



УДК 616.315-007.254-055.7-036.22

Ф. Каринчи¹, Н. Олейник², Ф. Педзетти³, М. Мартинелли⁴,
А. Авантаджиато¹, П. Каринчи³, Э. Падула⁵, У. Бачильеро⁵, Ф. Гомбос⁶,
Г. Лейно⁶, Р. Рулло⁶, Р. Чензи⁷, Ф. Карлс⁸, Л. Скаполи⁴

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННЫХ РАСЩЕЛИН ВЕРХНЕЙ ГУБЫ И НЕБА: КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Сообщение 3

¹Кафедра челюстно-лицевой хирургии, школа медицины университета г. Феррара (Феррара, Италия); ²Кафедра челюстно-лицевой хирургии Одесского государственного медицинского университета (Одесса, Украина); ³Центр молекулярной генетики, Фонд CARISBO, Институт гистологии и общей эмбриологии, школа медицины университета г. Болонья (Болонья, Италия); ⁴Департамент морфологии и эмбриологии, секция гистологии и эмбриологии, Центр биотехнологии университета г. Феррара (Феррара, Италия); ⁵Отдел челюстно-лицевой хирургии, Гражданский госпиталь (Виченца, Италия); ⁶Дентальная клиника, Второй университет г. Неаполя (Неаполь, Италия); ⁷Кафедра челюстно-лицевой хирургии, Гражданский госпиталь г. Ровиго (Ровиго, Италия); ⁸Кафедра челюстно-лицевой хирургии, Госпиталь Джона Редклифа (Оксфорд, Великобритания)

Хромосома 1

В настоящее время, по данным сцепленного анализа и цитогенетических исследований, получены убедительные доказательства того, что некоторые локусы/гены, расположенные в различных областях хромосомы 1, критичны в формировании несиндромных орофациальных расщелин. Eiberg и соавторы обнаружили метку LOD 1.517 с PGD1 геном (на 1p36), анализируя 58 датских семейств [1]. Позже, изучая весь геном на 92 родственных семействах, Prescott и соавторы выявили многоочечную непараметрическую сцепленность, величина которой 2.35

между маркерами D1S214 и D1S2697, расположенными в 1p36 локусе [2].

Dasouki и соавторы идентифицировали транслокацию между хромосомами 1 и 22 у ребенка с серьезной двусторонней кривой расщелиной лица [3]. Однако существуют свидетельства против связи орофациальных расщелин и маркера D1S104, отмеченного на 1q21, полученные Pierpont и соавторами [4].

Метилентетрагидрофолатредуктаза отображена на 1q36 локусе и есть ключевым ферментом метаболизма фолиевой кислоты. С677Т мутация МТГФР кодирует термоллабильность фермента с уменьшени-

ем активности. Эта характеристика связана с повышением в плазме уровня гомоцистеина и снижением уровня фолатов из-за уменьшения активности МТГФР [5]. Tolagova и соавторы, анализируя С677Т полиморфизм в аргентинских случаях, показал, что эмбриональная гомозигота (ТТ) встречалась в три раза чаще по сравнению с контрольными наблюдениями [6]. Mills и соавторы, исследуя случаи орофациальной расщелины в Ирландии, обнаружили, что гомозиготы для общего связанного с фолатами полиморфизма ассоциированы с термоллабильной формой МТГФР значительно ча-



ще у пациентов с ВРГН и спорадически — у пациентов с ВРН [7].

C677T мутация МТГФР отвечает за генетический код термоллабильного фермента со сниженной активностью. Эта сцепленная неустойчивость не была найдена Gaspar и соавторами, которые анализировали механизмы ее передачи наследственным путем [8]. Исследование показало, что МТГФР полиморфная система не была Hardy-Weinberg уравновешена среди матерей пациентов с ВРГН. Авторы предположили, что гомозиготность для каждой Т или С аллели C677T полиморфизма у женщин создает восприимчивость к ВРН; и предположили, что СТ гетерозиготы могли бы иметь преимущество в сравнении с гомозиготами в отношении этой особенности.

Wong и соавторы отметили, что материнская гипергомоцистемия может являться фактором риска в появлении потомства с ВРГН [9]. Интересно предположение, что гипергомоцистемия — один из эффектов снижения активности МТГФР.

В 2001 г. нами была показана существенно более высокая частота мутации МТГФР у матерей пациентов с ВРГН по сравнению с контрольной группой. Эти данные подтверждают роль фолатов в этиологии ВРГН и показывают более значительное, чем предполагалось, влияние материнского генотипа, чем роль генотипа эмбриона [10].

