

Study of patients with cleft lip and palate with consanguineous parents

Estudo de pacientes com fissuras lábio-palatinas com pais consanguíneos

Sibele Nascimento de Aquino ¹, Lívia Máris Ribeiro Paranaíba ², Daniella Reis Barbosa Martelli ³,
Mário Sérgio Oliveira Swerts ⁴, Letícia Monteiro de Barros ⁵, Paulo Rogério Ferreti Bonan ⁶,
Hercílio Martelli Júnior ⁷

Keywords:

consanguinity,
cleft lip,
cleft palate.

Abstract

Cleft lip and/or palate (CL/P) are the most common congenital anomalies of the face. CL/P are non-syndromic (CL/PNS) in about 70% of subjects. **Aim:** To describe clinical cases of non-syndromic CL/P (CL/PNS) associated with consanguinity, diagnosed at a reference hospital in Minas Gerais, Brazil, and to correlate these alterations with possible risk factors. **Series and Methods:** A retrospective study at a reference hospital for craniofacial deformities in Minas Gerais, Brazil from 2006 to 2009 based on data in medical records. **Results:** Of 246 CL/PNS cases diagnosed and treated at the institution, 15 (6.1%) were CL/PNS with reported first-degree consanguinity; 73.3% occurred in males. Four of 15 patients had complete right cleft palate and lip (CLP), 4 presented complete cleft palate and lip (right and left), 3 had complete unilateral left CLP, 3 had isolated cleft palate, and 1 presented cleft lip only. Among the risk factors, only three mothers reported smoking during pregnancy. **Conclusions:** CLP (unilateral or bilateral) were more frequent in the group with a history of first-degree consanguinity; males predominated. Among the risk factors, only smoking was observed in three cases.

Palavras-chave:

consanguinidade,
fenda labial,
fissura palatina.

Resumo

Fissuras do lábio e/ou palato (FL/P) representam as anomalias congênitas mais comuns da face e em 70% dos indivíduos, as fissuras lábio-palatinas ocorrem de forma não-sindrômica (FL/PNS). **Objetivo:** Descrever casos clínicos de FL/PNS associadas com consanguinidade e correlacionar tais alterações com possíveis fatores de risco. **Casística e Métodos:** Realizou-se estudo retrospectivo, em um Serviço de referência para deformidades craniofaciais em Minas Gerais, Brasil, entre os anos de 2006-2009, a partir de prontuários clínicos. **Resultados:** Entre 246 casos de FL/PNS diagnosticadas e assistidas no Serviço, 15 (6,1%) foram de FL/PNS com relato de consanguinidade em primeiro grau e 73,3% ocorreram no gênero masculino. Verificou-se que dos 15 pacientes, 4 pacientes apresentavam fissura lábio palatina (FLP) completa unilateral direita, 4 FLP bilateral completa, 3 FLP completa unilateral esquerda, 3 fissura palatina isolada e 1 fissura labial isolada. Dos fatores de risco avaliados, somente três mães relataram história de tabagismo durante a gestação. **Conclusões:** As FLP (unilateral ou bilateral) foram mais frequentes nesse grupo com histórico de consanguinidade em primeiro grau e o gênero masculino foi predominante. Entre os fatores de risco, apenas o tabagismo foi observado em três casos clínicos.

¹ Mestrado, Pós-Graduanda em Estomatopatologia pela Universidade Estadual de Campinas - Unicamp.

² Mestrado, Doutoranda em Estomatopatologia da Universidade Estadual de Campinas - Unicamp.

³ Mestrado, Professora de Semiologia da Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes.

⁴ Doutor, Professor da Universidade de Alfenas - Unifenas.

⁵ Doutor, Professora da Universidade de Alfenas.

⁶ Doutor, Professor da Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes.

⁷ Doutor, Professor Titular da Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes.

Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes Universidade de Alfenas - Unifenas Universidade Estadual de Campinas - Unicamp.

Endereço para correspondência: Hercílio Martelli Júnior - Rua Olegário da Silveira 125/201 Centro Montes Claros MG Brasil 39400-020.

E-mail: hmjunior2000@yahoo.com

Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (HMJ).

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da BJORL em 4 de janeiro de 2010. cod. 6863

Artigo aceito em 31 de janeiro de 2010.

