



УДК 616.315-007.254-055.7-036.22

Ф. Каринчи<sup>1</sup>, Н. Олейник<sup>2</sup>, Ф. Педзетти<sup>3</sup>, М. Мартинелли<sup>4</sup>,  
А. Авантаджиато<sup>1</sup>, П. Каринчи<sup>3</sup>, Э. Падула<sup>4</sup>, У. Бачильеро<sup>4</sup>, Ф. Гомбос<sup>5</sup>,  
Г. Лейно<sup>5</sup>, Р. Рулло<sup>5</sup>, Р. Чензи<sup>6</sup>, Ф. Карлс<sup>7</sup>, Л. Скаполи<sup>4</sup>

## **ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННЫХ РАСЩЕЛИН ВЕРХНЕЙ ГУБЫ И НЕБА: ЭПИДЕМИОЛОГИЯ**

### **Сообщение 1**

<sup>1</sup>Кафедра челюстно-лицевой хирургии, школа медицины университета г. Феррара (Феррара, Италия); <sup>2</sup>Кафедра челюстно-лицевой хирургии Одесского государственного медицинского университета (Одесса, Украина); <sup>3</sup>Центр молекулярной генетики, Фонд CARISBO, Институт гистологии и общей эмбриологии, школа медицины университета г. Болонья (Болонья, Италия); <sup>4</sup>Департамент морфологии и эмбриологии, секция гистологии и эмбриологии, Центр биотехнологии университета г. Феррара (Феррара, Италия); <sup>4</sup>Отдел челюстно-лицевой хирургии, Гражданский госпиталь (г. Виченца, Италия); <sup>5</sup>Дентальная клиника, Второй университет г. Неаполя, (Неаполь, Италия); <sup>6</sup>Кафедра челюстно-лицевой хирургии, Гражданский госпиталь г. Ровиго (Ровиго, Италия); <sup>7</sup>Кафедра челюстно-лицевой хирургии, Госпиталь Джона Редклифа (Оксфорд, Великобритания)

#### **ВВЕДЕНИЕ**

Несиндромная расщелина верхней губы и/или неба (ВРГН, или орофациальная расщелина) является следствием нарушения эмбриогенеза (несращения носового отростка и/или небных уступов). Этот тяжелый врожденный порок — одно из самых распространенных уродств среди новорожденных. Действительно, частота появления порока составляет от 1 на 700 до 1 на 1000 новорожденных среди представителей белого населения [1; 2]. Поскольку более чем у 20 % пациентов положительный семейный анамнез, генетический фактор, по нашему мнению, играет важную роль в

этиологии орофациальных расщелин, Fogh-Andersen представил первое свидетельство на основании изучения популяции, что врожденные ВРГН имеют значимый генетический компонент [3]. Орофациальные расщелины классифицируются анатомически на те, которые включают только вторичное небо (т. е. задние отделы твердого и мягкое небо), или изолированные расщелины неба, и те, которые включают в себя первичное небо — т. е. сочетанные расщелины верхней губы и неба и изолированные расщелины верхней губы [4]. Такое разделение обосновано с точки зрения эмбриологии, поскольку первичное и вторичное небо форми-

руются независимо друг от друга. Кроме того, в семьях, где отмечено появление ВРН, не встречаются случаи ВРГН [1].

Хотя способ наследования ВРГН исследуется на протяжении многих лет, полученные результаты спорны. Не соответствие — вероятно результат исследования различных образцов используемых моделей. Действительно, исследуемые образцы иногда собирались из различных географических областей или из одного и того же региона, но включали пациентов с различным расовым и этническим происхождением. Также необъективны исследования, которые основаны на ограниченном количестве семейных слу-



чаев. Изучение ВРГН ограничено небольшим количеством представителей семей вследствие уменьшения числа индивидуумов в родословной (возможно, результат низкой пенетрации) и генетической гетерогенностью, характерной для ВРГН. Таким образом, убедительные результаты не могут быть достигнуты без изучения большого количества образцов.

Кроме того, описано влияние экологических факторов, например дыма, кортизона, или фенитоина на формирование порока [5]. Эти факторы могут иметь различное воздействие даже в однородных группах населения.

