

ARTÍCULO ORIGINAL

ABIERTO

Estudio piloto del microbioma intestinal en pacientes con CHARGE Síndrome y controles entre hermanos

Emily R. Chedrawe1 | Jessica Connors2 | Angela Arra3 | Katherine Dunn4 | Kim Blake5 | Johan van Limbergen6

1Facultad de Medicina, Universidad de Dalhousie, Halifax, Nueva Escocia, Canadá | 2División de Gastroenterología, IWK Health, Halifax, Nueva Escocia, Canadá | 3IWK Health, Halifax, Nueva Escocia, Canadá | 4Departamento de Biología, Universidad de Dalhousie, Halifax, Nueva Escocia, Canadá | 5Departamento de Pediatría, Universidad de Dalhousie, Halifax, Nueva Escocia, Canadá | 6Departamento de Gastroenterología Pediátrica, Centro Médico de la Universidad de Ámsterdam, Ámsterdam, Países Bajos

Correspondencia: Kim Blake (kblake@dal.ca)

Recibido: 22 de diciembre de 2024 | Revisado: 22 de febrero de 2025 | Aceptado: 7 de marzo de 2025

Financiación: Este estudio fue financiado por la CHARGE Syndrome Foundation (\$5000) y el IWK Health Mentored Grant Program (\$5000).

Palabras clave: Síndrome CHARGE | CHD7 | estreñimiento | disbiosis | dismotilidad PASSFP | trastornos gastrointestinales | microbioma | dolor | PEDSQL | vago nervio

ABSTRACTO

Las dificultades con la alimentación y la digestión son comunes en personas con síndrome de CHARGE. Los modelos animales con variantes del gen CHD7 demuestran innovación intestinal anormal y dismotilidad. Nuestro estudio piloto evaluó si las personas con síndrome de CHARGE tienen diferencias en su microbioma intestinal en comparación con hermanos no afectados. Los participantes entre las edades de 2 y 18 años fueron reclutados del Atlántico canadiense con un diagnóstico genético confirmado de síndrome de CHARGE. El análisis de ADN del microbioma intestinal se realizó en muestras de heces utilizando secuencias del gen ARN ribosómico 16S (ARNr). El PASSFP y el PEDSQL sirvieron como cuestionarios de síntomas gastrointestinales. Once participantes completaron este estudio con un par de gemelos (síndrome de CHARGE = 7, controles hermanos = 4). La abundancia porcentual media para los cuatro filos más comunes en individuos con CHARGE versus controles mostró una tendencia hacia el aumento de Bacteroidetes, Proteobacteria y una disminución de Firmicutes y Actinobacteria, pero no fue significativa. Las comparaciones del microbioma basadas en puntuaciones GI anormales (<77) y normales (≥77) revelaron un aumento significativo de Bacteroidetes ($p=0,042$; $59,5\% \pm 15,1\%$ frente a $33,1\% \pm 14,6\%$) y una disminución de Firmicutes ($p=0,042$; $37,5\% \pm 15,9\%$ frente a $62,4\% \pm 14,0\%$) con puntuaciones anormales. La diversidad alfa no difirió con las puntuaciones de la enfermedad ni de los síntomas GI. Nuestros datos mostraron que, si bien hubo una tendencia en los cambios del microbioma intestinal en individuos con CHARGE en comparación con hermanos no afectados, este cambio parece estar relacionado con la gravedad de los síntomas GI y no necesariamente con la CHARGE en sí, ya que las diferencias fueron más pronunciadas en individuos con más dificultades para alimentarse y síntomas GI.

El síndrome de CHARGE (OMIM ID 214800) es un trastorno congénito asociado con una variante en la helicasa del cromodominio.

Gen de la proteína de unión al ADN 7 (CHD7). El CHD7 participa en la remodelación de la cromatina, especialmente durante el desarrollo fetal. La variante es heterocigótica, surge de novo y se asocia con un desarrollo deficiente de la cresta neural. Las alteraciones en el desarrollo de la cresta neural están implicadas en los signos y síntomas característicos del síndrome CHARGE (coloboma, cardiopatías, atresia de las coanas, restricción del crecimiento y desarrollo, genitales).

Hipoplasia, anomalías del oído). El síndrome de CHARGE tiene una incidencia estimada de 1 en 10 000 a 15 000 nacimientos (Qin et al., 2020; van Ravenswaaij-Arts y Martin, 2017; Issekutz et al., 2005).

Las personas con síndrome de CHARGE presentan diversas presentaciones fenotípicas y grados de gravedad. Las investigaciones muestran que la mayoría de estas personas presentan síntomas gastrointestinales (Blake y Hudson, 2017; Dobbeltsteyn et al., 2008). Nuestro grupo de investigación ha caracterizado previamente los problemas de alimentación y digestión.

Este es un artículo de acceso abierto bajo los términos de la [licencia Creative Commons Attribution](#). Licencia que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que se cite adecuadamente la obra original.

© 2025 El/Los autor(es). Revista Americana de Genética Médica, Parte A, publicada por Wiley Periodicals LLC.

en esta población. La dificultad para alimentarse comienza en la boca, incluyendo la acumulación de comida en las mejillas y dificultad para tragar. La enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) está presente en el 50% de esta población (Macdonald et al. 2017). En la parte inferior del tracto gastrointestinal, el estreñimiento crónico y la hinchazón son prevalentes en el 30% (Hudson et al. 2016; Blake y Hudson 2017). Tenemos un conocimiento limitado de la fisiopatología de estos síntomas. Según nuestro conocimiento actual, el mecanismo es multifactorial entre anomalías estructurales, deterioro motor y deterioro sensorial. Nuestra investigación en modelos de pez cebra con variantes de CHD7 mostró que estos peces tenían una disminución de los nervios vagos y las ramas nerviosas entéricas alrededor del intestino anterior y un tamaño y forma anormales del intestino (Cloney et al. 2018). En consecuencia, mostraron contracciones intestinales desreguladas y vaciamiento retardado.