Хромосома 2

Ardinger и соавторы описали связь между ограничением полиморфизма длины фрагмента и TGF α локусом, которое отмечено на коротком плече хромосомы 2, локусом 2p13 и ВРГН [11]. Этот локус был условно назван OFC2 (ОФР2). Связь между специфической С2 аллелью TGF α локуса Taq I была установле-

на рядом авторов [12–15], хотя некоторые исследователи не нашли этому подтверждения [16; 17]. Jara и соавторы выявили связь с Bam HI аллелью [16]. Поскольку ассоциация в популяции может наблюдаться даже для несцепленных участков, демонстрация сцепленности могла бы помочь определить роль TGF α на ранних этапах развития ВРГН. Авторы четырех различных исследований не выявили сцепленности [18–21]. Для ВРГН характерна генетическая гетерогенность [22; 23], поэтому неудача определения TGF α сцепленности могла быть результатом незначительного количества исследованных семей [24]. Между тем, Feng и соавторы обнаружили существенные положительные неустойчивые сцепленности с аллелью С2 [25]. Недавно Mitchell (1997) показал наличие связи между TGF α и ВРГН, но автор не подтвердил результат данного исследования документально, так как наблюдал генетическую гетерогенность [26]. Напротив, Shaw и соавторы не обнаружили связи между TGF α и ВРГН, хотя исследование было проведено на большой популяции [27]. В этом случае авторы не выявили связи между материнским курением и TGF α генетическим вариантом как фактором риска развития расщелины.

В нашем предыдущем исследовании неустойчивая сцепленность между TGF α Taq I полиморфизмом и ВРГН обнаружена не была [28]. В последующих исследованиях [29], включающих 38 семей, мы нашли сцепленность ОФР2 с теми же образцами, которые ранее анализировались для 6p23 локуса (названного OFC1(ОФР1)) [22]. Нами были представлены доказательства генетической гетерогенности в исследованных семьях, а также показано, что маркеры в локусе 2p13 близко сцеплены с ВРГН

в 14 семьях. Полученные результаты позволили сделать вывод, что ген в 2p13 локусе играет существенную роль в этиологии развития ВРГН. В настоящее время не совсем ясно, почему самая высокая вероятность локализации этого гена отмечается вблизи D2S378, а найденный маркер расположен не так близко к TGF α . Возможным объяснением данного результата может быть тот факт, что TGF α не есть геном, восприимчивым к ВРГН в 2p13 локусе, как показано в исследованиях ассоциации. В действительности, TGF α мог быть только соседним геном.

В предыдущих исследованиях Shiang и соавторы показали достоверные связи между аллелями TGF α и ВРН [30]. Однако дополнительных подтверждений и данных о наличии связи между TGF α и ВРН получено не было.

Хромосома 4

Данные о сцепленности между несиндромными ВРГН и маркерами на длинном плече хромосомы 4q25 свидетельствуют, что чувствительный к развитию расщелин локус находится вне этой области [31]. Дальнейшие исследования локуса от 4q25 до 4q31.3 были представлены Mitchell и соавторами [32]. По результатам недавних исследований, участие локуса от 4q25 до 4q31.3 было исключено [33]. В исследовании Lidral и соавторов предполагалась возможная роль MSX1 (локализованного на 4q16) в развитии несиндромных расщелин, однако в кодированной области данного гена были обнаружены не связанные с развитием этой патологии мутации [34; 35]. В дополнение к этому предварительные данные подтверждают взаимодействие между факторами окружающей среды и MSX1. Действительно, риск проявления ВРГН или ВРН, связанный с материнским ку-



рением и употреблением алкоголя в период беременности, увеличивается в результате взаимодействия между внешним воздействием и специфическим аллельным вариантом MSX1 гена [36]. Интересно, что MSX1 мутации были отмечены при неправильном развитии зубов и ВРГН или ВРН [37] либо неправильном развитии зубов без расщелины [38]. Принимая во внимание тот факт, что адентия обнаруживалась у пациентов с ВРГН, возможно, что MSX1 коррелирует с синдромными формами орофациальных расщелин, включая пороки развития зубов [39].

Хромосома 6

Многие исследователи изучали локализацию наиболее вероятного для развития ВРГН гена на хромосоме 6 (т. н. ОФР1 (OCF1)). Это заслуживает внимания, поскольку развитие мальформаций челюстно-лицевой области связано с хромосомными абберациями, касающимися короткого плеча хромосомы 6(6p) [40; 41]. В недавнем исследовании Davies и соавторы описали 3 пациентов с орофациальными расщелинами с аномалиями 6p хромосомы (2 пропорциональные транслокации и одна делеция) [42]. Анализируя дрожжевые клоны, транспортирующие искусственные хромосомы, они определили локус врожденных расщелин внутри 6p24.3 области возле HGP22 и AP2 генов, которые потенциально вовлечены в развитие орофациальных мальформаций.