Большинство генетических исследований основано на изучении сегрегации, ассоциации и сцепленного анализа. При анализе сегрегации главная цель состоит в том, чтобы определить наиболее вероятную генетическую модель для данной болезни (т. е. определить, обусловлен ли этот порок доминантной, рецессивной, X-ассоциированной или полигенетической природой); таким образом, изучение сосредотачивается на способе наследования фенотипа в родословной. Анализ ассоциации и сцепленности служит для маркирования гена заболевания на хромосоме и дальнейшего использования генетических маркеров. Фактически ассоциация — типичное исследование случай — контроль, которое проверяет, может ли специфическая аллель исследованного локуса проявиться в более высокой частоте. При сцепленном анализе взаимодействия двух показателей (т. е. болезнь и генетический маркер) исследуется возможность определения их независимо друг от друга или вместе. В последнем случае генетический маркер и отвечающий за развитие заболевания участок на хромосоме находятся в непосред-

ственной близости. Сцепленный анализ вызывает предположение о модели передачи, объясняя наследование данной болезни в родословной (фенотип), и контроль модели, используя генетический маркер (генотип) [6]. Модель является прямой для простых менделевских характеристик, но достаточно трудна для сложных. В этих случаях используются альтернативные статистические методы, чтобы заполнить непараметрические сцепленные исследования без модели [7; 8].

### **ВРОЖДЕННЫЕ РАСЩЕЛИНЫ ВЕРХНЕЙ ГУБЫ И НЕБА**

Характер генетического влияния на этиологию несиндромных расщелин верхней губы и неба (называемых также орфациальными расщелинами) — проблема, которая до сих пор широко обсуждается и исследуется [9–12]. Ранние исследования не определяли менделевский тип наследования, следовательно, комплексное сегрегационное исследование нескольких популяций проводилось на отличающихся моделях. Однако некоторые исследователи предлагали многофакторную пороговую модель [1; 13], тогда как другие не подтвердили этой гипотезы [14]. Многие современные факты, основанные на сегрегационных исследованиях, доказывают правильность модели аутосомного основного наследования с многофакторным влиянием или без него [15–22]. Некоторые исследования поколений в семьях описывают различные повторения, вызванные аутосомно-доминантным типом наследования [18; 19]. При повторном исследовании повторяющихся моделей, полученных в семьях при изучении ВРГН, Mitchell и Risch обнаружили, что это врожденные дефекты, каждый с многофак-

торными характерными чертами или с полигенетическими моделями [23]. Позже эти данные были подтверждены фактами исследований, проведенных Farrall и соавторами [24].

В последние годы модели наследования широко обсуждались. Стало очевидным, что ВРГН — патология гетерогенная [12], и различные участки хромосом, такие как 1q, 2p, 4q, 6p, 14q, 17q и 19q, содержат локусы, отвечающие за развитие ВРГН. Так как этиология развития ВРГН комплексная, справедливо предположить, что эти локусы могли способствовать, в некотором смысле, мальформациям и влиять на достоверность результатов, полученных различными исследователями.

### **ИЗОЛИРОВАННЫЕ РАСЩЕЛИНЫ НЕБА**

Тип наследования несиндромной расщелины неба все еще неясен, хотя в некоторых исследованиях отмечены множественные семейные случаи [25–28]. Fitzpatrick и Farrall [26], Christensen и Mitchell [25] выявили, что для подтверждения полученных данных полигенетическая модель с несколькими взаимодействующими локусами соответствует наиболее точно. Кроме того, Christensen и соавторы предположили, что расщелина, включающая твердое небо, и расщелина только мягкого неба — этиологически различны [25; 29].

В своих исследованиях Shiang и соавторы показали существенные взаимосвязи между аллелями трансформирующего фактора роста (TGF $\alpha$ ) и изолированной расщелиной неба [30]. Изучение взаимосвязи между TGF $\alpha$  и изолированной расщелиной неба проводилось и нами в группе итальянского населения, однако полученных данных пока недостаточно для окончательных выводов. Необходимо прове-



ритель, соответствует ли модель рецессивного непрерывного локуса предполагаемому участку в области 2q13, либо данный ген играет лишь модулирующую роль в развитии ВРГН. В данном аспекте представляют интерес работы Lidral и соавторов [31], Diehl и Ericsson [32], а также Forbes и соавторов [33] в исследовании изолированной расщелины неба.