Sabemos que las personas con síndrome de CHARGE pueden adoptar hábitos dietéticos para superar las dificultades de alimentación y digestión. Además de la estructura, la salud y la función del tracto gastrointestinal pueden caracterizarse con mayor precisión según su composición química. Contiene. El tracto intestinal alberga billones de microbios, de los cuales los humanos dependen para la digestión, funciones antiinflamatorias e inmunomoduladoras (Fung et al., 2017). Esta comunidad se conoce como microbioma intestinal. Sabemos que el crecimiento excesivo o la eliminación de ciertos tipos de bacterias puede provocar consecuencias como infecciones del tracto gastrointestinal o molestias abdominales. Este desequilibrio en la población microbiana se denomina disbiosis. Se han comenzado a analizar el microbioma intestinal a nivel molecular en muchos síndromes genéticos para determinar si difiere del del individuo con un desarrollo normal (Peralta-Marzal et al., 2024; Peng et al., 2020; Saeed et al., 2022). Actualmente, ningún estudio ha analizado la relación entre las complicaciones gastrointestinales que suelen observarse en personas con síndrome de CHARGE y su microbioma intestinal.

Este estudio piloto examinó la composición del microbioma intestinal en personas con síndrome de CHARGE. Nuestro objetivo específico fue determinar si el microbioma de las personas con síndrome de CHARGE difiere del de sus hermanos no afectados y si estas diferencias se asocian con síntomas gastrointestinales. Hermanos no afectados de personas con síndrome de CHARGE sirvieron como controles para la comparación. Comprender el papel del microbioma en los síntomas gastrointestinales asociados con el síndrome de CHARGE podría conducir a enfoques dirigidos al microbioma para tratar los síntomas gastrointestinales, que se encuentran entre los problemas más graves a medida que los niños crecen (Hartshorne et al., 2016).

1 | Métodos

Este fue un estudio piloto observacional de casos y controles, aprobado por nuestro comité local de ética. El tamaño de la población del estudio estuvo limitado por el número de personas con síndrome de CHARGE en las Provincias Marítimas Canadienses (NS, NB e PEI) que estaban dispuestas a participar. En caso de participantes no emparejados, analizamos los conjuntos de datos, comparando el grupo pro-banda con el grupo control no afectado. En el caso de las personas con CHARGE, documentamos la edad y el sexo del niño, confirmamos el diagnóstico de síndrome de CHARGE mediante pruebas genéticas positivas para las variantes de CHD7 y documentamos los síntomas gastrointestinales mediante cuestionarios estandarizados modificados.

En el caso de los hermanos no afectados, se documentó el nombre, la edad y el sexo del niño. Se solicitó a todos los participantes que proporcionaran una muestra de heces y completaran un cuestionario estandarizado modificado, diseñado para caracterizar los síntomas gastrointestinales, el uso de antibióticos y la dieta de los participantes.

1.1 | Síntomas gastrointestinales

Las diferencias en la alimentación se evaluaron mediante un cuestionario, proporcionado por el paciente, denominado Escala de Evaluación Pediátrica para Problemas Graves de Alimentación (PASSFP) (Crist et al., 2004). Esta escala se puntúa de 0 a 64, indicando una puntuación baja los problemas de alimentación más graves. Las áreas evaluadas incluyeron el modo de alimentación, los vómitos, el cepillado de dientes, el lavado de cara, la hora de la toma, la tos/atragantamiento, la predisposición a la taza, la acumulación de comida en las mejillas, la predisposición a la cuchara, el llanto, el escupitajo, el disfrute, la frustración y la cantidad de tipos de alimentos.

Los síntomas gastrointestinales generales a lo largo de todo el tracto gastrointestinal se evaluaron mediante la Escala de Síntomas Gastrointestinales PEDSQL (Varni et al., 2014), modificada y autoinformada. Este cuestionario evaluó los siguientes 10 dominios: dolor y molestias estomacales, molestias estomacales, restricciones en la ingesta de alimentos y bebidas, dificultad para tragar, acidez y reflujo, náuseas y vómitos, gases e hinchazón, estreñimiento, sangre en las deposiciones y diarrea. Cada pregunta recibió un valor de 0 (nunca) a 4 (casi siempre). Las puntuaciones totales de cada dominio se convirtieron en una puntuación sobre 100. Esto validó

La escala define una puntuación GI anormal como menor de 77.

1.2 | Muestras de heces

Todos los participantes proporcionaron muestras de heces según las instrucciones de recolección de los tubos de recolección y conservación de ácidos nucleicos en heces de Norgen Biotek (Norgen Bioteck 2023; Cat. 45630). Dentro de la semana posterior a la recolección, las muestras se almacenaron y mantuvieron congeladas a -80 °C. Se aisló el ADN total de todas las muestras simultáneamente con el kit QIAGEN PowerFecal DNA, siguiendo las instrucciones del fabricante. La región V4V5 del gen del ARN ribosómico (ARNr) 16S (denominado 16S en adelante) se secuenció mediante tecnología de secuenciación de alto rendimiento. Se recortaron los cebadores de las secuencias 16S con cutadapt (Martin, 2011) y se analizaron con QIIME2-2020.6 (Bolyen et al., 2019). Se utilizó Deblur (Amir et al., 2017) para eliminar el ruido de las secuencias, basándose en una longitud total recortada de 300 pb, con el fin de obtener variantes de secuencia de amplicón (ASV) que pudieran clasificarse. Las secuencias se clasificaron utilizando "classify-sklearn" en QIIME2 con la base de datos SILVA (Quast et al., 2012).

1.3 | Análisis de datos

Los participantes fueron estratificados según el estado de la enfermedad: individuos con CHARGE (probando) y hermanos no afectados (controles). Para analizar el impacto de los síntomas gastrointestinales, los participantes se clasificaron según su puntuación gastrointestinal anormal (<77) y normal (≥77). La comparación de la microbiota entre poblaciones se calculó como la abundancia relativa media de los filos bacterianos. Se utilizó la prueba U de Mann-Whitney (prueba de suma de rangos de Wilcoxon) para evaluar la abundancia relativa media de

Los filos difirieron entre grupos ($\alpha < 0,05$). Los datos se rarificaron y el número observado de ASV se utilizó para evaluar la diversidad alfa, que examina la diversidad dentro de las muestras o grupos de muestras. La diversidad alfa entre grupos se evaluó mediante la prueba U de Mann-Whitney.

prueba (prueba de suma de rangos de Wilcoxon) ($\alpha < 0,05$).