Некоторые авторы, используя сцепленный анализ, получили противоречащие результаты для различных областей. Локус человеческого лейкоцитарного антигена, отмеченный в 6p21.3, показал как отрицательный [43; 44], так и положительный результат [45].

Eiberg и соавторы обнаружили сцепленность 6p24 об-

ласти F13A локуса, анализируя полиморфизм белков крови пациентов в семьях с очевидной доминантной наследственностью [1]. Напротив, сцепленности между ВРГН и 6p областью (между антигенами человеческих лейкоцитов и F13A локусами) не обнаружено тремя независимыми группами исследователей [33; 46; 47]. В ходе предварительного изучения 21 итальянской семьи с несиндромными орофациальными расщелинами была установлена достоверность генетической гетерогенности и сцепленность 6p23 области; действительно, 14 из 21 семейного исследования показали достоверность в отношении 6p23 области [48]. Это свидетельствует о присутствии локуса ВРГН в этой области, однако комплексная природа данной патологии и ограниченное количество изученных семей требуют дополнительного подтверждения.

Позже генетическая гетерогенность и сцепленность локуса ВРГН (OFC1), отмеченная в 6p23 на хромосоме, была подтверждена изучением на 38 семьях [22].

Поскольку на моделях животных получены доказательства того, что эндотелиин-1 мог участвовать в процессе развития орофациальных расщелин, была проанализирована сцепленность EDN1-связанных генов в отобранном образце, состоящем из семейств с 6p23-несцепленными, многочисленными орофациальными расщелинами [49]. Несмотря на интересные данные исследований на мышах, результаты этого исследования исключили возможность того, что эндотелиин-превращающий фермент 1, эндотелиин-А рецептор и эндотелиин-В рецептор могли играть существенную роль в этиологии несиндромных семейных орофациальных расщелин у человека. Данные, предлагающие исключение EDN1 причастности

в развитии орофациальных расщелин у человека, были также получены в результате анализа мутации гена [50].

Хромосома 11

Sozen и соавторы показали существенную связь между гетерозиготностью вследствие беспорядочных мутаций PVRL1, W185X и спорадическими несиндромными ВРН в северной Венесуэле [51]. Тот же самый ген, вероятно, ответственен за аутосомально-рецессивный CLP-синдром эктодермальной дисплазии (CLPED1). PVRL1, расположенный в 11q23 области хромосомы, кодирует nectin-1, an immunoglobulin-related transmembrane cell-cell adhesion molecule. Nectin-1 — также основной рецептор поверхности для клетки вируса герпеса α . Высокая частота CLPED1 на Острове Маргариты в Карибском море могла быть следствием резистентности гетерозиготы к инфицированию этим вирусом [52].

Хромосома 14

Роль TGF β 3 выяснилась при исследовании на животных. Недавно обнаружено нарушение сцепленности для TGF β 3. Была предположена этиологическая роль этих генов [34; 53]. Нами получены только ограниченные результаты исследования TGF β 3 локуса (14q24); таким образом, мы не можем определить, влияет ли этот ген на этиологию орофациальных расщелин в нашем примере [54].

Хромосома 17

Chenevix-Trench и соавторы выявили достоверное различие между пациентами с несиндромными ВРГН и данными независимых контрольных показателей частоты аллелей рестрикта полиморфного отрезка α -рецепторов ретиноевой кислоты Pst 1, локализованного в 17q21.1 [13]. Авторами были проведены границы, существенно отличаю-



щиеся у пациентов с ВРГН и ВРН. Shaw и соавторы, используя сцепленный анализ, привели независимые доказательства того, что гены в области α -рецепторов ретиноевой кислоты или генетические изменения локуса участвуют в формировании орофациальных расщелин [55]. Были найдены существенные различия в D17S579 аллели (маркер-микросателлит недалеко от α -рецепторов ретиноевой кислоты) между ВРГН и ВРН. Сделан вывод, что α -рецепторы ретиноевой кислоты или соседние локусы действуют, главным образом, в качестве модификаторов тяжелых расщелин верхней губы и неба. Напротив, Vintiner и соавторы [46], а также Stein и соавторы [56] не выявили сцепленности между α -рецепторами ретиноевой кислоты и ВРГН, и, соответственно, исключили какие-либо связи между α -рецепторами ретиноевой кислоты и ВРГН. Mitchell (1994) обратил внимание на тот факт, что в данном случае несостоятельно отвергать существующую гипотезу на основе недоказанных фактов наличия взаимосвязи [57]. Наши исследования, основанные на изучении семейных случаев, даже при небольшой их статистической достоверности подтверждают роль генов α -рецепторов ретиноевой кислоты в формировании врожденных орофациальных расщелин. Аналогичные результаты были получены Maestri и соавторами [53].

