predominantes (Garg *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2010). Nas formas sindrómicas as FP/LL apresentam-se associadas a outros fenótipos, como por exemplo as cardiopatias e o atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, enquanto que nas formas não-sindrómicas não há outros sintomas associados (Mossey e Little, 2002).

Em 70% dos indivíduos afetados, as FP/LL apresentam-se na forma não-sindrómica, que se caracteriza pela fragmentação incompleta entre as cavidades oral e nasal sem outras anomalias associadas. Na maior parte dos casos, as FP/LL não-sindrómicas são consideradas entidades clínicas diferentes das fendas onde apenas o palato é afetado, pois a formação do palato primário e da parte central do lábio superior e nariz (4^a a 7^a semanas) ocorre antes da formação do palato (entre as 8^a e 12^a semanas) ao longo do desenvolvimento embrionário (Lewis *et al.*, 2017; Deshpande e Goudy 2018).

Quanto à etnia, a prevalência das FP/LL, são mais comuns nas populações asiáticas e ameríndias e menos frequentes nas populações de origem africana (Mossey *et al.*, 2009). Segundo Zhang *et al.* (2018), na China, o tipo isolado de fenda orofacial é o segundo defeito mais comum presente ao nascimento, o que torna os asiáticos como sendo a população com maior incidência no mundo (Zhang *et al.*, 2018).

As FP/LL resultam de herança multifatorial, incluindo fatores genéticos e ambientais (Souza *et al.*, 2012; Garg *et al.*, 2014). Dados epidemiológicos e experimentais sugerem que fatores de risco ambiental, como má nutrição, utilização de medicamentos, como a fenitoína,

tabagismo e consumo de álcool durante a gravidez, podem ser determinantes no desenvolvimento das FP/LL (Dixon *et al.*, 2011; Sabbagh *et al.*, 2015; Correa *et al.*, 2008; Montes *et al.*, 2019).

Embora tenha havido um acentuado progresso na identificação das causas genéticas e ambientais para as FP/LL sindrômicas, a etiologia das formas não-sindrômicas (isoladas) mais comuns permanece ainda pouco caracterizada (Dixon *et al.*, 2011).

A heterogeneidade das FP/LL propicia implicações importantes para a compreensão da biologia e do desenvolvimento facial. Diversas questões sobre o modo como os riscos ambientais interagem com os fatores genéticos, e como será possível usar tais variáveis etiológicas no melhoramento do atendimento clínico dos pacientes afetados pelas FP/LL não-sindrômicas (Jiang *et al.*, 2006).

Recentemente, aplicando uma combinação do entendimento da epidemiologia, de cuidadosos estudos dos fenótipos, de pesquisas de associação em todo o genoma, e da análise de modelos animais, vários fatores de risco genéticos e ambientais foram identificados para as FP/LL não-sindrômicas. Estas descobertas permitiram alargar a compreensão da biologia do desenvolvimento e criaram novas oportunidades para a pesquisa clínica (Zhang *et al.*, 2018).

Diante da estreita relação entre fatores ambientais e genéticos no aparecimento das FP/LL, foi objetivo desta revisão de literatura narrar de forma detalhada, como tais fatores podem levar ao desenvolvimento das FP/LL em pacientes não-sindrômicos. É de suma importância que constantes pesquisas continuem a serem realizadas, de maneira a evidenciar características e estilos de vida, como anteriormente citados, que promovam este tipo de malformação tão comum e que acarreta diversos inconvenientes aos pacientes. Deste modo, a partir de novos resultados, será possível promover melhorias no diagnóstico dessas inter-relações com o objetivo de implementar planos de tratamento eficazes e seguros.

I.1. Materiais e Métodos

Esta revisão bibliográfica teve como fonte a base de dados PubMed. Foram utilizadas as palavras-chaves: “Cleft Lip”, “Cleft Palate”, “Non-syndromic”, “Genetic” e “Environment”. Foram incluídos artigos realizados em humanos, na língua inglesa e portuguesa, entre os anos

2000 e 2019 e que apresentavam versões integrais. Também foram citados artigos anteriores aos anos 2000, por serem referência, e apresentarem conceitos importantes a respeito do tema abordado. Após a leitura dos artigos, foram selecionados os de maior importância, em função do tema escolhido, que serão discutidos nesta revisão de literatura.

II. DESENVOLVIMENTO

II.1. Classificação das Fendas Orofaciais Não-Sindrômicas

As fendas orofaciais não-sindrômicas são um grupo heterogêneo de distúrbios que afetam a estrutura da face e da cavidade oral. São divididas em três categorias gerais: aquelas que afetam apenas o lábio (FL); aquelas que afetam o lábio e o palato (FLP) e as que afetam apenas o palato (FP). Podem ser anomalias completas ou incompletas, encontradas uni e/ou bilateralmente (Marazita 2012; Leslie e Marazita 2013; Jiang *et al.*, 2006).

A classificação das fendas orofaciais mais utilizada na atualidade é a classificação de Spina *et al.* (1972), que classifica as fissuras da seguinte forma: Fissuras pré-forame incisivo, que são as fissuras labiais unilaterais, bilaterais e medianas; Fissuras transforame incisivo, que são as de maior gravidade, unilaterais ou bilaterais, atingindo lábio, arcada alveolar e todo palato; e as Fissuras pós-forame incisivo que são as fissuras palatinas, em geral medianas, que podem situar-se apenas na úvula, ou nas demais partes do palato duro e mole (Spina *et al.*, 1972).

II.2. Aspectos Embriológicos das Fendas Palatinas/Lábio Leporino

As fendas palatinas/lábio leporino (FP/LL) não-sindrômicas, são condições causadas pela combinação de fatores genéticos e fatores ambientais. O desenvolvimento adequado da face requer coordenação de uma série complexa de eventos e inclui crescimento celular, migração, diferenciação e apoptose (Leslie e Marazita, 2013).

As fendas podem surgir devido a falhas em qualquer uma das várias etapas do desenvolvimento embrionário. Segundo Jiang *et al.* (2006), para compreender a etiologia e elucidar as causas das FP/LL, é necessário entender os complexos processos de desenvolvimento que levam à formação do lábio superior, tanto a nível morfogenético como molecular (Jiang *et al.*, 2016).