INTRODUÇÃO

Fissuras lábio-palatinas não sindrômicas (FL/PNS) (OMIM 119530) constituem as anomalias mais frequentes da área craniofacial. Em várias regiões mundiais, a ocorrência das FL/P é maior que a da síndrome de Down¹. A incidência das FL/P é de aproximadamente 1 em cada 500-2.000 nativos e varia de acordo com a raça, a condição sócio-econômica e a população estudada²⁻⁴. No Brasil, estudos epidemiológicos mostram que a incidência de FL/P varia de 0,19 a 1,54 para cada 1.000 nascimentos^{5,6}. Aproximadamente 70% dos casos de FL/P ocorrem de forma não-sindrômica e os demais 30% referem-se a fissuras sindrômicas⁷⁻⁹. Mais de 300 síndromes descritas (incluindo desordens cromossômicas ou mendelianas) apresentam FL/P no seu espectro clínico^{8,10}.

Quanto à embriologia, as FL/P são resultantes de defeitos primários na fusão dos processos craniofaciais que formam o palato primário e secundário, no primeiro trimestre do desenvolvimento intrauterino⁸. Clinicamente, as FL/P são classificadas tendo como base anatômica o forame incisivo, em quatro grupos: fissuras pré-forame incisivo ou fissuras labiais (FL), fissuras pós-forame incisivo ou fissuras palatinas (FP), fissuras transforame incisivo ou fissuras lábio-palatinas (FLP) e fissuras raras da face¹¹.

Em relação à patogênese, embora ainda pouco compreendida, as FL/P são multifatoriais, resultando de fatores genéticos e ambientais. A dieta materna, suplementação vitamínica, álcool, fumo e uso de drogas anticonvulsivantes estão entre os fatores ambientais relacionados ao desenvolvimento das fissuras^{10,12}. Entre os fatores genéticos destacam-se diferentes genes relacionados à formação craniofacial, como TGF- β 3 (*Transforming growth factor beta 3*)¹³, MSX1 (*Msh homeobox 1*)¹⁴, IRF6 (*Interferon regulatory factor 6*)¹⁵, FGFs (*Fibroblast growth factor*)¹⁶, PVRL1 (*Poliiovirus receptor related-1*)¹⁰, FOXE1 (*forkhead box E1*), JAG2 (*Jagged 2*)¹⁷ e TBX22 (*T-box 22*)¹⁸.

Além dos fatores ambientais e genéticos associados às FL/P verifica-se associação entre consanguinidade e estas anomalias¹⁹⁻²¹. Considerada como sendo importante fator para doenças autossômicas recessivas, a consanguinidade também tem sido relacionada a algumas anomalias congênitas como a hidrocefalia, polidactilia e FL/P^{19,22}. O risco de ocorrência de alterações congênitas é maior em indivíduos provenientes de casamentos consanguíneos de primeiro grau quando comparado com casamentos não consanguíneos²².

Assim, o objetivo deste estudo foi descrever uma série de casos clínicos de FL/PNS com histórico de consanguinidade em primeiro grau em um Serviço de referência brasileiro para deformidades craniofaciais.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Realizou-se um estudo retrospectivo, entre os anos

de 2006 e 2009, em um Serviço de referência para deformidades craniofaciais no estado de Minas Gerais, Brasil. Verificou-se que de um total de 246 casos assistidos de FL/PNS no período citado, 15 pacientes (6,1%) apresentavam histórico de consanguinidade entre pai e mãe (primeiro grau). Foram excluídos desta investigação científica pacientes com FL/P sindrômicas ou aqueles que apresentaram outras associações incomuns adicionais às fissuras.

Para avaliação de fatores de risco relacionados ao desenvolvimento de FL/PNS e para coleta de dados, foi utilizado um questionário contemplando as seguintes variáveis: idade, gênero, cor da pele, histórico de consanguinidade, tipo de FL/PNS, idade materna e paterna durante a gestação, tabagismo e etilismo materno e uso de drogas ilícitas durante a gestação. As fissuras foram classificadas tendo como referência anatômica o forame incisivo¹¹ em: (1) FL: incluem fissuras pré-forame completas ou incompletas, unilaterais e bilaterais; (2) FLP: incluem fissuras transforame unilaterais, bilaterais e fissuras pré e pós-forame; (3) FP: incluem todas as fissuras pós-forame completas ou incompletas e (4) Outras: encontram-se as fissuras raras da face.