Хромосома 19

Stein и соавторы исследовали возможное участие 23 различных генов при ВРГН [23]. Проведенный анализ показал гетерогенность локуса и определил сцепленность с BCL3, протоонкогеном, отмеченным на 19q13.2 локусе, всего для 17 из 39 исследованных семей. На модели при условии гетерогенности и сниженной пенетрации авторы

нашли максимально многоочечный уровень детализации отметки 1.85 для ApoC2. Этот дополнительный локус был условно назван ОФР3 (OFC3).

Последующий анализ 30 спорадических случаев ВРГН и родителей больных детей доказал отсутствие сцепленности между BCL3 аллелями и ВРГН [58–60]. Используя независимые выборочные данные, составленные из 30 американских и 11 мексиканских семей, Wyszynski и соавторы исследовали локус BCL3 [59].

В более поздних исследованиях нами была обнаружена сцепленность с D19S574, высокополиморфным маркером, тесно сцепленным с геном BCL3 [61]. Таким образом, BCL3 или близлежащий ген может быть вовлечен в формирование врожденных пороков развития лицевого скелета. Однако трудности в формировании сцепленности показывают, что ген 19q13.2 не основной в развитии орофациальных расщелин, по крайней мере, не в исследованных нами семьях. Хотя предполагаемая роль BCL3 в этиологии ВРГН остается утвердившимся мнением, модификация или дополнение может быть полезным.

Хромосома X

В 1987 г. Моог и соавторы описали субхромосомную локализацию единичного дефекта гена в большом исландском семействе, являющегося причиной расщелины неба и анкилоглоссии в q13 через q21 области хромосомы X. Использовался метод полиморфизма длины фрагментов рестрикции [62]. В серии исследований, проведенных на исландских семьях и коренных жителях Британской Колумбии, выявлен локус, несущий ген [63–67]. Локус расположен в Xq21.3, а DXS1196 и DXS1217 были фланкирующими маркерами. Наконец, Graybrook и соавторы показали, что расце-

лина неба, сцепленная с хромосомой X, вызвана мутациями в гене, кодирующем фактор транскрипции Т-бокса TBX22 [68], который играет существенные роли в процессе органогенеза, особенно в спецификации мезодермы.

ЦИТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на то, что предполагаемая роль внеклеточного матрикса (ВКМ) длительное время считалась главной в происхождении ВРГН (в особенности ВРН), некоторые исследователи проанализировали состав и относительное количество различных типов гликозаминогликанов (ГАГ) и коллагена в культуре человеческих клеток при нормальных условиях, а также при стимуляции факторами роста или препаратами, вызывающими расщелины.

Для нормального развития неба необходимо большое количество процессов, которые могут быть задействованы в формировании расщелины, например, собственная модуляция ВКМ. Фактически, как и предполагалось, воздействие, необходимое для подъема небных уступов, обеспечивается количеством гиалуроновой кислоты и в небной мезенхиме. Кроме того, гидратация сети ГАГ стимулирует осмотическое давление, что очень важно для элевации небных уступов [69]. Известно, что в процессе нормального слияния неба и исчезновения швов по средней линии повышается экспрессия протеогликанов и коллагена I [70]. Протеогликаны и их конструкции, в частности, участвуют в поддержании пространственного расположения компонентов ВКМ и коллагена I [71]. Контроль метаболизма ВКМ челюстно-лицевой области эмбриона, таким образом, существенен для нормального развития неба. Молекулы внеклеточного матрикса, в свою очередь, по-



вышают активность факторов роста и цитокинов, присутствующих в эпителиальных клетках и палатинальной мезенхиме [72].

В предшествующих исследованиях Bosi и соавторов (1998) было показано различие между синтезом ГАГ и коллагена небных фибробластов у детей с расщелиной неба и без нее, а также изменения в образцах компонентов ВКМ [73]. Впоследствии были изучены эффекты РНТ на продукцию ВКМ. Воздействие РНТ модифицирует синтез компонентов ВКМ нормальных фибробластов, тогда как не оказывает никакого влияния на продукцию ГАГ в фибробластах при расщелине неба, чей фенотип уже поврежден.