O desenvolvimento da face começa na 4^a semana de gestação, quando as células da crista neural migram para formar os cinco primórdios faciais: a proeminência frontonasal, os processos mandibulares emparelhados e os processos maxilares emparelhados. Estas

alterações ocorrem em períodos distintos, uma vez que a embriogénese do lábio e do palato não ocorrem simultaneamente (Jiang et al., 2006). Entre a 4^a e a 7^a 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. Entre a 8^a e a 12^a semana de vida intrauterina, pela fusão das placas do palato secundário, formam-se o palato duro e o palato mole. Quando ocorrem falhas nos processos maxilares e/ou palatinos, o indivíduo é afetado por fissura labial e/ou palatina (Brito *et al.*, 2014).

Historicamente, FL e FL/P têm sido consideradas variantes do mesmo defeito diferindo apenas na gravidade (Marazita, 2012). Embora os palatos primário e secundário tenham origens de desenvolvimento distintas, FL e FL/P compartilham um defeito do palato primário, o que levou à inclusão de FL e FL/P num mesmo grupo - fenda labial com ou sem fenda palatina (FL/P) (Fogh-Andersen 1942; Fraser, 1955). Contudo, dados epidemiológicos (Grosen *et al.*, 2010) e biológicos (Ludwig *et al.*, 2012; Rahimov *et al.*, 2008) sugerem que FL e FL/P podem ter etiologias genéticas diferentes. Não obstante, vias comuns podem estar subjacentes às etiologias de cada grupo, pois, ocasionalmente, FL/P e FP estão presentes nos pacientes da mesma etnia. Esse evento é geralmente chamado de fenda mista e é mais comumente observado nas formas sindrômicas de fendas (Rahimov *et al.*, 2012).

II.3. Epidemiologia e Etiologia das Fendas Palatinas/Lábio Leporino

A etiologia subjacente é complexa e multifatorial, com uma série de influências, incluindo genética, ambiental, geográfica, racial e étnica, além de estatuto socioeconómico (Tian *et al.*, 2017). Em geral, as populações asiáticas e ameríndias têm as maiores taxas de prevalência de nascimentos com FP/LL relatadas, geralmente tão altas quanto 1/500. As populações de origem europeia têm taxas de prevalência intermédias com cerca de 1/1000, e as de origem africana têm as menores taxas de prevalência (cerca de 1/2500). Estas observações sugerem que a contribuição relativa dos genes individuais de suscetibilidade pode variar entre diferentes populações (Dixon *et al.*, 2011; Xing *et al.*, 2019).

Embora membros da mesma família possam ter fenda labiopalatina, o padrão de herança não se encaixa na genética mendeliana típica (Funato e Nakamura, 2017). O risco de recorrência de fenda labial não-sindrômica com ou sem fenda palatina em irmãos e filhos subsequentes da criança afetada é considerado aproximadamente de 3 a 5%. A frequência das FLP também

difere entre sexos e entre os lados (esquerdo e direito) da face. Existe uma proporção de 2:1 de homens para mulheres para fendas envolvendo o lábio e aproximadamente uma proporção de 1:2 de homens para mulheres apenas para fendas do palato. Existe ainda uma proporção de 2:1 de fendas do lado esquerdo para o direito entre os casos de lábio leporino unilateral (Dixon *et al.*, 2011).

Fijałkowska e Bogusław (2018) realizaram um estudo com o objetivo de apresentar todos os tipos particulares de fendas, e a sua relação com o gênero e o lado do corpo. O grupo de estudo incluiu 434 pacientes com fendas faciais (218 homens e 216 mulheres) com idade entre 4 semanas a 18 anos, que nasceram em Lódź (Polónia) durante os anos 1981-2015. Os resultados mostraram 41,7% de fendas palatinas, 36% de fendas labiais e palatinas e 22,3% de fendas labiais. O estudo mostrou que fendas palatinas isoladas são mais frequentes em mulheres do que em homens, enquanto fendas labiais e palatais são mais frequentes em homens. Além disso, fendas do lado esquerdo são mais comuns do que do lado direito (Fijałkowska e Bogusław 2018).

II.4. Fatores Genéticos

Segundo Funato e Nakamura (2017), mais de 350 genes têm associações síndrômicas e/ou não-síndrômicas orais em humanos. Embora sejam conhecidos os genes envolvidos em distúrbios genéticos com fenótipos de fendas orais, ainda existe uma lacuna entre a detecção destas associações e a interpretação da sua importância biológica (Funato e Nakamura 2017).

Embora a familiaridade das fendas orofaciais tenha sido observada há muito tempo (Darwin, 1875), os estudos genéticos formais não começaram até Fogh-Anderson (1942) propor que fatores genéticos contribuem para as FP/LL, depois de observar uma frequência aumentada de fendas em parentes de um paciente com fenda (Fogh-Andersen, 1942). Análises de segregação (Marazita *et al.*, 1984) e estudos com gêmeos (Mitchell, 2002) posteriores, apoiaram uma componente genética para as FP/LL, por terem uma alta taxa de recorrência familiar (Mitchell, 2002).

O risco de fenda labial em parentes de primeiro grau é estimado em 32 vezes o risco para indivíduos sem histórico familiar de fenda labial (Sivertsen *et al.*, 2008). A taxa de

concordância de 40 a 60% em gémeos monozigóticos é superior à taxa de 3 a 5% em gémeos dizigóticos e também sugere uma etiologia genética forte (Leslie e Marazita 2013).

Estimativas em várias populações mostram que cerca de 20% dos casos totais de FP/LL são familiares (Brito *et al.*, 2008; Carinci *et al.*, 2007). Nestes casos em que há recorrência familiar, supõe-se que a contribuição genética para a ocorrência das FL/LL seja mais preponderante. Consequentemente, a comparação da proporção de casos familiares e isolados em diferentes regiões geográficas pode apontar para as localidades onde os fatores de predisposição às FP/LL sejam diferentes (Ge *et al.*, 2019; Jamilian *et al.*, 2017; Leslie *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2015).