Após aplicação dos questionários, as informações coletadas foram arquivadas em um banco de dados e analisadas pelo programa estatístico SPSS® versão 17.0 (Chicago, EUA). Este estudo foi conduzido com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade (# 26/2005).

RESULTADOS

No período entre 2006 a 2009, 246 pacientes com FL/PNS foram assistidos no Serviço de Anomalias Craniofaciais. Desses, 15 (6,1%) pacientes apresentaram fissuras com histórico de consanguinidade entre os pais (primeiro grau). A Tabela 1 mostra informações referentes ao gênero, cor da pele e faixa etária dos pacientes, sendo que 11 pacientes (73,3%) foram do gênero masculino e 4 (26,7%) do feminino. Verificou-se com relação à cor da pele, que 10 (66,7%) pacientes foram feodermas, 4 (21,4%) leucodermas e 1 (6,7%) melanoderma. Em relação à faixa etária dos pacientes, a maioria (n=7) possuía entre 11 e 20 anos.

Quanto ao tipo de fissura, a Tabela 1 mostra a prevalência das FL/PNS observadas, assim como o percentual para cada grupo. A FLP foi predominante quando comparada com a FP e FL isoladas, sendo que 4 (26,7%) pacientes apresentavam FLP completa unilateral direita, 4 (26,7%) FLP bilateral completa, 3 (20%) FLP completa unilateral esquerda, 3 (20%) FP isolada e 1 (6,7%) FL isolada.

A Tabela 2 mostra a distribuição das idades maternas e paternas durante a gestação. Em relação à idade materna, no grupo estudado, houve similaridade entre as faixas etárias de 21 a 25 anos, 26 a 30 anos e 31 a 35 anos. Com relação à idade paterna, a faixa etária mais comumente encontrada foi entre 26 a 30 anos e 31 a 35 anos.

Tabela 1. Características gerais dos 15 casos clínicos de fissuras lábio-palatina não sindrômicas.

		n	%
Gênero	Masculino	11	73,3
	Feminino	4	26,7
Faixa etária (anos)	≤ 10	4	26,7
	>11 ≤20	7	46,7
	>21 ≤30	3	20
	>31	1	6,7
Cor da pele	Leucoderma	4	26,7
	Feoderma	10	66,7
	Melanoderma	1	6,7
	FP (isolada) incompleta	3	20
Tipo de Fissura	FL (isolada) completa unilateral	1	6,7
	FLP completa unilateral esquerda	3	20
	FLP completa unilateral direita	4	26,7
	FLP bilateral completa	4	26,7
Total		15	100

Tabela 2. Distribuição das faixas etárias maternas e paternas durante a gestação.

		n	%
Idade materna (anos)	≤20	2	13,3
	21 a 25	5	33,3
	26 a 30	4	26,7
	31 a 35	4	26,7
Idade paterna (anos)	21 a 25	3	20
	26 a 30	4	26,7
	31 a 35	4	26,7
	36 a 40	3	20
	41 a 45	1	6,7
Total		15	100

Tabela 3. Hábito de tabagismo materno observado durante a gestação.

		n	%
Fumo durante gestação	Sim	3	20
	Não	12	80
Quantidade de cigarros	≤ 5 cigarros por dia	1	6,7
	> 6 cigarros por dia	2	13,3
	Não se aplica	12	80
Total		15	100

Com relação a hábitos maternos durante a gestação, não houve histórico de etilismo materno ou uso de drogas. Quanto ao tabagismo, 3 mães (20%) relataram o hábito durante toda gestação, sendo que 2 mães (13,3%) fizeram

uso de mais de 5 cigarros por dia, conforme mostrado na Tabela 3. Todos os pacientes, assim como os familiares, foram assistidos no Serviço e se encontram em acompanhamento clínico multiprofissional.

DISCUSSÃO

Estudos recentes indicam o envolvimento de múltiplos genes e determinados fatores ambientais na etiologia das FL/PNS^{8,10,23}. Existem estimativas sugerindo que de 3 a 14 genes podem contribuir com as FL/P^{4,24}. Verifica-se que, além dos genes e fatores ambientais, a consanguinidade também está relacionada ao desenvolvimento de FL/P entre outras anomalias congênitas^{2,20,25}. O risco da ocorrência de alterações congênitas é cerca de 2 a 3% em casamentos não consanguíneos, porém aumenta para 5 a 8% em casamentos consanguíneos de primeiro grau²².