2 | Resultados

2.1 | Demografía

Un total de 11 participantes completaron el estudio. Las edades oscilaban entre los 2 y los 18 años. La cohorte CHARGE estaba compuesta por cuatro mujeres y tres hombres ($n=7$). El grupo control de hermanos estaba compuesto por tres hombres y una mujer ($n=4$). Hubo un total de cuatro parejas de hermanos. Uno de ellos era un par de hermanos gemelos (CHG-009 y CTRL-009).

2.2 | Síntomas gastrointestinales

La Escala de Evaluación Pediátrica para Problemas Graves de Alimentación (PASSFP) mostró que todos los participantes se alimentaban 100 % por vía oral en el momento del estudio. Solo un participante con CHARGE había recibido alimentación por sonda gástrica previamente. Seis de los siete participantes del grupo de prueba tenían restricciones en la consistencia de los alimentos, por ejemplo, solo por líquidos. La dificultad más común para alimentarse fue la tos y el atragantamiento (5/7), seguida de la retención de líquidos (4/7) y los vómitos (3/7). Dos padres expresaron su frustración con la alimentación.

La escala de síntomas gastrointestinales PEDSQL evaluó 10 áreas de la función gastrointestinal (Tabla 1). Las puntuaciones se convierten de forma que las puntuaciones más bajas se correlacionen con síntomas más graves. Las puntuaciones gastrointestinales promedio de PEDSQL para el grupo probando fueron de $76,8 \pm 14,2$ frente a $95,4 \pm 4,4$ en el grupo control. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0,002$). Se identificaron diferencias estadísticamente significativas en los síntomas gastrointestinales del probando frente al grupo control en cuanto a la restricción de alimentos y bebidas, dificultad para tragar, acidez y reflujo, y gases.

Distensión abdominal, estreñimiento y diarrea. Las puntuaciones más graves (puntuaciones más bajas) en el grupo probando se observaron en estreñimiento (puntuación 54,1/100). Le siguieron gases e hinchazón abdominal (66,8/100) y dificultad para tragar (72,6/100). En general, tres participantes con CHARGE tuvieron una puntuación promedio inferior a 77, lo que indica anomalías gastrointestinales graves. Ninguno de los participantes del grupo control tuvo una puntuación promedio inferior a 77.

2.3 | Abundancia del microbioma

La abundancia relativa media se comparó a nivel de filo. Los cuatro filos más abundantes fueron Bacteroidetes, Actinobacteria, Firmicutes y Proteobacteria para todos los participantes. Los resultados individuales de cada participante, así como de los pares de hermanos, cuando estén disponibles, incluyendo los resultados del cuestionario, la abundancia relativa media y el número de unidades taxonómicas operativas, se presentan en la Tabla 2. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos probando y control (Tabla 3). Sin embargo, las abundancias mostraron tendencias hacia un aumento en Bacteroidetes y Proteobacteria y disminución de Actinobacteria y Firmicutes.

Cuatro individuos probando cumplieron los criterios para una puntuación GI anormal (PEDSQL < 77). Se comparó la abundancia relativa media del microbioma de los cuatro participantes con puntuaciones PEDSQL anormales ($n = 4$) frente a todos los participantes con puntuaciones normales ($n = 7$; probando $n = 3$, control $n = 4$). La abundancia relativa media de Bacteroidetes fue casi el doble mayor para los participantes probando con síntomas GI anormales frente a las puntuaciones normales ($p = 0,042$, $59,5 \% \pm 15,1 \%$ frente a $33,1 \% \pm 14,6 \%$, Figura 1). Esta comparación también reveló una abundancia significativamente menor de Firmicutes con una puntuación GI anormal en comparación con los participantes con puntuaciones PEDSQL normales ($p = 0,042$, $37,5 \% \pm 15,9 \%$ frente a $62,4 \% \pm 14,0 \%$, Figura 1). Curiosamente, las cianobacterias estaban presentes en los participantes con puntuaciones gastrointestinales normales ($0,30 \% \pm 0,31 \%$) pero estaban ausentes en la población probando con puntuaciones gastrointestinales anormales ($p = 0,030$).

TABLA 1 | Puntuación de la escala de síntomas gastrointestinales PEDSQL para 10 dominios diferentes. Puntuación promedio sobre 100, donde las puntuaciones más bajas representan síntomas gastrointestinales más graves. Se proporciona la desviación estándar y el valor p para los participantes con síndrome de CHARGE ($n = 7$) frente al grupo control de hermanos ($n = 4$).

	Puntuación media		desviación estándar		p
	CARGAR	Control	CARGAR	Control	
Dolor y molestias en el estómago	82.14	100.00	24.26	0.00	0.099
Malestar estomacal al comer	88.57	100.00	17.49	0.00	0.135
Límites de alimentos y bebidas	73.81	100.00	26.86	0.00	0.042
Dificultad para tragar	72.62	100.00	19.07	0.00	0.009
Acidez estomacal y reflujo	83.93	100.00	12.94	0.00	0.017
Náuseas y vómitos	91.07	100.00	11.33	0.00	0.082
Gases e hinchazón	66.84	97.32	26.78	5.36	0.023
Constipación	54.08	85.71	24.87	6.52	0.015
Sangre en las deposiciones	100.00	100.00	0.00	0.00	—
Diarrea	80.10	100.00	12.00	0.00	0.005

Nota: Los valores en negrita se utilizan para resaltar la diferencia estadísticamente significativa en las categorías de síntomas gastrointestinales entre el grupo CHARGE y el grupo de control.