Existe uma diversidade fenotípica substancial em indivíduos com estes defeitos congénitos e seus familiares: de fenótipos subclínicos a características sindrómicas associadas. Isto reflete que muitos genes contribuem para a etiologia destes distúrbios.

A identificação destes genes e *loci* tem sido o resultado de décadas de pesquisa usando múltiplas abordagens genéticas. Recentemente, houve um progresso significativo devido aos avanços nas técnicas de sequenciação e genotipagem (Garg *et al.*, 2014).

Um estudo coordenado por Leslie *et al.* (2016), mostrou a associação multiétnica em todo o genoma e identificou novos *loci* para as FP/LL. Os resultados permitiram identificar novos *loci* de risco para as FP/LL, tendo sido sugeridos novos genes envolvidos no desenvolvimento craniofacial, confirmando a etiologia altamente heterogénea das fendas orofaciais. Ainda que vários genes tenham sido identificados como fatores de risco genético para as FP/LL, o gene do fator regulador de interferão 6 (*IRF6*) é o fator de risco genético melhor documentado (Funato e Nakamura 2017; Bezerra *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2010; Dixon *et al.*, 2011).

O gene *IRF6* é um dos nove membros de uma família de fatores de transcrição (IRFs) que compartilham um domínio de ligação ao DNA altamente conservado e um domínio de ligação à proteína menos conservado (Taniguchi *et al.*, 2001). Um estudo recente descobriu que cobaias com deficiência de *IRF6* apresentam um desenvolvimento craniofacial da pele e membros anormal (Ingraham *et al.*, 2006). Outro estudo sugeriu que o *IRF6* atua no ciclo celular, regulando a diferenciação celular epitelial mamária (Bailey *et al.*, 2008). Rahimov *et al.* (2008) encontraram o polimorfismo de nucleótido simples (SNP) rs642961 na região do *IRF6* que afeta o local de ligação do fator de transcrição AP-2 α , o que pode aumentar

diretamente o risco de FP/LL não-sindrômicas, por alteração da transcrição do gene *IRF6*. Este estudo confirmou que o polimorfismo rs642961 está significativamente associado a risco aumentado de FP/LL não-sindrômicas (Wu *et al.*, 2010).

Bezerra *et al.* (2019) investigaram a associação de polimorfismos do gene *IRF6* com o desenvolvimento de fendas orofaciais não-sindrômicas numa população do nordeste do Brasil. As frequências genótípicas e alélicas do SNP rs2235371 mostraram diferenças significativas nos pacientes com fenda palatina quando comparados ao grupo controle. No entanto, nenhuma associação foi observada entre os SNPs rs642961, rs2236907, rs861019 e rs1044516 e FOF/NS. A associação encontrada deve ser interpretada com cuidado devido ao baixo número de indivíduos estudados (Bezerra *et al.*, 2019).

As fendas orofaciais não-sindrômicas têm uma etiologia complexa devido à contribuição de fatores de risco genéticos e ambientais, bem como à interação entre eles. Entre os mais de 15 *loci* de suscetibilidade para fendas orofaciais não-sindrômicas, com considerável apoio estatístico e biológico, o *IRF6* é o gene mais validado pela maioria dos estudos. O objetivo do estudo de Bezerra *et al.* (2019) foi investigar a associação de polimorfismos do gene *IRF6* com o desenvolvimento de fendas orofaciais não-sindrômicas numa população do nordeste do Brasil. Foram analisados os SNPs rs2235371, rs642961, rs2236907, rs861019 e rs1044516 do gene *IRF6*. As frequências genótípicas e alélicas do SNP rs2235371 mostraram diferenças significativas nos pacientes com fissura palatina quando comparados com o grupo controle. No entanto, nenhuma associação foi observada entre os SNPs rs642961, rs2236907, rs861019 e rs1044516 e fendas orofaciais não-sindrômicas (Bezerra *et al.*, 2019).

Zhang *et al.* (2018) observaram que alterações nos genes *MTHFR* e *RBP4*, envolvidos na biossíntese de ácido fólico e vitamina A, têm alta contribuição para a incidência de FP/LL. Estes resultados são consistentes com a noção de que o ácido fólico e a vitamina A são suplementos nutricionais essenciais para as mulheres grávidas, a fim de reduzir o risco de conceber um bebê com FP/LL (Zang *et al.*, 2018).

Funato e Nakamura (2017) fizeram a classificação de genes candidatos a possivelmente associados com o fenótipo das fendas orais em seres humanos, de acordo com a função molecular do gene, com o processo biológico e genética familiar (herança genética). Os genes e funções moleculares associadas são: sinalização molecular (genes *FGF1*, *FGF19*, *FGF2*,

JAG2, *NOG*, *PDGFC*, *SPRY2*), fator de crescimento (genes *FGF1*, *FGF19*, *FGF2*, *PDGFC*), fator de transcrição (genes *ARNT*, *LHX8*, *TBX10*, *ARX*, *ESR1*, *JAG2*, *PAX7*, *RARA*, *SPRY2*, *MAFB*, *MKX*), transferase (genes *NAT1*, *NAT2*, *GSTT1*, *COMT*), matrix extra-celular (genes *COL8A1*, *MMP9*, *NTN1*, *NOG*). Os genes relacionados com processos biológicos são: processo de desenvolvimento (genes *RYK*, *TBX10*, *ARX*, *ESR1*, *FGF1*, *FGF19*, *FGF2*, *LHX8*, *MYH9*, *NTN1*, *NOG*, *PAX7*, *PDGFC*, *RARA*, *SPRY2*, *MAFB*, *PDGFRA*); desenvolvimento do mesoderma (genes *FGF1*, *FGF2*, *MYH9*, *NOG*, *SPRY2*); neurogênese (genes *RYK*, *ARX*, *FGF19*, *JAG2*, *LHX8*, *NTN1*, *PAX7*, *MAFB*); desenvolvimento do ectoderma (genes *RYK*, *ARX*, *FGF19*, *JAG2*, *LHX8*, *NTN1*, *PAX7*, *MAFB*); segmentos específicos (genes *ARX*, *PAX7*); desenvolvimento esquelético (gene *NOG*); desenvolvimento muscular (gene *MYH9*); oncogênese (genes *RARA*, *PDGFRA*, *ST5*). Os genes relacionados com a genética familiar (herança genética) são: cadeia de proteínas (genes *ARX*, *PAX7*, *LHX8*, *MKX*); ligação de heparina (genes *FGF1*, *FGF2*, *FGF19*); padrões relacionados (gene *DISP1*); bloqueador do canal neurotransmissor (gene *GABRB3*); proteína tirosina cinase (gene *RYK*); N-hydroxyarylamine o-acetyltransferase (genes *NAT1*, *NAT2*); tropomiosina (gene *MYH9*) (Funato e Nakamura (2017).