Позже, изучая эффекты $TGF\alpha$, $TGF\beta 1$ и $TGF\beta 3$ на выработку макромолекул ВКМ нормальных фибробластов и при ВРН, *in vitro* были проведены исследования механизмов, которые могут происходить в процессе развития расщелины неба [74]. Были выявлены различия в синтезе и секреции факторов роста и компонентов ВКМ. В заключение предпочтение было отдано гипотезе, что $TGF\beta$ изоформы есть потенциальными индукторами фенотипической экспрессии небных фибробластов на протяжении формирования и что аутокринный механизм фактора роста может нести ответственность за формирование фенотипических модификаций.

Выводы

Несиндромные орофациальные расщелины включают в себя две самостоятельные патологии: врожденные расщелины верхней губы и/или неба и врожденные расщелины неба. И те и другие имеют выраженный генетический базис, в котором определенные факторы окружающей среды способствуют проявлению этих мальформаций. Благода-

ря современным экспериментальным и клинико-лабораторным исследованиям были выявлены несколько локусов и идентифицирован один специфический ген, ответственные за развитие данной патологии. При изучении ВРН также был идентифицирован один ген, однако значительное количество факторов остаются неизученными. На наш взгляд, особый интерес представляет определение комплекса первичных факторов, определяющих формирование верхней губы и неба.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Suggestion of linkage of a major locus for nonsyndromic orofacial cleft with F13A and tentative assignment to chromosome 6* / H. Eiberg, D. Bixler, L. S. Nielsen et al. // *Clin. Genet.* — 1987. — Vol. 32, N 2. — P. 129-132.
2. *Identification of susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in a two stage genome scan of affected sib-pairs* / N. J. Prescott, M. M. Lees, R. M. Winter, S. Malcolm // *Hum. Genet.* — 2000. — Vol. 106, N 3. — P. 345-350.
3. *Translocation (1;22) in a child with bilateral oblique facial clefts* / M. Dasouki, M. Jr. Barr, R. P. Erickson, B. Cox // *J. Med. Genet.* — 1988. — Vol. 25, N 6. — P. 427-429.
4. *Lack of linkage of apparently dominant cleft lip (palate) to two candidate chromosomal regions* / J. W. Pierpont, A. L. Storm, R. P. Erickson et al. // *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.* — 1995. — Vol. 15, N 2. — P. 66-71.
5. *A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase* / P. Frosst, H. J. Blom, R. Milos et al. // *Nat. Genet.* — 1995. — Vol. 10, N 1. — P. 111-113.
6. *Tolarova M., Van Rooij I., Pastor M. A common mutation in the MTHFR gene is a risk factor for nonsyndromic cleft lip and palate anomalies* // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 63, N 27 (Abstract).
7. *Methylenetetrahydrofolate reductase thermolabile variant and oral clefts* / J. L. Mills, P. N. Kirke, A. M. Molloy et al. // *Am. J. Med. Genet.* — 1999. — Vol. 86, N 1. — P. 71-74.
8. *Role of the C677T polymorphism at the MTHFR gene on risk to nonsyndromic cleft lip with/without cleft palate: results from a case-control study in Brazil* / D. A. Gaspar, R. C. Pavanello, M. Zatz et al. // *Am. J. Med.*

Genet. — 1999. — Vol. 87, N 2. — P. 197-199.

9. *Nonsyndromic orofacial clefts: association with maternal hyperhomocysteinemia* / W. Y. Wong, T. K. Eskes, A. M. Kuijpers-Jagtman et al. // *Teratology.* — 1999. — Vol. 60, N 5. — P. 253-257.

10. *Linkage analysis of three candidate regions of chromosome 1 in nonsyndromic familial orofacial cleft* / M. Martinelli, L. Scapoli, F. Pezzetti et al. // *Ann. Hum. Genet.* — 2001. — Vol. 65, N 5. — P. 465-471.

11. *Association of genetic variation of the transforming growth factor-alpha gene with cleft lip and palate* / H. H. Ardinger, K. H. Buetow, G. I. Bell et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1989. — Vol. 45, N 3. — P. 348-353.

12. *Association between alleles of the transforming growth factor-alpha locus and the occurrence of cleft lip* / R. Sassani, S. P. Bartlett, H. Feng et al. // *Am. J. Med. Genet.* — 1993. — Vol. 45, N 5. — P. 565-569.

13. *Cleft lip with or without cleft palate: associations with transforming growth factor alpha and retinoic acid receptor loci* / G. Chenevix-Trench, K. Jones, A. C. Green et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1992. — Vol. 51, N 6. — P. 1377-1385.

14. *Confirmation of an association between RFLPs at the transforming growth factor-alpha locus and nonsyndromic cleft lip and palate* / S. E. Holder, G. M. Vintiner, B. Farren et al. // *J. Med. Genet.* — 1992. — Vol. 29, N 6. — P. 390-392.