Учитывая сложность генетики несиндромных расщелин ВРГН вследствие различий между ВРГН и ВРН, а также их гетерогенности по числу сцепленных генов, типу наследования и взаимодействию между факторами окружающей среды, мы считаем необходимым рассмотреть данные различных исследований: эпидемиологических, моделирования на животных, генетических, а также тестов *in vitro*.

**Эпидемиология.** Fouh-Andersen (1942) описал первое свидетельство того, что врожденные расщелины верхней губы и неба содержат значительный генетический компонент [3]. Fraser (1970) продемонстрировал, что механизмы формирования сочетанных расщелин верхней губы и/или неба и изолированных расщелин неба различны [1]. Результаты многочисленных исследований факторов, способствующих развитию орофациальных расщелин, приведены ниже.

**Алкоголь.** Алкогольная интоксикация в течение беременности является причиной эмбрионального алкогольного синдрома, который обуславливает задержку внутриутробного развития и значительное отставание в росте и развитии после рождения, а также дисморфизм лица. Недавно в ряде эпидемиологических исследований была показана роль алкоголя в развитии несиндромальных орофациальных расщелин. Werler и соавторы доказали, что употребление алко-

голя в период беременности в большей степени связано с риском развития ВРГН, чем других аномалий, включая мальформации ушей, лица, шеи [34]. Позже в работах Munger и соавторов было показано, что алкоголь повышает риск развития несиндромных ВРГН, в то время как не было выявлено достоверной взаимосвязи между употреблением алкоголя и развитием синдромных расщелин или ВРН [35]. Много позже Romitti и соавторы исследовали варианты аллелей для трех генов — TGF $\alpha$ , TGF $\beta$ 3, и MSX1 — и их взаимодействие с двумя факторами, которые оказывали влияние на течение беременности: курение и употребление алкоголя [36]. Было установлено, что причина развития ВРГН и ВРН может не зависеть от влияния токсических агентов, однако наиболее значительно взаимодействие курения и употребления алкоголя и специфических вариантов аллелей.

Наиболее высок риск развития ВРН у детей с различиями аллелей локуса TGF $\beta$ 3 или MSX1 при употреблении матерью алкоголя. Оценивая риск, связанный с употреблением алкоголя в период беременности, можно сказать, что он высок для развития ВРГН, особенно среди детей с различиями аллелей в локусе MSX1. Shaw и Lammer, изучив взаимосвязь между количеством употребляемого алкоголя и риском развития орофациальных расщелин, отметили увеличение риска развития несиндромных и синдромных расщелин с увеличением количества употребляемого алкоголя в период гестации [37].

**Табакокурение.** При изучении роли табакокурения были получены несколько противоречивые данные, но не в отношении влияния табакокурения на развитие орофациальных расщелин, а в определении типа расщелины. Так, Shaw и

соавторы исследовали, в какой степени курение родителей до и в период зачатия связано с риском появления у потомства орофациальной расщелины [38]. Была также изучена роль генетических вариаций участка TGF $\alpha$  на взаимосвязь табакокурения и формирования орофациальной расщелины. Данные, полученные авторами, свидетельствуют, что табакокурение матери существенно увеличивает риск развития изолированных расщелин верхней губы и неба. Риск возникновения расщелин был связан с TGF $\alpha$  аллелью.

Wyszynski и соавторы (1997) выполнили математический анализ и обнаружили слабую, однако статистически существенную связь между материнским курением в течение первого триместра беременности и риском рождения ребенка с врожденной расщелиной верхней губы и неба [39].