II.5. Fatores Ambientais

A etiologia multifatorial das malformações congênitas encontra-se bastante estudada. Desta forma, além de fator genético, a sua ocorrência pode estar relacionada à exposição da criança, ainda antes do nascimento, ou mesmo de seus pais, a substâncias tóxicas, como por exemplo o tabaco (Honein *et al.*, 2007; Little *et al.*, 2004; Chung *et al.*, 2000; Romitti *et al.*, 2007). Diversos estudos apontam que filhos de mães fumadoras durante a gestação apresentam maior risco de desenvolvimento de algum tipo de malformação congênita (Chung *et al.*, 2000). Foram evidenciadas associações significativas entre fumo materno na gestação e malformações congênitas dos sistemas cardiovascular, digestivo, musculoesquelético e da face e pescoço (Nicoletti *et al.*, 2014; Langlois *et al.*, 2013).

Em vários estudos, fumar durante a gravidez tem sido associado a fendas orofaciais (Sabbagh *et al.*, 2015; Chung *et al.*, 2000; Kummet *et al.*, 2016; Grewal *et al.*, 2008; Mukhopadhyay *et al.*, 2015; Little *et al.* (2004). No entanto, a maioria dos estudos não conseguiu avaliar a relação entre o tabagismo materno e fenótipos específicos (por exemplo, as fendas bilaterais) (Sabbagh *et al.*, 2015; Chung *et al.*, 2000; Lorente *et al.*, 2000).

Honein *et al.* (2007) analisou a associação entre tabagismo materno periconcepcional, exposição ambiental a fumo de tabaco e fenda labial com ou sem fenda palatina e fenda palatina em comparação com bebês sem defeitos congênitos. Foi observado que o tabagismo periconcepcional estava associado a FP/LL e mais fortemente associado às FP/LL bilaterais. O tabagismo materno intenso (mais de 25 cigarros/dia) foi associado a FLP, fenda labial com ou sem fenda palatina bilateral e fenda palatina com sequência de Pierre Robin. Este estudo confirmou a associação modesta entre tabagismo e fendas orofaciais (Honein *et al.*, 2007).

No estudo de Nicoletti *et al.* (2014) foi encontrada associação positiva significativa entre fumo materno e malformações de diversos sistemas, incluindo a face e o pescoço. O estudo mostrou que a força de associação entre fumo materno e malformações no feto está relacionada significativamente com a quantidade diária de cigarros consumidos (Chung *et al.*, 2000; Johansen *et al.*, 2009; Krapels *et al.*, 2006; Romitti *et al.*, 2007; van den Boogaard *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009).

Yin *et al.* (2018) pesquisaram a associação entre os SNPs rs7525173, rs2236518 e rs2493264 do gene *PRDM16* e o tabagismo, a exposição ao álcool e fissura labial não-sindrômica com/sem fenda palatina (NSCL/P). Os resultados mostraram que o polimorfismo rs2236518 neste gene, o tabagismo materno passivo (ou não) e o consumo materno de álcool estavam intimamente relacionados com a ocorrência de fenda lábio/palatina não-sindrômicas (Yin *et al.*, 2018).

Por outro lado, um estudo numa população brasileira não observou associação entre certos polimorfismos, fatores ambientais e o aparecimento de fenda oral não-sindrômica (Souza *et al.*, 2012). Neste estudo, analisou-se o uso de tabaco e álcool durante a gravidez. Não foram encontradas evidências de associação entre os polimorfismos *TGFA*/Taq I e a presença de fenda. Também não foi encontrada associação entre esses polimorfismos e fatores ambientais (álcool e/ou tabaco). Portanto, não foram encontradas evidências de que os polimorfismos *TGFA*/Taq I desempenhem um papel na fenda nessa população. Não foram encontradas evidências de que a exposição ao tabaco ou álcool durante a gravidez estivesse relacionada com a presença de fenda. No entanto, seria necessária uma maior amostragem para confirmar estes resultados (Souza *et al.*, 2012).

Silva *et al.* (2019) investigaram se existe associação entre a consanguinidade dos pais e a ocorrência de fissura oral nos filhos. Uma taxa de associação positiva de 2,68% foi observada comparativamente com o grupo controlo que mostrou apenas 0,79% de associação. A diferença encontrada entre os grupos foi estatisticamente significativa. O grau de parentesco mais frequente nos casos de casamentos consanguíneos, nos dois grupos, foi entre primos em primeiro grau. Os tipos mais frequentes de fendas nos filhos também foram apenas a fenda palatina e a fenda labial. Na população estudada, a consanguinidade dos pais esteve associada à ocorrência de fissura oral não sindrómica e pode ser considerada como um fator de risco isolado nesta população (Silva *et al.*, 2019; Leite e Koifman 2009).

Segundo Bille *et al.* (2005), algumas malformações estão claramente associadas a idade materna mais avançada. No entanto, o efeito da idade mais avançada no que diz respeito ao pai ainda é incerto. O objetivo deste estudo foi determinar até que ponto a idade materna e a paterna influenciam independentemente o risco de ter um filho com fenda orofacial. Análises separadas da idade da mãe e do pai mostraram que a idade mais avançada foi associada a um risco aumentado de fenda labial com ou sem fenda palatina e apenas fenda palatina. Numa análise conjunta, as idades materna e paterna foram associadas ao risco de fissura labial com ou sem fenda palatina, mas a contribuição de cada uma delas dependia da idade do outro progenitor. Na análise apenas da fenda palatina, o efeito da idade materna desapareceu, deixando apenas a idade paterna como fator de risco. Tanto as idades avançadas maternas quanto paternas foram associadas à fenda labial com ou sem fenda palatina. A idade paterna mais alta, mas não a idade materna, aumentou apenas o risco de fenda palatina (Bill *et al.*, 2005).