TABLA 2 | Resultados individuales de PEDSQL, PASSFP, abundancia relativa media de filos bacterianos determinados mediante secuenciación de ARNr 16S y diversidad alfa medida mediante unidades taxonómicas operativas (UTO). PRO indicó participantes probando con síndrome de CHARGE y CTRL indicó el grupo control de hermanos no afectados, cuando estuvo disponible.

Participe	PEDSQL puntaje	PASSFP puntaje	Actinobacteria (%)	Bacteroidetes (%)	Firmicutes (%)	Proteobacteria (%)	Diversidad alfa (OTU)
002-PRO	79.6	43	0.05	43.2	53.1	3.02	96
005-PRO	76.6	44	0.59	39.5	58.0	1.74	181
006-PRO	63.9	48	0.06	56.8	40.9	1.86	133
006-CTRL	98.2	66	0.02	48.9	49.9	0.52	166
007-PRO	87.0	51	2.22	4.78	91.2	1.46	133
008-PRO	68.1	44	0.07	67.3	30.4	2.25	178
008-CTRL	97.9	52	0.51	43.5	53.3	2.67	147
009-PRO	73.9	34	1.18	74.4	20.88	2.87	90
009-CTRL	98.2	66	9.47	28.8	60.3	1.32	109
010-PRO	96.7	66	0.15	31.09	64.8	2.67	184
010-CTRL	98.9	66	0.08	31.53	64.58	1.97	196

TABLA 3 | Abundancia relativa media de filos bacterianos determinados a partir de la secuenciación del ARNr 16S de muestras de heces en individuos con síndrome CHARGE (n = 7) en comparación con los controles hermanos (n = 4).

Filos	Abundancia relativa media (%)		pag
	CARGAR	Control	
Actinobacteria	0.62	2.52	1.0
Bacteroidetes	45.30	38.19	0.648
Firmicutes	51.34	57.02	0.648
Proteobacteria	2.27	1.62	0.2558

2.4 | Diversidad del microbioma

El número observado de variantes de la secuencia de amplificación (ASV) tras la rarefacción se utilizó para representar la diversidad alfa. El promedio de ASV en la cohorte del probando fue de 142,1 ± 39,5. El promedio de ASV en el grupo control fue solo ligeramente superior, 154,5 ± 36,4 (p = 0,636). La diferencia en los ASV fue mayor, pero permaneció insignificante al estratificarse según síntomas gastrointestinales anormales frente a normales (133,6 ± 44,0 frente a 151,5 ± 36,6; p = 0,413).

2.5 | Comparaciones entre hermanos

Muchas variables de confusión pueden contribuir al microbioma intestinal, incluyendo factores genéticos y ambientales. Dado el reducido número de pacientes, realizamos una comparación directa de dos de nuestras parejas de hermanos. Las primeras parejas de hermanos son gemelos (Figura 2a), donde el gemelo afectado presenta síntomas gastrointestinales graves y el gemelo sano no presenta síntomas gastrointestinales. El gemelo afectado demuestra claramente nuestra tendencia de aumento de Bacteroidetes y disminución de

Firmicutes. Además, el gemelo afectado presenta muchas menos unidades taxonómicas operativas, lo que sugiere una menor diversidad microbiana.

En contraste, demostramos una pareja de hermanos donde tanto los afectados como los sanos presentaron puntuaciones gastrointestinales relativamente normales y pocos síntomas (Figura 2b). Estos hermanos también presentaron abundancias bacterianas muy similares a nivel de filo. Además, presentaron el mayor número de ASV: 184 para el probando y 196 para el control.

3 | Discusión

A pesar de que nuestro estudio piloto tiene un tamaño de muestra pequeño, parece haber diferencias en el microbioma intestinal de las personas con síndrome CHARGE y los participantes con síntomas gastrointestinales graves. Nuestra comparación de los cuatro filos bacterianos más abundantes mostró que los individuos con CHARGE presentaban una tendencia hacia un aumento de Bacteroidetes y Proteobacteria, y una disminución de Firmicutes y Actinobacteria.

La investigación demuestra que el fenotipo CHARGE presenta una variabilidad significativa, al igual que nuestra población de estudio (Jongmans et al., 2006). Al comparar a los participantes con síndrome CHARGE que presentaban síntomas gastrointestinales graves con todos los participantes del estudio con puntuaciones normales de síntomas gastrointestinales, las diferencias en el microbioma intestinal fueron aún más evidentes. Esto es más evidente en nuestro grupo de hermanos gemelos monogóticos, donde un niño presenta síndrome CHARGE y el otro no. A pesar de las similitudes genéticas y de haber crecido en el mismo entorno, presentaron una diferencia notable en su microbioma intestinal.

El síntoma gastrointestinal más grave de nuestra cohorte fue el estreñimiento, seguido de gases y distensión abdominal. Esto es comparable a estudios que mostraron que el 37 % de las personas con CHARGE toman al menos un medicamento para el estreñimiento (Hudson et al., 2017; Blake y Hudson , 2017). El estreñimiento puede ser debilitante para los pacientes con síndrome de CHARGE, como se describe.

En la literatura y también en entrevistas con expertos (K. Blake, comunicación personal, 13 de diciembre de 2023). No solo afecta la calidad de vida, sino que, en casos extremos, puede provocar vólvulo y obstrucción (Blake, 2024). Al comparar a los individuos con síndrome de CHARGE y puntuaciones gastrointestinales graves con todos los participantes con puntuaciones gastrointestinales normales, encontramos significativamente más Bacteroidetes y significativamente menos Firmicutes y Cyanobacteria. Estas diferencias en la microbiota se han demostrado en otras patologías gastrointestinales. Curiosamente,

Se ha descubierto que las personas con autismo tienen una tendencia muy similar en su microbioma intestinal (Iglesias-Vázquez et al. 2020; De Angelis et al. 2013; Ho et al. 2020) y los modelos de autismo con pez cebra también han demostrado tiempos de tránsito lentos y dismotilidad intestinal, similar al modelo CHARGE de pez cebra (James et al. 2019; Cloney et al. 2018). Además, se ha reportado una disminución en la abundancia de Firmicute en diversos problemas, como las infecciones pediátricas por Clostridium difficile y la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (Wu y Lewis 2013; Dunn