No presente estudo, dos 246 casos de pacientes fissurados assistidos no Serviço entre 2006 e 2009, 15 pacientes (6,1%) apresentavam histórico de consanguinidade. Estudo epidemiológico e genético com 207 casos de FL/PNS realizado na França mostrou que 3,9% dos pacientes possuíam histórico de consanguinidade de primeiro grau entre os pais e considerou-se haver uma associação positiva entre consanguinidade e FL/PNS. Os autores sugeriram que esta associação provavelmente está relacionada a um componente genético recessivo, além da participação de fatores ambientais²⁶. Em estudo realizado no Teerã, 25 casos de FL/PNS foram registrados em um período de 8 anos, sendo que 31,8% dos mesmos foram provenientes de casamentos consanguíneos. Entretanto, no grupo de crianças sem FL/PNS, apenas 8% foram provenientes de casamentos consanguíneos²⁵.

A relação entre anomalias congênitas e consanguinidade é observada em outras investigações científicas. Um estudo que verificava a presença de anomalias congênitas em crianças provenientes de casamentos consanguíneos encontrou uma associação significativa entre consanguinidade de primeiro grau e anomalias como paralisia cerebral, fibrose cística, retardo físico, cegueira congênita assim como FL/PNS²². Estudo realizado na América Latina mostrou que 5.931 crianças, de um total de 32.845, eram provenientes de casamentos consanguíneos e apresentavam anomalias congênitas. As FL/PNS foram relacionadas, entre outras, como anomalias congênitas associadas à consanguinidade¹⁹.

Os diferentes tipos de fissuras apresentam distribuição distinta e as incidências variam entre os diferentes grupos populacionais^{24,27-29}. Os achados do presente estudo revelam uma prevalência de FL/P quando comparada com FP ou FL isoladas, resultado similar ao encontrado por Souza-Freitas et al.³⁰. Porém, Stoll et al.²⁶ mostraram índices maiores de FP isoladas quando comparada com FLP. Quando avaliadas quanto à extensão e localização, 3 (20%) pacientes apresentaram FLP completa unilateral esquerda, 4 (26,7%) foram acometidos pela FLP completa unilateral direita, 4 (26,7%) apresentaram FLP bilateral completa, 3 (20,05%) apresentaram FP isolada e 1 (6,7%), FL isolada. Estudos realizados por Stoll²⁶ e Jamilian et al.²⁵ mostraram menores índices para FL, assim como o presente estudo. Quanto à extensão da fissura, há trabalhos que mostram que a FLP unilateral (esquerda ou direita) é mais frequente que a FLP bilateral^{26,31}.

Dos 15 pacientes aqui estudados, 11 foram do gênero masculino e 4 do feminino. Há trabalhos^{26,31} que mostram, de maneira geral, prevalência do gênero masculino. Quanto à relação entre o gênero e o tipo de fissura, no presente estudo o gênero masculino foi predominante em todos os tipos de fissura. Algumas investigações^{4,30,32} mostram que a FP isolada é mais típica do gênero feminino e a FL/P, no masculino. Estudo avaliando 126 crianças brasileiras com FL/P não sindrômicas demonstrou uma prevalência de 2,57 vezes de FL/P em indivíduos masculinos, comparado ao feminino³¹.

Idade materna elevada é considerada como fator de risco para diversas alterações cromossômicas e anormalidades não cromossômicas, mas não existe consenso se representa ou não fator de risco para FL/P³³. No presente estudo, apenas um pai apresentou idade entre 41 a 45 anos (Tabela 2). Resultados de um estudo realizado com 100 crianças com FL/P mostraram que a idade materna foi significativa para ocorrência de fissuras e que os intervalos temporais de 26 a 35 anos e acima de 35 anos apresentaram riscos reduzidos para ocorrência de FL/P comparados a mulheres com idade até 25 anos¹². Entretanto, estudo realizado por Vieira et al.³⁴ não constatou associação entre idade materna e FL/P de maneira geral.