Основываясь на популяционных исследованиях частоты ВРГН в Дании, Christensen и соавторы исследовали роль табакокурения и взаимосвязь с TGF $\alpha$  аллелью в этнически однородных группах [40]. Табакокурение было причиной умеренно повышенного риска сочетанных расщелин верхней губы и/или неба, но не влияло на риск развития изолированных расщелин неба. При этом, в отличие от данных, полученных Romitti и соавторами [36], генотип TGF $\alpha$  не был связан с какой-либо ВРГН, равно как не было обнаружено синергического эффекта с табакокурением.

Обширное популяционное исследование выполнили Lieff и соавторы [41]. Была дана оценка множеству факторов, потенциально участвующих в развитии расщелины, включая диету, дополнительное употребление фолиевой кислоты и семейный анамнез. Авторы выявили взаимосвязь между табакокурением и появлением детей с врожденными синдро-



мальными расщелинами верхней губы и/или неба.

Chung и соавторы, проанализировав данные о 3 891 494 новорожденных, занесенных в американскую национальную базу данных, начиная с 1996 г. [42], выявили взаимосвязь между количеством сигарет, выкуриваемых матерью в период беременности, и рождением ребенка с орофациальной расщелиной. Причем увеличение количества выкуриваемых сигарет сопровождалось значительным увеличением риска рождения ребенка с расщелиной.

Таким образом, воздействие курения на образование расщелины доказано и достаточно изучено.

**Фолиевая кислота.** У женщин, принимающих в период зачатия, витамины, содержащие фолиевую кислоту, доказано снижение риска рождения детей с орофациальными расщелинами [43]. Фолиевая кислота обычно используется для предотвращения врожденных дефектов производных хорды [44]. Hayes и соавторы не подтверждают мнение о протекторном действии фолиевой кислоты в период зачатия относительно риска рождения детей с орофациальными расщелинами [45]. И наоборот, дальнейшее подтверждение протекторной роли фолиевой кислоты было приведено Werler и соавторами [46]. Описаны статистически достоверные взаимосвязи между использованием фолиевой кислоты, начатым после зачатия, и снижением риска развития орофациальных расщелин.

Czeizel и соавторы представили данные, основанные на статистическом анализе в популяции, что высокие фармакологические дозы только фолиевой кислоты (6 мг/сут) в критический период развития первичного и вторичного неба эффективны для уменьшения формирования орофациальных расщелин [47]. Ежедневный

прием фолиевой кислоты в период зачатия в нормальной дозе (менее 1 мг/сут) не уменьшает вероятность формирования орофациальных расщелин.

Shaw и соавторы исследовали потенциальные связи, возникающие между детским TGF $\alpha$  генотипом, применением матерью мультивитаминов и риском развития в фенотипе орофациальных расщелин [48]. Сравнив детские гомозиготные TGF $\alpha$  генотипы, выявили повышенный риск развития ВРГН у детей с A2 генотипом (гомо- или гетерозиготным) и у детей, чьи матери не принимали поливитамины.

Метилентетрагидрофолатредуктаза (МТГФР (MTHFR)) — ключевой фермент в метаболизме фоллатов и залог того, что использование матерью мультивитаминов с фолиевой кислотой в первом триместре беременности снижает риск орофациальных расщелин. Shaw и соавторы [49] предположили, что дети, гомозиготные по C677T MTHFR (МТГФР) аллели, подвержены риску развития ВРГН потому, что у них низкая активность фермента МТГФР. Это не означает снижения риска появления ВРГН среди гомозиготных детей по C677T генотипу и также не показывает взаимосвязи между рождением таких детей и приемом матерью мультивитаминов, и частотой ВРГН.

И, наконец, нами была показана высокая частота мутаций МТГФР у матерей детей с ВРГН в сравнении с пациентами контрольной группы [50].

Эти результаты доказывают влияние фоллатов на этиологию ВРГН.

**Стероиды.** Кортикостероиды — препараты неотложной помощи, применяемые для лечения различных состояний женщин репродуктивного возраста. Роль кортикостероидов в развитии орофациальных расщелин на моделях животных хорошо изучена. Послед-

ние исследования позволили установить связь между применением кортикостероидов женщинами в период зачатия (1 мес до и 3 мес после зачатия) и рождением ребенка с врожденными аномалиями. Carmichael и Shaw указали на повышение риска развития несиндромных ВРГН и ВРН [51]. Park-Wyllie и соавторы также продемонстрировали, что хотя преднизолон не оказывает выраженного тератогенного действия в терапевтических дозах [52], он повышает риск развития орофациальных расщелин при увеличении дозы, что соответствует данным, полученным при исследовании на животных.