Spinder *et al.* (2017) afirmaram que estudos anteriores (Cordier *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2014), sugeriram que a exposição ocupacional materna pré-concepcional a solventes e pesticidas (Romitti 2007) aumenta o risco de fissuras orais nos filhos (Garlantezec *et al.*, 2009). Pouco se sabe sobre o efeito da exposição ocupacional a metais, poeiras, gases e vapores no desenvolvimento de fendas orais. As fendas orais aumentaram significativamente a chance de possibilidade no que diz respeito à exposição ocupacional materna a pesticidas e poeiras. A análise de subgrupos estratificado por género mostrou um risco significativamente aumentado para bebés do sexo masculino expostos a 'outros solventes' e exposição ao pó mineral para bebés do sexo feminino. O estudo mostrou que a exposição ocupacional materna a pesticidas e poeira são fatores de risco para fissuras orais nos filhos (Spinder *et al.*, 2017).

II.6. Prevenção

O ácido fólico é importante na prevenção de defeitos do tubo neural, todavia há evidências inconclusivas de que a suplementação de ácido fólico antes do início da gravidez, diminua o risco de fendas orofaciais (Lewis *et al.*, 2017; Butali *et al.*, 2013). Um estudo recente concluiu não haver associação estatisticamente significativa entre o uso de folato e o risco de fendas orofaciais isoladas (Shaw *et al.*, 2013). No entanto, os pesquisadores relataram um risco menor de fendas orofaciais que ocorreram em combinação com outras malformações, como as anomalias congênitas do coração, dos membros ou do trato urinário (Desrosiers *et al.*, 2012).

A Academia Americana de Pediatria recomenda que todas as mulheres em idade fértil, consumam 0,4 mg (400 µg) de ácido fólico diariamente para evitar dois tipos de defeitos congênitos graves e comuns (espinha bífida e anencefalia). A suplementação com ácido fólico na pré-concepção, também pode ter um efeito protetor contra alguns tipos de FP/LL (Lewis *et al.*, 2017).

Butali *et al.*, (2013) examinaram a interação gene-ambiente (GEI) entre o polimorfismo C667T do gene *MTHFR*, que codifica a enzima metilenotetraidrofolato redutase, e o ácido fólico na etiologia das fendas orofaciais. Os resultados mostraram um risco reduzido de fenda labial com ou sem fenda palatina, com o uso de ácido fólico materno e com suplementos contendo ácido fólico. O tabagismo materno aumentou o risco de fendas labiais com ou sem fendas palatinas. Nenhum risco significativo foi observado nos genótipos maternos ou fetais relativamente ao polimorfismo C677T (Butali *et al.*, 2013).

II.7. Tratamento

O tratamento das FL/PNS é longo e envolve múltiplos procedimentos cirúrgicos. A primeira cirurgia labial deve ser feita por volta dos seis meses, já a do palato deve ser feita até aos 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, más oclusões, devendo ser feito durante a dentição decídua, mista e permanente (Mitchell 2002; Mossey e Little 2002; Lewis *et al.*, 2017).

O enxerto ósseo alveolar é outra etapa importante que permite a estabilidade maxilar, suporte nasal e o melhoramento estético (Lewis *et al.*, 2017). Além das etapas mencionadas, o paciente deve ter acompanhamento de um fonoaudiólogo e de um psicólogo (Lewis *et al.*, 2017; Zaidi *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2019).

O atendimento odontológico/ortodôntico é particularmente importante para crianças com FP/LL, porque a saúde oral desempenha um papel importante nos resultados do tratamento das fendas. Além de serem mais suscetíveis a fatores de risco típicos de cárie, as crianças com FP/LL e outras doenças bucais específicas, estão ainda suscetíveis a outros riscos como: (1) hipoplasia do esmalte, aumentando o risco de cárie dentária nos dentes afetados; (2) anomalias estruturais que favorecem a acumulação de resíduos alimentares e prejudicam a limpeza dos dentes; (3) dispositivos na boca (por exemplo, expansores palatais, braquetes e fios ortodônticos, obturadores, retentores), que são colonizados por bactérias cariogênicas e que podem interferir na higiene bucal; e (4) cicatrizes apertadas após cirurgias que restringem o espaço no vestíbulo oral, resultando em perturbação durante a escovagem e o uso do fio dental (Lewis *et al.*, 2017; Zaidi *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2019).

Martin-del-Campo *et al.*, (2009) afirmam que avanços significativos na medicina regenerativa têm trazido esperança aos pacientes que podem vir a beneficiar de novas terapias de engenharia de tecidos baseadas no uso de biomateriais 3D, associado a moléculas osteoindutoras e células estaminais que podem ser direcionadas ao processo de regeneração óssea. No entanto, para já, poucos estudos se concentraram na aplicação da engenharia de tecidos na regeneração da fenda labial/palatina, e apenas alguns relataram avanços significativos de modo a oferecer soluções clínicas reais.

Na revisão sistemática de Rodrigues *et al.*, (2019) observou-se altos índices de placa, alta prevalência de cárie dentária e piores padrões de higiene bucal em pacientes com FL/P. Além disso, a falta de educação em saúde bucal e a baixa motivação para integrar rotinas regulares de higiene no quotidiano familiar também eram evidentes. Deste modo, existe uma clara necessidade de melhorar os cuidados de higiene bucal das crianças com FL/P, mas poucos estudos estão focados em abordagens preventivas específicas. O desenvolvimento de

dispositivos especialmente projetados para a higiene da área de fissura e a implementação de programas padronizados de prevenção e controlo direcionados à educação, motivação e conformidade, podem contribuir para melhorar a saúde bucal em crianças com FL/P (Rodrigues *et al.*, 2019).