Alguns fatores de risco ambientais são relacionados à FL/PNS como a dieta materna, suplementação vitamínica durante a gestação, uso de álcool, drogas anticonvulsivantes e fumo^{10,27,35}. No presente estudo, não houve histórico de etilismo materno durante a gestação ou uso de drogas anticonvulsivantes. Quanto ao tabagismo, 3 (20%) mães relataram o hábito durante toda gestação, sendo que 2 (13,3%) fizeram uso de mais de 5 cigarros por dia. O tabagismo materno durante a gestação tem sido associado com maior risco para FL/P^{9,21,28}. Considerando a etiologia multifatorial das FL/PNS, este estudo avaliou a presença de consanguinidade e fatores de risco entre os casos clínicos de FL/PNS e destacou, embora com casuística limitada (n=15), a importância na descrição destes casos clínicos para melhor compreensão da consanguinidade em associação com as FL/PNS.

CONCLUSÃO

O presente estudo analisou 15 casos clínicos de FL/PNS com histórico de consanguinidade de primeiro grau entre os pais. Quanto ao tipo clínico, as FLP (uni ou bilaterais) foram as mais frequentes nesse grupo, seguida pela FP isolada. O gênero masculino foi predominante em todos os tipos de fissuras observados. Com relação aos fatores de risco analisados, somente o tabagismo foi relatado por 3 mães durante a gestação. Novos estudos poderão contribuir para uma melhor compreensão da relação entre consanguinidade e FL/PNS.

AGRADECIMENTOS

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (HMJ).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OPCS Congenital malformation statistics. Notifications 1992 London: HMSO;1995.
2. Mitchell LE, Beaty TH, Lidral AC, Munger RG, Murray JC, Saal HM. Guidelines for the design and analysis of studies on nonsyndromic cleft lip and cleft palate in humans: summary report from a Workshop of the International Consortium for Oral Clefts Genetics. *Cleft Palate Craniofac J*.2002;39(1):93-100.
3. Slayton RL, Williams L, Murray JC, Wheeler JJ, Lidral AC, Nishimura CJ. Genetic association studies of cleft lip and/or palate with hypodontia outside the cleft region. *Cleft Palate Craniofac J*.2003;40(2):274-9
4. Lidral AC, Moreno LM, Bullard AS. Genetic factors and orofacial clefting. *Semin Orthod*.2008;14(2):103-14.
5. Loffredo L, Freitas J, Grigolli A. Prevalência de fissuras orais de 1975 a 1994. *Rev Saúde Pública*.2001;35(6):571-5.
6. Martelli-Júnior H, Orsi Júnior J, Chaves MR, Barros LM, Bonan PRF, Freitas JA. Estudo epidemiológico das fissuras labiais e palatais em Alfenas - Minas Gerais - de 1986 a 1998. *RPG*.2006;13(1):31-5.
7. Nopoulos P, Langbehn DR, Canady J, Magnotta V, Richman. Abnormal brain structure in children with isolated clefts of the lip or palate. *Arch Pediatr Adolesc Med*.2007;161(8):753-8.