**Антиконвульсанты.** Достаточно хорошо изучено и описано в литературе повышение риска появления врожденных дефектов при применении антиконвульсантов: гидантоинов, оксазолидиндионов и вальпроевой кислоты [53]. Все три группы этих лекарственных препаратов приводят к появлению ВРГН и других многообразных тяжелых эмбриопатий. Значительное увеличение рождения детей с ВРН было отмечено у матерей, принимавших бензодиазепины, тогда как увеличение риска рождения детей с сочетанными расщелинами и расщелиной верхней губы было незначительным [54]. Safra и Oakley доказали связь между ВРГН и применением диазепам в первом триместре беременности [55]. Czeizel изучал тератогенность бензодиазепинов в целом [56]. Несмотря на то, что диазепам обладает слабым тератогенным действием, доказанным на восприимчивых мышах при использовании больших доз, его влияние на развитие органов челюстно-лицевой области у человека, вероятно, незначительно или несущественно.

Хорошо известно, что женщины с эпилепсией подвержены риску появления потомства с орофациальными рас-



щелинами. Этот риск приписывается в большей мере тератогенному эффекту противоэpileптических препаратов. Другим фактором риска является эпилепсия как таковая либо лежащие в основе эпилепсии генетические дефекты [57].

В недавних исследованиях нами были показаны множественные взаимодействия между  $\beta 3$  рецепторами (ГАМКР  $\beta 3$ ) гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и ВРГН [58]. Это дало повод предположить, что ген ГАМКР  $\beta 3$  связан с этим врожденным пороком. Мишенью бенздиазепинов является ГАМКР, но у наших пациентов не было отмечено неврологических заболеваний. В аналогичных исследованиях было показано, что ген ГАД1 (GAD1), который кодирует ГАМК-продуцирующий фермент, не связан с развитием ВРГН.

**Антикоагулянты.** Впервые причастность аспирина, принимаемого в течение первого триместра беременности, в развитии орофациальной расщелины была предположена Saxen [59]. Однако многочисленные последующие исследования на животных, а также эпидемиологические данные о ВРГН у человека не выявили прямого и очевидно неблагоприятного влияния аспирина на беременность и процесс формирования плода [60].

Таким образом, современные эпидемиологические исследования доказывают взаимосвязь между некоторыми факторами среды (алкоголь, курение, антиконвульсанты, стероиды), воздействующими на протяжении беременности, и риском развития орофациальных расщелин. С другой стороны, установлено защитное действие, оказываемое фолиевой кислотой. При этом не выявлено достоверной взаимосвязи между приемом аспирина и развитием ВРГН. Следует отметить, что, несмотря на очевидность приведенных дан-