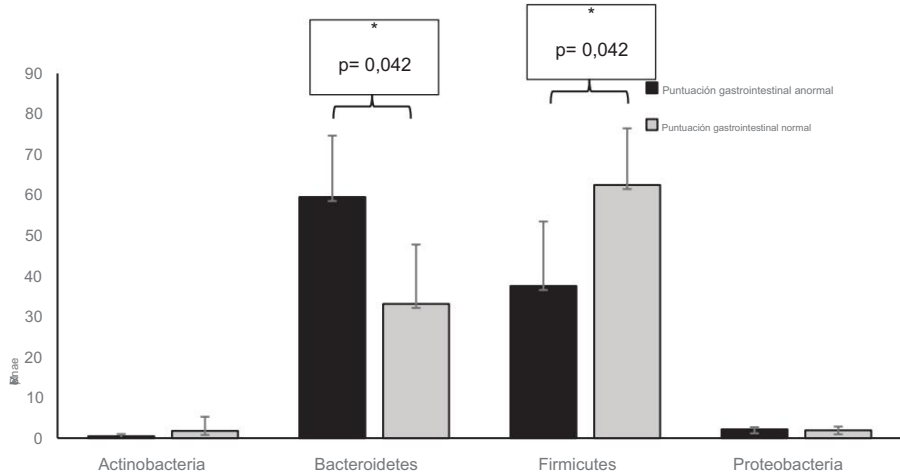
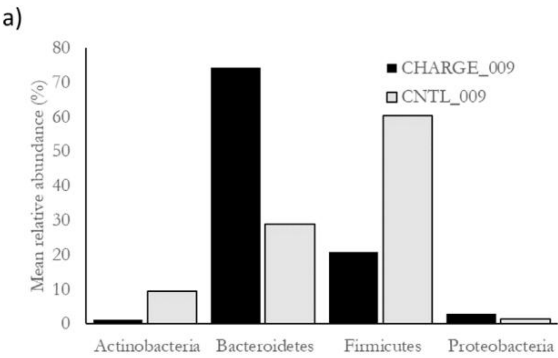
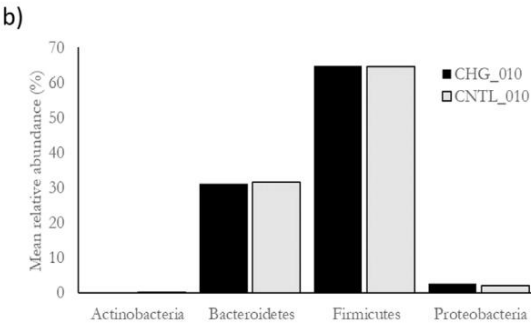


FIGURA 1 | Abundancia relativa media de los cuatro filos bacterianos más abundantes, determinada mediante secuenciación del ARNr 16S en muestras de heces para participantes con una puntuación de síntomas gastrointestinales PEDSQL grave (punto de corte inferior a 77) (n=4) frente a puntuaciones gastrointestinales normales (n=7). *Diferencias estadísticamente significativas con valores p .



	CHG 009	CNTL 009
PEDSQL score	73.9	98.2
Actinobacteria	1.175	9.466
Bacteroidetes	74.409	28.822
Firmicutes	20.877	60.345
Proteobacteria	2.867	1.322
ASV	90	109



	CHG 010	CNTL 010
PEDSQL score	96.8	98.9
Actinobacteria	0.151	0.077
Bacteroidetes	31.086	31.531
Firmicutes	64.790	64.58
Proteobacteria	2.668	1.974
ASV	184	196

FIGURA 2 | Abundancia bacteriana (%) y variantes de la secuencia del amplicón en dos pares de hermanos. (a) Hermanos gemelos con CHARGE del participante y puntuación PEDSQL anormal frente a hermanos no afectados con puntuación PEDSQL normal. (b) Hermanos en los que tanto el participante con CHARGE como el hermano no afectado presentan puntuaciones PEDSQL normales de síntomas gastrointestinales. Las tablas contienen los valores de los gráficos.

Se han reportado aumentos de Bacteroidetes en la EII y el SII con estreñimiento crónico (Walters et al., 2014; Gophna et al., 2006; Salem et al., 2018). La Tabla 4 resume estas tendencias en la literatura con respecto a nuestro estudio.

Comprender la implicación de estas bacterias intestinales puede ser difícil dada la compleja interacción entre todo el ecosistema y la función superpuesta de las bacterias. En el mundo occidental, Bacteroidetes y Firmicutes son los filos más abundantes que comprenden el 90% del microbioma intestinal (Human Microbiome Project Consortium 2012). Los Bacteroidetes se encuentran en el intestino distal donde descomponen los carbohidratos no digeribles a través de la fermentación (Johnson et al. 2017) y ayudan en la descomposición de metabolitos tóxicos (Bourriaud et al. 2002). Los Firmicutes también desempeñan un papel en la digestión de carbohidratos. La presencia de bacterias como Proteobacteria como Escherichia coli, que generalmente se encuentran en pequeñas cantidades, a menudo es patognomónica. De hecho, los estudios muestran que una menor abundancia de Firmicutes se asocia con una mayor abundancia de estas bacterias patógenas (Jandhyala et al. 2015).

Nuestro estudio mostró una correlación entre síntomas gastrointestinales más graves y diferencias en el microbioma intestinal que podrían contribuir a una mala salud intestinal. Planteamos la hipótesis de que el mecanismo por el cual las personas con CHARGE desarrollan disbiosis del microbioma intestinal probablemente sea multifactorial. Proponemos que el desarrollo nervioso deficiente, específicamente el nervio vago (X par craneal), causa peristalsis y motilidad gastrointestinales anormales, lo que provoca distensión abdominal y estreñimiento (Blake et al., 2008). Además, las anomalías estructurales y de innervación en el tracto gastrointestinal superior favorecen las dietas blandas ricas en carbohidratos.