8. Meng L, Bian Z, Torensma R, Von den Hoff JW. Biological Mechanisms in palatogenesis and cleft palate. *J Dent Res.*2009;88(1): 22-9.
9. Shi M, Wehby GL, Murray JC. Review on Genetic Variants and Maternal Smoking in the Etiology of Oral Clefts and Other Birth Defects. *Birth Defects Res C Embryo Today.*2008;84(1):16-29.
10. Scapoli L, Martinelli M, Arlotti M, Palmieri A, Masiero E, Pezzeti F, et al. Genes causing clefting for non-syndromic cleft lip with or without cleft palate: a family based association study. *Eur J Oral Sci.*2008; 116(4):507-11.
11. Spina V. A proposed modification for the classification of cleft lip and cleft palate. *Cleft Palate J.*1973;10(2):251-8.
12. Martelli DRB, Cruz KW, Barros LM, Silveira MF, Swerts MSO, Martelli-Junior H. Maternal and paternal age, birth order and interpregnancy interval evaluation for cleft lip-palate. *Braz J Otorhinolaryngol.*2009 (in press).
13. Vieira AR, Orioli IM, Castilla EE, Cooper ME, Marazita ML, Murray JC. MSX1 and TGFB3 contribute to clefting in South America. *J Dent Res.*2003;82(4):289-92.
14. Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzeti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: An update. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.*2007;71(8):1509-19.
15. Zuccherro TM, Cooper ME, Maher BS, Daack-Hirsch S, Nepomuceno B, Ribeiro L. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) gene variants and the risk of isolated cleft lip or palate. *N Engl J Med.*2004; 351(5):769-80.
16. Riley BM, Mansilla MA, Ma J, Daack-Hirsch S, Maher BS, Raffensperger LM. Impaired FGF signaling contributes to cleft lip and palate. *Proc Natl Acad Sci USA.*2007;104(11):4512-7.
17. Vieira AR, Avila JR, Daack-Hirsch S, Dragan E, Félix TM, Rahimov F. Medical sequencing of candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate. *PLoS Genet.*2005;1(6):651-9.
18. Braybrook C, Doudney K, Marcano AC, Arnason A, Bjornsson A, Paton MA et al. The T-box transcription factor gene TBX22 is mutated in X-linked cleft palate and ankyloglossia. *Nat Genet.*2001;29(4):179-88.
19. Rittler M, Liascovich R, López-Camelo J, Castilla EE. Parental consanguinity in specific types of congenital anomalies. *Am J Med Genet.* 2001;1029(3):36-43.
20. Leite ICG, Kolfman S. Oral Clefts, consanguinity, parental tobacco and alcohol use: a case-control study in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz Oral Res.*2009; 23(1):31-7.
21. Zlogotora J. Genetic disorders among Palestinian Arabs. Effects of consanguinity. *Amer J Med Genet.*1997;68(2):472-5.
22. Kanaan ZM, Mahfous R, Tamim H. The prevalence of consanguineous marriages in an underserved area in Lebanon and its association with congenital anomalies. *Genetic Testing.*2008;12(3):367-72.
23. Birnbaum S, Reutter H, Mende M, Assis NA, Diaz-Lacava A, Herns S, et al. Further evidence for the involvement of MYH9 in the etiology of non-syndromic cleft lip with or without palate. *Eur J Oral Sci.*2009; 117(5):200-3.
24. Vieira AR. Unraveling human cleft lip and palate research. *J Dent Res.*2008; 87(3):119-25.
25. Jamilian A, Nayeri F, Babayan A. Incidence of cleft lip and palate in Tehran. *J Indian Soc Pedod Prevent Dent.*2007;12(2):174-6.
26. Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth MP. Epidemiological and genetic study in 207 cases of oral clefts in Alsace, northeastern France. *Am J Med Genet.*1991;28(5):325-9.
27. Moosey PA, Little J. Epidemiology of oral clefts: An international perspective In: Wyszynski DF, editor *Cleft lip and palate: From origin to treatment.* Oxford: Oxford University Press;2002.p 127-58
28. Mossey, PA Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet.*2009;374(5):1773-85.
29. Hadjberg C, Larson O, Milrad J. Incidence of cleft and palate and risks of additional malformations. *Cleft Palate Craniofac J.* 1998;35 (1):450-8.
30. Freitas JA, Dalben GS, Santamaria M Jr, Freitas PZ. Current data on the characterization of oral clefts in Brazil. *Braz Oral Res.*2004;18(3): 128-33.
31. Martelli-Junior H, Porto LCVP, Barbosa DRB, Bonan PRF, Freitas AB, Coletta RD. Prevalence of nonsyndromic oral clefts in a reference hospital in Minas Gerais State, between 2000-2005. *Braz Oral Res.* 2007;21(4):314-7.
32. Andrews-Casal M, Johnston D, Fletcher J, Mulliken JB, Stal S, Hecht JT. Cleft lip with or without cleft palate: effect of family history on reproductive planning, surgical timing and parental stress. *Cleft Palate Craniofac J.*1998;35(1):52-7.
33. Bille C, Skytthe A, Vach W, Knudsen LB, Andersen AMN, Murray JC. Parent's age and the risk of oral cleft. *Epidemiology.* 2005; 16(3):311-6.
34. Vieira AR, Orioli IM, Murray JC. Maternal age and oral clefts: A reappraisal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 94(5):530-5.
35. Zeiger JS, Beaty TH. Is there a relationship between risk factors for oral clefts? *Teratology.*2002;66(3):205-8.