ных, молекулярные механизмы, благодаря которым осуществляется воздействие рассмотренных факторов, остаются неизвестными.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Fraser F. C. The genetics of cleft lip and cleft palate // *Am. J. Hum. Genet.* — 1970. — Vol. 22, N 3. — P. 336-352.
2. An epidemiological and genetic study of facial clefting in France. I Epidemiological and frequency in relatives / C. Bonaiti-Pellie, M. L. Briard, J. Feingold, F. Demenais // *J. Med. Genet.* — 1982. — Vol. 11. — P. 374-377.
3. Fogh-Andersen P. Inheritance of harelip and cleft palate. — Copenhagen: Nyt nordisk forlag Arnold Busck, 1942. — 266 p.
4. Ferguson M. W. Palate development // *Development.* — 1988. — Vol. 103 Suppl. — P. 41-60.
5. Hanson J. W. Risk of the offspring of women treated with hydantoin anticonvulsant with emphasis on the fetal hydantoin syndrome // *J. Pediatr.* — 1989. — Vol. 4. — P. 662-668.
6. Ott J. Analysis of Human Genetic Linkage. — 3<sup>rd</sup> edition. — Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1999. — 382 p.
7. Spielman R. S., McGinnis R. E., Ewens W. J. Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) // *Am. J. Hum. Genet.* — 1993. — Vol. 52, N 3. — P. 506-516.
8. Weeks D. E., Lange K. The affected-pedigree-member method of linkage analysis // *Am. J. Hum. Genet.* — 1988. — Vol. 42, N 2. — P. 315-326.
9. Prescott N. J., Winter R. M., Malcolm S. Nonsyndromic cleft lip and palate: complex genetics and environmental effects // *Ann. Hum. Genet.* — 2001. — Vol. 65, Pt. 6. — P. 505-515.
10. Genetics of nonsyndromic cleft lip and palate: a review of international studies and data regarding the Italian population / F. Carinci, F. Pezzetti, L. Scapoli et al. // *Cleft Palate Craniofac J.* — 2000. — Vol. 37, N 1. — P. 33-40.
11. Wyszynski D. F., Beaty T. H., Maestri N. E. Genetics of nonsyndromic oral clefts revisited // *Cleft Palate Craniofac J.* — 1996. — Vol. 33, N 5. — P. 406-417.
12. Murray J. C. Face facts: genes, environment, and clefts // *Am. J. Hum. Genet.* — 1995. — Vol. 57, N 2. — P. 227-232.
13. Carter C. O. Genetics of common single malformations // *Br. Med. Bull.* — 1976. — Vol. 32, N 1. — P. 21-26.

14. Cleft lip+/-cleft palate: an overview of the literature and an analysis of Danish cases born between 1941 and 1968 / M. Melnick, D. Bixler, P. Fogh-Andersen, P. M. Conneally // *Am. J. Med. Genet.* — 1980. — Vol. 6, N 1. — P. 83-97.

15. Ray A. K., Field L. L., Marazita M. L. Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in west Bengal, India: evidence for an autosomal major locus // *Am. J. Hum. Genet.* — 1993. — Vol. 52, N 5. — P. 1006-1011.

16. Cleft lip with or without cleft palate in Shanghai, China: evidence for an autosomal major locus / M. L. Marazita, D. N. Hu, M. A. Spence et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1992. — Vol. 51, N 3. — P. 648-653.

17. Complex segregation analysis of nonsyndromic cleft lip and palate / J. T. Hecht, P. Yang, V. V. Michels, K. H. Buetow // *Am. J. Hum. Genet.* — 1991. — Vol. 49, N 3. — P. 674-681.

18. De Paepe A. Dominantly inherited cleft lip and palate // *J. Med. Genet.* — 1989. — Vol. 26, N 12. — P. 794.

19. Dominantly inherited cleft lip and palate in two families / K. Temple, M. Calvert, D. Plint et al. // *J. Med. Genet.* — 1989. — Vol. 26, N 6. — P. 386-389.

20. Segregation analysis of cleft lip with or without cleft palate: a comparison of Danish and Japanese data / C. S. Chung, D. Bixler, Watanabe T. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1986. — Vol. 39, N 5. — P. 603-611.

21. Marazita M. L., Spence M. A., Melnick M. Major gene determination of liability to cleft lip with or without cleft palate: a multiracial view // *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol. Suppl.* — 1986. — Vol. 2. — P. 89-97.

22. Marazita M. L., Spence M. A., Melnick M. Genetic analysis of cleft lip with or without cleft palate in Danish kindreds // *Am. J. Med. Genet.* — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 9-18.

23. Mitchell L. E., Risch N. Mode of inheritance of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: a reanalysis // *Am. J. Hum. Genet.* — 1992. — Vol. 51, N 2. — P. 323-332.

24. Farrall M., Holder S. Familial recurrence-pattern analysis of cleft lip with or without cleft palate // *Am. J. Hum. Genet.* — 1992. — Vol. 50, N 2. — P. 270-277.

25. Christensen K., Mitchell L. E. Familial recurrence-pattern analysis of nonsyndromic isolated cleft palate — Danish Registry study // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — Vol. 58, N 1. — P. 182-190.