Segundo Zaidi *et al.* (2018), a fissura labiopalatina é uma condição relativamente comum, apresentando um considerável desafio técnico para os cirurgiões, principalmente quando a fenda é larga (> 8 mm). A ortodontia pré-cirúrgica, que reduz a largura da fenda e facilita a reparação definitiva, é cara e não está disponível universalmente. A adesão labial pode ser uma alternativa mais barata à ortodontia pré-cirúrgica. Estes autores concluíram que a adesão labial é um substituto seguro e eficaz da ortodontia pré-cirúrgica (Zaidi *et al.*, 2018),

III. DISCUSSÃO

O caráter multifatorial das malformações congênitas orofaciais tem sido discutido e explorado em inúmeros estudos (Funato e Nakamura 2017; Garg *et al.*, 2014; Leslie *et al.*, 2016; Bezerra *et al.*, 2019; Zhang *et al.* 2018; Nicoletti *et al.*, 2014; Sabbagh *et al.*, 2015; Chung *et al.*, 2000; Kummet *et al.*, 2016; Grewal *et al.*, 2008; Mukhopadhyay *et al.*, 2015; Little *et al.* 2004 ; Honein *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2012). Na grande maioria dos casos, os fatores genéticos e ambientais não atuam como eventos isolados e determinantes de malformações congênitas. Existe uma associação de tais fatores que favorece o desenvolvimento de malformações congênitas, como as fendas palatinas/lábio leporino (FP/LL) (Dixon *et al.*, 2011; Wu T. *et al.*, 2010).

Como discutido anteriormente, as FP/LL têm uma etiologia complexa e multifacetada, com contribuição tanto de fatores genéticos como ambientais, tais como tabagismo durante a gestação, fumo passivo (ou não) pela gestante, álcool, idade avançada dos pais, consanguinidade, uso de anticonvulsivantes e exposição a pesticidas e produtos nocivos (Honein *et al.*, 2007; Nicoletti *et al.*, 2014; Sabbagh *et al.*, 2015; Yin *et al.*, 2018; Leite *et al.*, 2009; Bille 2005; Brito *et al.*, 2008; Suhl *et al.*, 2018; Chevrier *et al.*, 2006).

No que diz respeito aos componentes genéticos envolvidos nas malformações orofaciais os estudos de Funato e Nakamura (2017), Garg *et al.*, (2014), Leslie *et al.*, (2016), Bezerra *et al.*, (2019) e Zhang *et al.*, (2018) corroboram nos seus resultados pois apresentam evidências científicas baseadas em populações significativas. Entretanto, os estudos de Souza *et al.*, (2012) mostraram resultados diferentes, onde não foram encontradas evidências de que os polimorfismos *TGFA*/Taq I desempenhem um papel na fenda nessa população, o que sugere a necessidade de uma maior amostragem para confirmar estes resultados.

Tendo em consideração os elementos ambientais, observou-se clara influência dos mesmos nos estudos de Nicoletti *et al.*, (2014); Sabbagh *et al.*, (2015); Chung *et al.*, (2000); Kummet *et al.*, (2016); Grewal *et al.*, (2008); Mukhopadhyay *et al.*, (2015); Little *et al.* (2004) e Honein *et al.* (2007), sendo o tabagismo o fator mais comumente encontrado e que apresentou fortes evidências científicas.

IV. CONCLUSÃO

Face ao exposto, é possível concluir que as malformações congênitas, como fendas palatinas/lábio leporino em pacientes não- síndrômicos, possuem uma etiologia complexa multifatorial, com envolvimento de fatores ambientais e genéticos, além da forte interferência de povos da mesma origem.

A gestão das fendas palatinas/lábio leporino requer uma abordagem multidisciplinar envolvendo intervenções médicas cirúrgicas, acompanhamento nutricional, tratamento odontológico, tratamentos com fonoaudiólogo e comportamental. O tratamento ideal é difícil de encontrar, devido à grande variabilidade de malformações e à resposta subjetiva de cada paciente à terapia.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bailey, C. M. *et alii.* (2008). Interferon regulatory factor 6 promotes cell cycle arrest and is regulated by the proteasome in a cell cycle-dependent manner. *Molecular Cell Biology*, 28, pp. 2235-2243.
- Bezerra, J. F. *et alii.* (2019). IRF6 polymorphisms in Brazilian patients with non-syndromic cleft lip with or without palate. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*.
- Bille, C. *et alii.* (2005). Parent's age and the risk of oral clefts. *Epidemiology*, 16(3), pp. 311-316.
- Borges A. R. *et alii.* (2014). Fissuras Labiais E/Ou Palatinas não Síndrômicas Determinantes Ambientais E Genéticos. *Revista Bahiana De Odontologia*, 5(1), pp. 48-58.
- Brito, L. A. *et alii.* (2012). Genetics and management of the patient with orofacial cleft. *Plastic Surgery International*, 2012, 782821.
- Brito, L. *et alii.* (2008). A contribuição de fatores genéticos e ambientais para a ocorrência das fissuras lábio-palatinas não-sindrômicas é a mesma em diferentes regiões do país?. *Rev Bras Cir Craniofac* 2008; 11(3): 85-8.
- Butali, A. *et alii.* (2013). Folic acid supplementation use and the MTHFR C677T polymorphism in orofacial clefts etiology: an individual participant data pooled-analysis. *Birth Defects Research. Part A, Clinical and Molecular Teratology*, 97(8), pp. 509-514.
- Carinci, F. *et alii.* (2007). Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: an update. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 71(10), pp. 1509-1519.
- Chevrier, C. *et alii.* (2006). Occupational exposure to organic solvent mixtures during pregnancy and the risk of non-syndromic oral clefts. *Occupational Environmental Medicine*, 63(9), pp.617-623.
- Christensen, K. e Mortensen, P. B. (2002). Facial clefting and psychiatric diseases: a follow-up of the Danish 1936–1987 facial cleft cohort. *Cleft Palate Craniofacial Journal*, 39, pp. 392-396.
- Chung, K. C. *et alii.* (2000). Maternal cigarette smoking during pregnancy and the risk of having a child with cleft lip/palate. *Plastic Reconstruction Surgery*, 105, pp. 485-491.
- Cordier S, *et alii.* (2012). Exposure during pregnancy to glycol ethers and chlorinated solvents and the risk of congenital malformations. *Epidemiology*, 23(6), pp. 806-812.
- Correa, A. *et alii.* (2008). Diabetes mellitus and birth defects. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 199(3), pp. 237.e1-9.
- Darwin, C. (1875). The variation of animals and plants under domestication. *London, England: John Murray, Albermarle Street*.
- Deshpande, A. S. e Goudy, S. L. (2018). Cellular and molecular mechanisms of cleft palate development. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*, 4(1), pp. 160-164.
- Desrosiers, T. A. *et alii.* (2012). Maternal occupational exposure to organic solvents during early pregnancy and risks of neural tube defects and orofacial clefts. *Occupational Environmental Medicine*, 69(7), pp. 493-499.
- Dixon, M. J. *et alii.* (2011). Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nature Reviews Genetics*, 12(3), pp. 167-178.
- Farronato, G. *et alii.* (2014). Cleft lip and/or palate: review. *Minerva Stomatology*, 63(4), pp. 111-126.
- Fijałkowska, M. e Antoszewski, B. (2018). Distribution of types of lip and/or palate clefts among children from Lodz during years 1981-2015. *Polski Przegląd Chirurgiczny*, 90(3), pp. 1-4.