Estas preferencias dietéticas y el vaciamiento gástrico retardado permiten más tiempo para la digestión y fermentación de los alimentos por parte de las bacterias intestinales. Además del control neural del intestino, el contenido intraluminal, la microbiota intestinal y los productos de la fermentación pueden modular la motilidad intestinal (Dimidi et al., 2017). Estudios previos demostraron que la ausencia de microbiota gastrointestinal en ratones libres de gérmenes provocó un vaciamiento gástrico retardado (Iwai et al., 1973). Por lo tanto, proponemos que podría existir un efecto cíclico por el cual las personas con CHARGE desarrollan disbiosis intestinal debido a una motilidad anormal, y este cambio en la microbiota intestinal empeora aún más el tiempo de tránsito intestinal y el estreñimiento.

Dada nuestra evidencia de que se observa disbiosis intestinal en personas con síndrome de CHARGE con síntomas gastrointestinales más graves, las terapias dirigidas al microbioma podrían tener un papel en esta población. La investigación para alterar el microbioma intestinal se ha centrado en los prebióticos, los probióticos y el trasplante fecal. Se han realizado extensas investigaciones sobre la utilidad de estas terapias para diversas afecciones médicas (Vriesman et al., 2020). Un metaanálisis sobre el uso

de probióticos y prebióticos en trastornos funcionales intestinales como el SII y el estreñimiento crónico encontraron que los probióticos son eficaces para la reducción de los síntomas del SII, específicamente el dolor abdominal, la hinchazón y la flatulencia, pero no hay evidencia sólida para el estreñimiento crónico. No se encontró que la terapia prebiótica tuviera ninguna mejora en el SII o el estreñimiento crónico (Ford et al. 2014). Curiosamente, se ha demostrado que la terapia probiótica reduce los comportamientos relacionados con la ansiedad en animales con disfunción del nervio vago (Collins et al. 2012). Más recientemente, la Academia Estadounidense de Pediatría ha publicado un informe clínico sobre el uso del trasplante de microbiota fecal (FMT) (Oliva-Hemker et al. 2023). Esto implica administrar bacterias fecales de un donante sano a pacientes con enfermedades intestinales para restaurar la disbiosis. En general, reconocen que los estudios respaldan el uso de FMT en pacientes pediátricos con infecciones moderadas a graves o recurrentes por C. difficile, pero no recomiendan su uso para otras afecciones. Las investigaciones sugieren que el TMF ayuda a aumentar la abundancia relativa de Bacteroidetes y disminuye la de Proteobacteria (Oliva-Hemker et al., 2023). En los últimos años, la investigación sobre el TMF ha aumentado drásticamente, incluyendo la EII, la diabetes, la enfermedad de injerto contra huésped y las personas con trastorno del espectro autista (TEA). Dadas las similitudes en los síntomas conductuales y gastrointestinales entre nuestra población y la población con TEA, nos interesa especialmente un estudio realizado por Kang et al. (2017) en el que 18 niños con TEA se sometieron a TMF y se encontraron...

Se ha observado una reducción del 80 % en los síntomas gastrointestinales, especialmente estreñimiento, diarrea y dolor abdominal, así como mejoras clínicas significativas en los síntomas conductuales. Recientemente, se ha investigado el uso de la estimulación del nervio vago para regular los síntomas conductuales y la motilidad gastrointestinal (Song et al., 2023; Hesampour et al., 2023). Actualmente, la estimulación del nervio vago no está indicada para el síndrome de CHARGE; sin embargo, el Dr. Blake presentó el caso clínico de una persona con síndrome de CHARGE y su experiencia con un estimulador implantable del nervio vago (Blake, 2024).

Se requieren futuras investigaciones en esta población. Nuestro estudio piloto incluyó participantes de una misma zona geográfica, y todos recibieron el mismo profesional de la salud que gestionó su síndrome CHARGE y el tracto gastrointestinal, lo cual podría ser una variable importante que influya en nuestros resultados. Es posible que estos pacientes no sean completamente representativos de la gravedad y el pronóstico de la disfunción intestinal en esta población. Sin embargo, recibieron un control intestinal exhaustivo y un apoyo significativo para fomentar la alimentación oral. Para validar nuestro hallazgo, se necesita un estudio internacional más amplio. Además, nuestro estudio simplemente analizó la abundancia de bacterias y no puede extraer conclusiones sobre su función. Futuro El trabajo debe investigar el análisis metabólico o la metabolómica inferida para obtener una verdadera apreciación de las implicaciones metabólicas. Por último, el microbioma intestinal también puede contribuir al comportamiento.

TABLA 4 | Resumen de las tendencias del microbioma intestinal observadas en individuos afectados en comparación con las tendencias del microbioma intestinal informadas en la literatura para otras afecciones, como el trastorno del espectro autista y la enfermedad inflamatoria intestinal.

	Bacteroidetes	Firmicutes	Proteobacteria
Síndrome de CHARGE	↑	↓	↑
Trastorno del espectro autista (De Angelis et al. 2013)	↑	↓	No estudiado
Enfermedad inflamatoria intestinal (Wu y Lewis 2013; Dunn et al. 2016; Walters et al. 2014; Gophna et al. 2006)	↑	↓	↑

cuestiones observadas en el síndrome de CHARGE, que aún no han sido investigadas.

4 | Conclusión

Nuestra investigación sugiere que las personas con síndrome de CHARGE con problemas gastrointestinales más graves, especialmente estreñimiento e hinchazón, presentan diferencias en su microbioma intestinal que también se han relacionado con el síndrome del intestino irritable (SII), los trastornos del espectro autista (TEA) y el estreñimiento crónico. Creemos que una mayor investigación sobre los productos metabólicos de estas bacterias y un mayor tamaño de la muestra aclararán aún más estos hallazgos preliminares. A medida que el trasplante fecal y la estimulación del nervio vago se estudian y utilizan más ampliamente, podría estar indicado su uso en personas con síndrome de CHARGE con dismotilidad intestinal y estreñimiento grave.