26. FitzPatrick D., Farrall M. An estimation of the number of susceptibility loci for isolated cleft palate // *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.* — 1993. — Vol. 13, N 4. — P. 230-235.
27. Shields E. D., Bixler D., Fogh-Andersen P. Cleft palate: a genetic and epidemiologic investigation // *Clin. Genet.* — 1981. — Vol. 20, N 1. — P. 13-24.
28. Woolf C. M., Woolf R. M., Broadbent T. R. A genetic study of cleft lip and palate in Utah // *Am. J. Hum. Genet.* — 1963. — Vol. 15. — P. 209-215.
29. Christensen K., Fogh-Andersen P. Etiological subgroups in non-syndromic isolated cleft palate. A genetic-epidemiological study of 52 Danish birth cohorts // *Clin. Genet.* — 1994. — Vol. 46, N 5. — P. 329-335.
30. Association of transforming growth-factor alpha gene polymorphisms with nonsyndromic cleft palate only (CPO) / R. Shiang, A. C. Lidral, H. H. Ardinger et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1993. — Vol. 53, N 4. — P. 836-843.
31. Association of MSX1 and TGFβ3 with nonsyndromic clefting in humans / A. C. Lidral, P. A. Romitti, A. M. Basart et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 63, N 2. — P. 557-568.
32. Diehl S. R., Erickson R. P. Genome scan for teratogen-induced clefting susceptibility loci in the mouse: evidence of both allelic and locus heterogeneity distinguishing cleft lip and cleft palate // *Proc Natl Acad Sci USA.* — 1997. — Vol. 94, N 10. — P. 5231-5236.
33. Refined mapping and YAC contig construction of the X-linked cleft palate and ankyloglossia locus (CPX) including the proximal X-Y homology breakpoint within Xq21.3 / S. A. Forbes, L. Brennan, M. Richardson et al. // *Genomics.* — 1996. — Vol. 31, N 1. — P. 36-43.
34. Maternal alcohol use in relation to selected birth defects / M. M. Werler, E. J. Lammer, L. Rosenberg, A. A. Mitchell // *Am. J. Epidemiol.* — 1991. — Vol. 134, N 7. — P. 691-698.
35. Maternal alcohol use and risk of orofacial cleft birth defects / R. G. Munger, P. A. Romitti, S. Daack-Hirsch // *Teratology.* — 1996. — Vol. 54, N 1. — P. 27-33.
36. Candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate and maternal cigarette smoking and alcohol consumption: evaluation of genotype-environment interactions from a population-based case-control study of orofacial clefts / P. A. Romitti, A. C. Lidral, R. G. Munger // *Teratology.* — 1999. — Vol. 59, N 1. — P. 39-50.
37. Shaw G. M., Lammer E. J. Maternal periconceptional alcohol consumption and risk for orofacial clefts // *J. Pediatr.* — 1999. — Vol. 134, N 3. — P. 298-303.
38. Orofacial clefts, parental cigarette smoking, and transforming growth factor-alpha gene variants / G. M. Shaw, C. R. Wasserman, E. J. Lammer et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — Vol. 58, N 3. — P. 551-561.
39. Wyszynski D. F., Duffy D. L., Beaty T. H. Maternal cigarette smoking and oral clefts: a meta-analysis // *Cleft Palate Craniofac. J.* — 1997. — Vol. 34, N 3. — P. 206-210.
40. Oral clefts, transforming growth factor alpha gene variants, and maternal smoking: a population-based case-control study in Denmark, 1991-1994 / K. Christensen, J. Olsen, B. Norgaard-Pedersen et al. // *Am. J. Epidemiol.* — 1999. — Vol. 149, N 3. — P. 248-255.
41. Maternal cigarette smoking during pregnancy and risk of oral clefts in newborns / S. Lieff, A. F. Olshan, M. Werler et al. // *Am. J. Epidemiol.* — 1999. — Vol. 150, N 7. — P. 683-694.