- Fogh-Andersen, P. (1942). Inheritance of Harelip and Cleft Palate. Copenhagen: Munksgaard.
- Fraser, F. C. (1955). Thoughts on the etiology of clefts of the palate and lip. *Acta Genetica et Statistica Medica*, 5(4), pp. 358-369.
- Funato, N. e Nakamura, M. (2017). Identification of shared and unique gene families associated with oral clefts. *International Journal of Oral Sciences*, 9(2), pp. 104-109.
- Garg, P. *et alii.* (2014). Genome-wide analysis of parent-of-origin effects in non-syndromic orofacial clefts. *European Journal of Human Genetics*, 22(6), pp. 822-830.
- Garlantezec R. *et alii.* (2009). Maternal occupational exposure to solvents and congenital malformations: prospective study in the general population. *Occupational Environmental Medicine*, 66(7), pp. 456-463.
- Ge, X. *et alii.* (2019). Investigation of candidate genes of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate, using both case-control and family-based association studies. *Medicine*, 98(26), pp. e16170.
- Grewal J. *et alii.*, (2008). Maternal periconceptional smoking and alcohol consumption and risk for select congenital anomalies. *Birth Defects Research: Part A. Clinical Molecular Teratology*, 82(7), pp. 519-526.
- Grosen, D. *et alii.* (2010). Recurrence risk for offspring of twins discordant for oral cleft: a population-based cohort study of the Danish 1936-2004 cleft twin cohort. *Am J Med Genet A*. 2010 Oct;152A(10):2468-74.
- Honein, M. A. *et alii.* (2007). Maternal smoking and environmental tobacco smoke and the risk of oral clefts. *Epidemiology*, 18, pp. 226-233.
- Ingraham, C. R. *et alii.* (2006). Abnormal skin, limb and craniofacial morphogenesis in mice deficient for interferon regulatory factor 6 (IRF6). *Nature Genetics*, 38, pp. 1335-1340.
- Jamilian, A. *et alii.* (2017). Family history and risk factors for cleft lip and palate patients and their associated anomalies. *Stomatologija*, 19(3), pp. 78-83.
- Jiang, R. *et alii.* (2006). Development of the upper lip: morphogenetic and molecular mechanisms. *Developmental Dynamics*, 235, pp. 1152-1166.
- Johansen, A. M. *et alii.* (2009). Maternal consumption of coffee and caffeine-containing beverages and oral clefts: a population-based case-control study in Norway. *American Journal of Epidemiology*, 169, pp. 1216-1222.
- Krapels, I. P. *et alii.* (2006). Periconceptional health and lifestyle factors of both parents affect the risk of live-born children with orofacial clefts. *Birth Defects Research: Part A. Clinical and Molecular Teratology*, 76, pp. 613-620.
- Kummet, C. M. *et alii.* (2016). Passive smoke exposure as a risk factor for oral clefts- a large international population-based study. *American Journal of Epidemiology*, 183(9), pp. 834-841.
- Langlois, P. H. *et alii.* (2013). Maternal occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and risk of oral cleft-affected pregnancies. *Cleft Palate Craniofacial Journal*, 50(3), pp. 337-346.
- Leite, I. C. G. e Koifman, S. (2009). Oral clefts, consanguinity, parental tobacco and alcohol use: a case-control study in Rio de Janeiro. Brazil. *Brazilian Oral Research*, 23(1), pp. 31-37.
- Leslie, E. J. *et alii.* (2016). A multi-ethnic genome-wide association study identifies novel loci for non-syndromic cleft lip with or without cleft palate on 2p24.2, 17q23 and 19q13. *Human Molecular Genetics*, 25(13), pp. 2862-2872.
- Leslie, E.J. and Marazita, M. L. (2013). Genetics of cleft lip and cleft palate. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2013 Nov;163C(4):246-58.