15. *Further evidence for an association between genetic variation in transforming growth factor alpha and cleft lip and palate* / G. Chenevix-Trench, K. Jones, A. Green, N. Martin // *Am. J. Hum. Genet.* — 1991. — Vol. 48, N 5. — P. 1012-1013.

16. *Association between alleles of the transforming growth factor alpha locus and cleft lip and palate in the Chilean population* / L. Jara, R. Blanco, I. Chiffelle et al. // *Am. J. Med. Genet.* — 1995. — Vol. 57, N 4. — P. 548-551.

17. *Genetic variation in transforming growth factor alpha: possible association of BamHI polymorphism with bilateral sporadic cleft lip and palate* / C. Stoll, J. F. Qian, J. Feingold et al. // *Hum. Genet.* — 1993. — Vol. 92, N 1. — P. 81-82.

18. *No evidence of linkage for cleft lip with or without cleft palate to a marker near the transforming growth factor alpha locus in two populations* / D. F. Wyszynski, N. Maestri, A. F. Lewanda et al. // *Hum. Hered.* — 1997. — Vol. 47, N 2. — P. 101-109.

19. *Field L. L., Ray A. K., Marazita M. L. Transforming growth factor al-*



pha: a modifying locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate? // *Eur. J. Hum. Genet.* — 1994. — Vol. 2, N 3. — P. 159-165.

20. *No evidence of linkage between the transforming growth factor-alpha gene in families with apparently autosomal dominant inheritance of cleft lip and palate* / G. M. Vintiner, S. E. Holder, R. M. Winter, S. Malcolm // *J. Med. Genet.* — 1992. — Vol. 29, N 6. — P. 393-397.

21. *Cleft lip and palate: no evidence of linkage to transforming growth factor alpha* / J. T. Hecht, Y. P. Wang, S. H. Blanton et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1991. — Vol. 49, N 3. — P. 682-686.

22. *Evidence of linkage to 6p23 and genetic heterogeneity in nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate* / L. Scapoli, F. Pezzetti, F. Carinci et al. // *Genomics.* — 1997. — Vol. 43, N 2. — P. 216-220.

23. *Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: evidence of linkage to BCL3 in 17 multigenerational families* / J. Stein, J. B. Mulliken, S. Stal et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1995. — Vol. 57, N 2. — P. 257-272.

24. *Farrall M., Buetow K. H., Murray J. C. Resolving an apparent paradox concerning the role of TGFA in CL/P* // *Am. J. Hum. Genet.* — 1993. — Vol. 52, N 2. — P. 434-437.

25. *Evidence, from family studies, for linkage disequilibrium between TGFA and a gene for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate* / H. Feng, R. Sassani, S. P. Bartlett et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1994. — Vol. 55, N 5. — P. 932-936.

26. *Mitchell L. E. Transforming growth factor alpha locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: a reappraisal* // *Genet. Epidemiol.* — 1997. — Vol. 14, N 3. — P. 231-240.

27. *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.

28. *Lack of linkage disequilibrium between transforming growth factor alpha Taq I polymorphism and cleft lip with or without cleft palate in families from Northeastern Italy* / L. Scapoli, F. Pezzetti, F. Carinci et al. // *Am. J. Med. Genet.* — 1998. — Vol. 75, N 2. — P. 203-206.

29. *A locus in 2p13-p14 (OFC2), in addition to that mapped in 6p23, is involved in nonsyndromic familial orofacial cleft malformation* / F. Pezzetti, L. Scapoli, M. Martinelli et al. // *Genomics.* — 1998. — Vol. 50, N 3. — P. 299-305.

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. *Possible localization of a major gene for cleft lip and palate to 4q* / S. Beiraghi, T. Foroud, S. Diouhy et al. // *Clin. Genet.* — 1994. — Vol. 46, N 3. — P. 255-256.

32. *Mitchell L. E., Healey S. C., Chenevix-Trench G. Evidence for an association between nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate and a gene located on the long arm of chromosome 4* // *Am. J. Hum. Genet.* — 1995. — Vol. 57, N 5. — P. 1130-1136.

33. *Exclusion of linkage between cleft lip with or without cleft palate and markers on chromosomes 4 and 6* / S. H. Blanton, E. Crowder, S. Malcolm et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — Vol. 58, N 1. — P. 239-241.

34. *Association of MSX1 and TGFB3 with nonsyndromic clefting in humans* / A. C. Lidral, P. A. Romitti, A. M. Barsart et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 63, N 2. — P. 557-568.