Contribuciones del autor

Emily R. Chedrawe, investigadora principal del estudio, autora principal.
Jessica Connors, investigadora asociada que apoyó el diseño del estudio.
Angela Arra, enfermera investigadora, revisora y editora del diseño del estudio y el reclutamiento de participantes, redactora del manuscrito. Katherine Dunn, análisis del microbioma. Kim Blake, supervisora estudiantil, supervisó el concepto, el diseño y la implementación del estudio, revisora y editora del estudio y del manuscrito. Johan van Limbergen participó en el diseño del estudio y la supervisión del laboratorio.

Declaración de ética

Este estudio recibió la aprobación ética del Comité de Ética de Investigación de IWK. Todos los participantes expresaron su consentimiento informado mediante conversaciones verbales y formularios de consentimiento con los investigadores antes de participar en el estudio.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Declaración de disponibilidad de datos

Los datos que respaldan los hallazgos de este estudio están disponibles previa solicitud al autor correspondiente. No son públicos debido a restricciones de privacidad o éticas.

Referencias

Amir, A., D. McDonald, JA Navas-Molina, et al. 2017. "Deblur resuelve rápidamente patrones de secuencias comunitarias de un solo nucleótido". *mSystems* 2, núm. 2: e00191-16. <https://doi.org/10.1128/msystems.00191-16>.

Blake, K. 2024. "Dra. Kim Blake. Video sobre la carga de POTS y problemas gastrointestinales complejos". <https://www.drkimblake.com>.

Blake, KD, TS Hartshorne, C. Lawand, AN Dailor y JW Thelin. 2008. "Manifestaciones de los nervios craneales en el síndrome CHARGE". *Revista estadounidense de genética médica*, parte A 146A, n.º 5: 585–592. <https://doi.org/10.1002/AJMG.A.32179>.

Blake, KD y AS Hudson. 2017. "Dificultades gastrointestinales y alimentarias en el síndrome de CHARGE: Una revisión completa". *Revista estadounidense de genética médica*, Parte C: Seminarios en genética médica 175, n.º 4: 496–506. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31586>.

Bolyen, E., JR Rideout, MR Dillon, et al. 2019. "Ciencia de datos del microbioma reproducible, interactiva, escalable y extensible utilizando

QIIME 2". *Nature Biotechnology* 37: 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>.

Bourriaud, C., S. Akoka, S. Gouptry, R. Robins, C. Cherbut y C. Michel. 2002. "Producción de butirato a partir de lactato por la microflora colónica humana". *Reproducción, nutrición, desarrollo* 42: S55.

Cloney, K., SL Steele, MR Stoyek, et al. 2018. "Etiología y validación funcional de la disfunción de la motilidad gastrointestinal en un modelo de pez cebra del síndrome CHARGE". *FEBS Journal* 285, n.º 11: 2125–2140. <https://doi.org/10.1111/febs.14473>.

Collins, SM, M. Surette y P. Bercik. 2012. "La interacción entre la microbiota intestinal y el cerebro". *Nature Reviews Microbiology* 10, no. 11: 735–742. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2876>.

Crist, W., C. Dobbelsteyn, AM Brousseau y A. Napier-Phillips. 2004. "Escala de evaluación pediátrica para problemas graves de alimentación: validez y fiabilidad de una nueva escala para niños alimentados por sonda". *Nutrición en la práctica clínica* 19: 403–408.

De Angelis, M., M. Piccolo, L. Vannini, et al. 2013. "Microbiota fecal y metaboloma de niños con autismo y trastorno generalizado del desarrollo no especificado de otra manera". *PLoS One* 8, no. 10: e76993.

Dimidi, E., S. Christodoulides, SM Scott y K. Whelan. 2017. "Mecanismos de acción de los probióticos y el sistema gastrointestinal". *Microbiota en la motilidad intestinal y el estreñimiento*. *Advances in Nutrition: An International Review Journal* 8, no. 3: 484–494. <https://doi.org/10.3945/an.116.014407>.

Dobbelsteyn, C., SD Peacocke, K. Blake, W. Crist y M. Rashid. 2008. "Dificultades alimentarias en niños con síndrome CHARGE: prevalencia, factores de riesgo y pronóstico". *Disfagia* 23, n.º 2: 127–135. <https://doi.org/10.1007/s00455-007-9111-6>.

Dunn, KA, J. Moore-Connors, B. Macintyre, et al. 2016. "El microbioma intestinal de pacientes pediátricos con enfermedad de Crohn difiere del de los controles sanos en genes que pueden influir en el equilibrio entre una respuesta inmunitaria sana y desregulada". *Enfermedades inflamatorias intestinales* 22, núm. 11: 2607–2618. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000949>.

Ford, AC, EM Quigley, BE Lacy, et al. 2014. "Eficacia de prebióticos, probióticos y simbióticos en el síndrome del intestino irritable y el estreñimiento idiopático crónico: revisión sistemática y metaanálisis". *Revista Americana de Gastroenterología* 109, n.º 10: 1547–1561. <https://doi.org/10.1038/ajg.2014.202> 29 de julio de 2014.

Fung, TC, CA Olson y EY Hsiao. 2017. "Interacciones entre la microbiota y los sistemas inmunitario y nervioso en la salud y la enfermedad". *Nature Neuroscience* 20: 145–155. <https://doi.org/10.1038/nn.4476>.

Gophna, U., K. Sommerfeld, S. Gophna, WF Doolittle y SJ van Veldhuyzen Zanten. 2006. "Diferencias entre las microfloras intestinales asociadas a los tejidos de pacientes con enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa". *Journal of Clinical Microbiology* 44: 4136–4141.

Hartshorne, N., A. Hudson, J. MacCuspie, et al. 2016. "Calidad de vida en adolescentes y adultos con síndrome CHARGE". *American Journal of Medical Genetics, Parte A* 170, n.º 8: 2012-2021.

Hesampour, F., CN Bernstein y JE Ghia. 2023. "Eje cerebro-intestino: estimulación invasiva y no invasiva del nervio vago, limitaciones y posibles enfoques terapéuticos". *Enfermedades inflamatorias del intestino* 30, n.º 3: 482–495.