42. Maternal cigarette smoking during pregnancy and the risk of having a child with cleft lip/palate / K. C. Chung, C. P. Kowalski, H. M. Kim et al. // *Plast. Reconstr. Surg.* — 2000. — Vol. 105, N 2. — P. 485-491.
43. Risks of orofacial clefts in children born to women using multivitamins containing folic acid periconceptionally / G. M. Shaw, E. J. Lammer, C. R. Wasserman et al. // *Lancet.* — 1995. — Vol. 346, N 8972. — P. 393-396.
44. Czeizel A. E., Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation // *N. Engl. J. Med.* — 1992. — Vol. 327, N 26. — P. 1832-1835.
45. Case-control study of periconceptional folic acid supplementation and oral clefts / C. Hayes, M. M. Werler, W. C. Willett, A. A. Mitchell // *Am. J. Epidemiol.* — 1996. — Vol. 143, N 12. — P. 1229-1234.
46. Multivitamin supplementation and risk of birth defects / M. M. Werler, C. Hayes, C. Louik et al. // *Am. J. Epidemiol.* — 1999. — Vol. 150, N 7. — P. 675-682.
47. Czeizel A. E., Timar L., Sarkozi A. Dose-dependent effect of folic acid on the prevention of orofacial clefts // *Pediatrics.* — 1999. — Vol. 104, N 6. — P. e66.
48. Infant TGF-alpha genotype, orofacial clefts, and maternal periconceptional multivitamin use / G. M. Shaw, C. R. Wasserman, J. C. Murray, E. J. Lammer // *Cleft Palate Craniofac. J.* — 1998. — Vol. 35, N 4. — P. 366-370.
49. Infant C677T mutation in MTHFR, maternal periconceptional vitamin use, and cleft lip / G. M. Shaw, R. Rozen, R. H. Finnell // *Am. J. Med. Genet.* — 1998. — Vol. 80, N 3. — P. 196-198.
50. C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers? / M. Martinelli, L. Scapoli, F. Pezzetti et al. // *Am. J. Med. Genet.* — 2001. — Vol. 98, N 4. — P. 357-360.
51. Carmichael S. L., Shaw G. M. Maternal corticosteroid use and risk of selected congenital anomalies // *Am. J. Med. Genet.* — 1999. — Vol. 86, N 3. — P. 242-244.
52. Birth defects after maternal exposure to corticosteroids: prospective cohort study and meta-analysis of epidemiological studies / L. Park-Wyllie, P. Mazzotta, A. Pastuszak et al. // *Teratology.* — 2000. — Vol. 62, N 6. — P. 385-392.
53. Gorlin R. J., Cohen M., Levin S. Syndromes of the Head and Neck. — 3rd edition. — N. Y.: Oxford University Press, 1990. — 977 p.
54. Saxen I. Associations between oral clefts and drugs taken during pregnancy // *Int. J. Epidemiol.* — 1975. — Vol. 4, N 1. — P. 37-44.
55. Safra M. J., Oakley G. P. Jr Association between cleft lip with or without cleft palate and prenatal exposure to diazepam // *Lancet.* — 1975. — Vol. 2, N 7933. — P. 478-480.
56. Czeizel A. Lack of evidence of teratogenicity of benzodiazepine drugs in Hungary // *Reprod. Toxicol.* — 1988. — Vol. 1, N 3. — P. 183-188.
57. Durner M., Greenberg D. A., Delgado-Escueta A. V. Is there a genetic relationship between epilepsy and birth defects? // *Neurology.* — 1992. — Vol. 42, N 4, Suppl 5. — P. 63-67.
58. Linkage disequilibrium between GABRB3 gene and nonsyndromic familial cleft lip with or without cleft palate / L. Scapoli, M. Martinelli, F. Pezzetti et al. // *Hum Genet.* — 2002. — Vol. 110, N 1. — P. 15-20.
59. Saxen I. Prolonged in vitro closure of the mouse secondary palate by salicylates // *Scand. J. Dent. Res.* — 1975. — Vol. 83, N 1. — P. 202-208.
60. Corby D. G. Aspirin in pregnancy: maternal and fetal effects // *Pediatrics.* — 1978. — Vol. 62, N 5. Pt. 2. Suppl. — P. 930-937.