- Lewis, C. W. *et alii.* (2017). The primary care pediatrician and the care of children with cleft lip and/or cleft palate. *Pediatrics*, 139(5), e20170628.
- Little, J. *et alii.* (2004). Tobacco smoking and oral clefts: a meta-analysis. *Bulletin of the World Health Organization*, 82, pp. 213-218.
- Liu, Y. P. *et alii.* (2015). Identification of susceptibility genes in non-syndromic cleft lip with or without cleft palate using whole-exome sequencing. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugía Bucal*, 20(6), pp. e763-770.
- Lorente, C. *et alii.* (2000). Maternal occupational risk factors for oral clefts. Occupational Exposure and Congenital Malformation Working Group. *Scandinavian Journal of Work Environmental Health*, 26(2), pp. 137-145.
- Ludwig, K. U. *et alii.* (2012). Genome-wide meta-analyses of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate identify six new risk loci. *Nat Genet.* 2012 Sep;44(9):968-71.
- Marazita, M. L. (2012). The evolution of human genetic studies of cleft lip and cleft palate. *Annu Rev Genomics Hum Genet*;13:263-83.
- Marazita, M. L. Spence, M. A. Melnick, M. (1984). Genetic analysis of cleft lip with or without cleft palate in Danish kindreds. *Am J Med Genet.* Sep;19(1):9-18.
- Martín-Del-Campo. *et alii.* (2019). Biomaterials for cleft lip and palate regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), pp. E2176.
- Mitchell, L. E. (2002). Mode of inheritance of oral clefts. In: Wyszyski, DF., editor. *Cleft Lip and Palate: from origin to treatment.* Oxford University Press. pp. 234-239.
- Montes, A. B. M. *et alii.* (2019). Orofacial functions and quality of life in children with unilateral cleft lip and palate. *Brazilian Oral Research*, 33, pp. e0061.
- Mossey, P. A. e Little, J. (2002). Epidemiology of oral clefts: an international perspective. In: Wyszynski DF, editor. *Cleft lip and palate: from origin to treatment.* Oxford: Oxford University Press; pp. 127-158.
- Mossey, P. A. *et alii.* (2009). Cleft lip and palate. *Lancet*, 374 pp. 1773-1785.
- Mukhopadhyay, P. (2015). Cigarette smoke induces proteasomal-mediated degradation of DNA methyltransferases and methyl CpG-/CpG domain-binding proteins in embryonic orofacial cells. *Reproduction Toxicology*, 58, pp. 140-148.
- Nicoletti, D. (2014). Tabagismo materno na gestação e malformações congênitas em crianças: uma revisão sistemática com meta-análise. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 30(12):1-40, dez.
- Rahimov, F. *et alii.* (2008). Disruption of an AP-2a binding site in an IRF6 enhancer is associated with cleft lip. *Nature Genetics*, 40, pp. 1341-1347.
- Rahimov, F. Jugessur, A. Murray, J. C. (2012). Genetics of nonsyndromic orofacial clefts. *Cleft Palate Craniofac J.* Jan;49(1):73-91.
- Rodrigues, *et alii.* (2019). Are there any solutions for improving the cleft area hygiene in patients with cleft lip and palate? A systematic review. *International Journal of Dental Hygiene*, 17(2), pp. 130-141.
- Romitti, P. A. (2007). Meta-analysis: pesticides and orofacial clefts. *Cleft Palate Craniofacial Journal*, 44(4), pp. 358-365.
- Romitti, P. A. *et alii.* (2007). Maternal periconceptional alcohol consumption and risk of orofacial clefts. *American Journal of Epidemiology*, 166, pp. 775-785.
- Sabbagh, H. J. *et alii.* (2015). Passive smoking in the etiology of non-syndromic orofacial clefts: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 10(3), pp. e0116963.

- Shaw, G. M. *et alii.* (2013). Thymidylate synthase polymorphisms and risks of human orofacial clefts. *Birth Defects Research: Part A. Clinical Molecular Teratology*, 97(2), pp. 95-100.
- Silva, C. M. *et alii.* (2019). Can parental consanguinity be a risk factor for the occurrence of nonsyndromic oral cleft? *Early Human Development*, 135, pp. 23-26.
- Sivertsen, A. *et alii.* (2008). Familial risk of oral clefts by morphological type and severity: population based cohort study of first-degree relatives. *British Medical Journal*, 336(7641), pp. 432-434.
- Souza, L. T. *et alii.* (2012). TGFA/Taq I polymorphism and environmental factors in non-syndromic oral clefts in Southern Brazil. *Brazilian Oral Research*, 26(5), pp. 431-435.
- Spina, V. *et alii.* (1972). Classificação das fissuras lábio-palatinas: sugestão de modificação. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo*, 27(1), pp. 5-6.
- Spinder, N. *et alii.* (2017). Maternal occupational exposure and oral clefts in offspring. *Environmental Health*, 16(1), pp. 83.
- Suhl, J. *et alii.* (2018). Maternal occupational cadmium exposure and nonsyndromic orofacial clefts. National Birth Defects Prevention Study. *Birth Defects Research*, 110(7), pp. 603-609.
- Taniguchi, T. *et alii.* (2001). IRF family of transcription factors as regulators of host defense. *Annual Review of Immunology*, 19, pp. 623-655.
- Tian, H. *et alii.* (2017). Intraflagellar transport 88 (IFT88) is crucial for craniofacial development in mice and is a candidate gene for human cleft lip and palate. *Hum Mol Genet*. 2017 Mar 1;26(5):860-872.
- van den Boogaard, M. J. *et alii.* (2008). The MSX1 allele 4 homozygous child exposed to smoking at periconception is most sensitive in developing nonsyndromic orofacial clefts. *Human Genetics*, 124, pp. 525-534.
- Wang, W. *et alii.* (2009). Risk factors for oral clefts: a population-based case-control study in Shenyang, China. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 23, pp. 310-320.
- Wu, T. *et alii.* (2010). Evidence of gene-environment interaction for the IRF6 gene and maternal multivitamin supplementation in controlling the risk of cleft lip with/without cleft palate. *Human Genetics*, 128(4), pp. 401-410.
- Xing, G. *et alii.* (2019). Investigation of candidate genes of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate, using both case – control and family-based association studies. *Medicine*, 98, pp. 26.
- Yang, W. *et alii.* (2014). Residential agricultural pesticide exposures and risk of neural tube defects and orofacial clefts among offspring in the San Joaquin Valley of California. *American Journal of Epidemiology*, 179(6), pp. 740-748.
- Yin, B. *et alii.* (2018). Associations among PRDM1 polymorphisms, environmental exposure factors during mother's pregnancy, and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 36(5), pp. 503-507.
- Zaidi, S. H. *et alii.* (2018). Lip adhesion– a viable alternative to pre-surgical orthodontics for the management of wide cleft lips in third world countries. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad*, 30(2), pp. 171-174.
- Zhang, S. J. *et alii.* (2018). Machine learning assessment of cleft lip/palate incidence. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 16, pp. 354-364.