35. *Studies of the candidate genes TGFB2, MSX1, TGFA, and TGFB3 in the etiology of cleft lip and palate in the Philippines* / A. C. Lidral, J. C. Murray, K. H. Buetow et al. // *Cleft Palate Craniofac J.* — 1997. — Vol. 34, N 1. — P. 1-6.

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 et al. // *Teratology.* — 1999. — Vol. 59, N 1. — P. 39-50.

37. *MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans* / M. J. van den Boogaard, M. Dorland, F. A. Beemer, H. K. van Amstel // *Nat. Genet.* — 2000. — Vol. 24, N 4. — P. 342-343.

38. *Vastardis H., Karinbux N., Gutha S. A human MSX1 homeodomain missense mutation cause selective tooth agenesis* // *Nat. Genet.* — 1996. — Vol. 13. — P. 417-421.

39. *Ranta R. A review of tooth formation in children with cleft lip/palate* // *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* — 1986. — Vol. 90, N 1. — P. 11-18.

40. *Association of autosomal dominant cleft lip and palate and translocation 6p23;9q22.3* / D. Donnai, L. J. Heather, P. Sinclair et al. // *Clin. Dysmorphol.* — 1992. — Vol. 1, N 2. — P. 89-97.

41. *Terminal deletion 6p23: a case report* / M. H. Kormann-Bortolotto, L. M. Farah, D. Soares et al. // *Am. J. Med. Genet.* — 1990. — Vol. 37, N 4. — P. 475-477.

42. *Evidence of a locus for orofacial clefting on human chromosome 6p24 and STS content map of the region* / A. F. Davies, R. J. Stephens, M. G. Olavesen et al. // *Hum. Mol. Genet.* — 1995. — Vol. 4, N 1. — P. 121-128.

43. *Watanabe T., Ohishi M., Tashiro H. Population and family studies of HLA in Japanese with cleft lip and cleft palate* // *Cleft Palate J.* — 1984. — Vol. 21, N 4. — P. 293-300.

44. *Segregation of HLA in sibs with cleft lip or cleft lip and palate: evidence against genetic linkage* / D. C. van Dyk, A. S. Goldman, R. S. Spielman et al. // *Cleft Palate J.* — 1980. — Vol. 17, N 3. — P. 189-193.

45. *Mehra S., Verma I. C. Ecogenetics of congenital craniofacial malformation. International Committee on the Human Genome* // *Am. J. Hum. Genet.* — 1991. — Vol. 49, N 1 (Abstract). — P. 150.

46. *Exclusion of candidate genes from a role in cleft lip with or without cleft palate: linkage and association studies* / G. M. Vintiner, K. K. Lo, S. E. Holder et al. // *J. Med. Genet.* — 1993. — Vol. 30, N 9. — P. 773-778.

47. *Nonsyndromic cleft lip and palate: no evidence of linkage to HLA or factor 13A* / J. T. Hecht, Y. Wang, B. Connor et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1993. — Vol. 52, N 6. — P. 1230-1233.

48. *Nonsyndromic cleft lip and palate: evidence of linkage to a microsatellite marker on 6p23* / F. Carinci, F. Pezzetti, L. Scapoli et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1995. — Vol. 56, N 1. — P. 337-339.

49. *Linkage analysis of candidate endothelin pathway genes in nonsyndromic familial orofacial cleft* / F. Pezzetti, L. Scapoli, M. Martinelli et al. // *Ann. Hum. Genet.* — 2000. — Vol. 64, N 4. — P. 341-347.

50. *Schultz R. E., McColley A., Murray J. C. Screening endothelin-1 by SSCP analysis for mutations associated with nonsyndromic cleft lip and palate in individuals of Filippino origin* // *Am. J. Hum. Genet.* — 1999. — Vol. 65, N 1 (Abstract). — P. 444.

51. *Mutation of PVRL1 is associated with sporadic, non-syndromic cleft lip/palate in northern Venezuela* / M. A. Sozen, K. Suzuki, M. M. Tolarova et al. // *Nat. Genet.* — 2001. — Vol. 29, N 2. — P. 141-142.

52. *Mutations of PVRL1, encoding a cell-cell adhesion molecule/herpes-*



virus receptor, in cleft lip/palate-ectodermal dysplasia / K. Suzuki, D. Hu, T. Bustos et al. // *Nat. Genet.* — 2000. — Vol. 25, N 4. — P. 427-430.

53. *Application* of transmission disequilibrium tests to nonsyndromic oral clefts: including candidate genes and environmental exposures in the models / N. E. Maestri, T. H. Beaty, J. Hetmanski et al. // *Am. J. Med. Genet.* — 1997. — Vol. 73, N 3. — P. 337-344.

54. *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.

55. *Further* evidence of a relationship between the retinoic acid receptor alpha locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (CL +/- P) / D. Shaw, A. Ray, M. Marazita, L. Field // *Am. J. Hum. Genet.* — 1993. — Vol. 53, N 5. — P. 1156-1157.

56. *Stein J. D., Hecht J. T., Blanton S. H.* Exclusion of retinoic acid receptor and a cartilage matrix protein in non-syndromic CL(P) families // *J. Med. Genet.* — 1995. — Vol. 32, N 1. — P. 78.

57. *Mitchell L. E.* Interpreting the evidence for an association between the retinoic acid receptor locus and non-syndromic cleft lip with or without cleft palate // *J. Med. Genet.* — 1994. — Vol. 31, N 5. — P. 425.

58. *Nonsyndromic* cleft lip with or without cleft palate: erratum / C. Amos, J. Stein, J. B. Mulliken et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — Vol. 59, N 3. — P. 744.

59. *Evidence* for an association between markers on chromosome 19q and non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in two groups of multiplex families / D. F. Wyszynski,

N. Maestri, I. McIntosh et al. // *Hum. Genet.* — 1997. — Vol. 99, N 1. — P. 22-26.

60. *Amos C., Gasser D., Hecht J. T.* Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: new BCL3 information // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — Vol. 59, N 3. — P. 743-744.

61. *Suggestive* linkage between markers on chromosome 19q13.2 and nonsyndromic orofacial cleft malformation / M. Martinelli, L. Scapoli, F. Pezzetti et al. // *Genomics.* — 1998. — Vol. 51, N 2. — P. 177-181.

62. *Linkage* of an X-chromosome cleft palate gene / G. E. Moore, A. Ivens, J. Chambers et al. // *Nature.* — 1987. — Vol. 326, N 6108. — P. 91-92.

63. *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.

64. *Refinement* of the X-linked cleft palate and ankyloglossia (CPX) localisation by genetic mapping in an Icelandic kindred / S. A. Forbes, M. Richardson, L. Brennan et al. // *Hum. Genet.* — 1995. — Vol. 95, N 3. — P. 342-346.

65. *Linkage* analysis of X-linked cleft palate and ankyloglossia in Manitoba Mennonite and British Columbia Native kindreds / S. M. Gorski, K. J. Adams, P. H. Birch et al. // *Hum. Genet.* — 1994. — Vol. 94, N 2. — P. 141-148.

66. *The localization* of a gene causing X-linked cleft palate and ankyloglossia (CPX) in an Icelandic kindred is between DXS326 and DXYS1X / P. Stanier, S. A. Forbes, A. Arnason et al. // *Genomics.* — 1993. — Vol. 17, N 3. — P. 549-555.

67. *The gene* responsible for X-linked cleft palate (CPX) in a British Columbia native kindred is localized between PGK1 and DXYS1 / S. M. Gorski, K. J. Adams, P. H. Birch et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1992. — Vol. 50, N 5. — P. 1129-1136.

68. *The T-box* transcription factor gene TBX22 is mutated in X-linked cleft palate and ankyloglossia / C. Braybrook, K. Doudney, A. C. Marcano et al. // *Nat. Genet.* — 2001. — Vol. 29, N 2. — P. 179-183.

69. *Brinkley L. L., Morris-Wiman J.* Effects of chlorcyclizine-induced glycosaminoglycan alterations on patterns of hyaluronate distribution during morphogenesis of the mouse secondary palate // *Development.* — 1987. — Vol. 100, N 4. — P. 637-640.

70. *Ferguson M. W.* Palate development // *Development.* — 1988. — Vol. 103 Suppl. — P. 41-60.

71. *Riessen R., Isner J., Blessing E.* Regional differences in the distribution of the proteoglycans, biglycan and decorin in the extracellular matrix of atherosclerotic and stenotic human coronary arteries // *Am. J. Pathol.* — 1994. — Vol. 144. — P. 962-974.

72. *Qiu C., Ferguson M.* The distribution of PDGFs and PDGF-receptors during murine secondary palate development // *J. Anat.* — 1995. — Vol. 186. — P. 17-29.

73. *Diphenylhydantoin* affects glycosaminoglycans and collagen production by human fibroblasts from cleft palate patients / G. Bosi, R. Evangelisti, V. Valeno et al. // *J. Dent. Res.* — 1998. — Vol. 77, N 8. — P. 1613-1621.

74. *TGFbeta* isoforms and decorin gene expression are modified in fibroblasts obtained from non-syndromic cleft lip and palate subjects / M. Bodo, T. Baroni, F. Carinci et al. // *J. Dent. Res.* — 1999. — Vol. 78, N 12. — P. 1783-1790.