Ho, LKH, VJW Tong, N. Syn, et al. 2020. "Cambios en la microbiota intestinal en niños con trastorno del espectro autista: una revisión sistemática". *Patógenos intestinales* 12, no. 1: 6. <https://doi.org/10.1186/s13099-020-0346-1>.

Hudson, A., M. MacDonald y K. Blake. 2016. "Comportamiento alimentario problemático y de empaque en el síndrome CHARGE: un análisis cualitativo". *Revista Internacional de Otorrinolaringología Pediátrica* 82: 107–115. <https://doi.org/10.1016/J.IJPORL.2016.01.009>.

Hudson, A., M. Macdonald, JN Friedman y K. Blake. 2017. "Síndrome CHARGE: Compromiso Gastrointestinal: De la Boca a la

- Ano". *Genetica Clínica* 92, no. 1: 10–17. <https://doi.org/10.1111/cge.12892>.
- Consorcio del Proyecto del Microbioma Humano. 2012. "Estructura, función y diversidad del microbioma humano saludable". *Nature* 486: 207–214.
- Iglesias-vázquez, L., GVG Riba, V. Arijá y J. Canals. 2020. "Composición de la microbiota intestinal en niños con trastorno del espectro autista: una revisión sistemática y un metaanálisis". *Nutrients* 12, n.º 3: 792. <https://doi.org/10.3390/nu12030792>.
- Issekutz, KA, JM Graham Jr., C. Prasad, IM Smith y KD Blake. 2005. "Análisis epidemiológico del síndrome CHARGE: Resultados preliminares de un estudio canadiense". *American Journal of Medical Genetics. Parte A* 133A, n.º 3: 309–317. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30560>.
- Iwai, H., Y. Ishihara, J. Yamanaka y T. Ito. 1973. "Efectos de la flora bacteriana en el tamaño del ciego y la tasa de tránsito del contenido intestinal en ratones". *Revista Japonesa de Medicina Experimental* 43: 297–305.
- James, DM, RA Kozol, Y. Kajiwara, et al. 2019. "Dismotilidad intestinal en un modelo mutante de autismo Shank3a;shank3b de pez cebra (*Danio rerio*)". *Molecular Autism* 10: 3.
- Jandhyala, SM, R. Talukdar, C. Subramanyam, H. Vuyyuru, M. Sasikala y DN Reddy. 2015. "El papel de la microbiota intestinal normal". *Revista Mundial de Gastroenterología* 21, n.º 29: 8836–8847. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>.
- Johnson, EL, SL Heaven, WA Walters y RE Ley. 2017. "Microbioma y enfermedad metabólica: una revisión del filo bacteriano Bacteroidetes". *Journal of Molecular Medicine* 95, n.º 1: 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00109-016-1492-2>.
- Jongmans, MCJ, RJ Admiraal, KP Van Der Donk y col. 2006. "Síndrome CHARGE: El espectro fenotípico de mutaciones en el gen CHD7". *Journal of Medical Genetics* 43, n.º 4: 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.1016.org/10.1136/jmg.2005.036061>.
- Kang, DW, JB Adams, AC Gregory, et al. 2017. "La terapia de transferencia de microbiota altera el ecosistema intestinal y mejora los síntomas gastrointestinales y autistas: un estudio abierto". *Microbiome* 5, n.º 1: 10. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0225-7>.
- Macdonald, M., A. Hudson, A. Bladon, E. Ratcliffe y K. Blake. 2017. "Experiencias en alimentación y disfunción gastrointestinal en niños con síndrome CHARGE". *American Journal of Medical Genetics, Parte A* 173, n.º 11: 2947–2953. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38458>.
- Martin, M. 2011. "Cutadapt elimina secuencias adaptadoras de lecturas de secuenciación de alto rendimiento". *EMBNET Journal* 17, n.º 1: 10–12. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>.
- Norgen Bioteck. 2023. "Tubos para la recolección y conservación de ácidos nucleicos en heces". [https://norgenbiotek.com/sites/default/files/resources/PI45660-5%20Recolección y conservación de ácidos nucleicos en heces cación%20Tubos%20Insertar.pdf](https://norgenbiotek.com/sites/default/files/resources/PI45660-5%20Recolección%20y%20conservación%20de%20ácidos%20nucleicos%20en%20heces%20cación%20Tubos%20Insertar.pdf).
- Oliva-Hemker, M., SA Kahn y WJ Steinbach. 2023. "Trasplante de microbiota fecal: Información para el pediatra". *Pediatría* 152, no. 6: e2023062922. <https://doi.org/10.1542/peds.2023-062922>.
- Peng, Y., Q. Tan, S. Afhami, et al. 2020. "Perfil de la microbiota intestinal en niños con síndrome de Prader-Willi". *Genes (Basel)* 11, n.º 8: 904. <https://doi.org/10.3390/genes11080904>.
- Peralta-Marzal, LN, D. Rojas-Velazquez, D. Rigters, et al. 2024. "Una firma microbiana robusta para el trastorno del espectro autista en diferentes estudios mediante aprendizaje automático". *Scientific Reports* 14: 814 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50601-7>.
- Qin, Z., J. Su, M. Li, et al. 2020. "El análisis clínico y genético de CHD7 amplía el genotipo y el fenotipo del síndrome CHARGE". *Fronteras en Genética* 11: 592. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00592>.
- Quast, C., E. Priesse, P. Yilmaz, et al. 2012. "El Proyecto de Base de Datos de Genes de ARN Ribosómico SILVA: Procesamiento de Datos Mejorado y Herramientas Web". *Nucleic Acids Research* 41, n.º D1: D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
- van Ravenswaaij-Arts, C., y DM Martin. 2017. "Nuevos conocimientos y avances en el síndrome CHARGE: diagnóstico, etiologías, tratamientos y descubrimientos de investigación". *American Journal of Medical Genetics, Parte C: Seminarios en genética médica* 175, n.º 4: 397–406.
- Saeed, NK, M. Al-Beltagi, AS Bediwy, Y. El-Sawaf y O. Toema. 2022. "Microbiota intestinal en diversos trastornos infantiles: implicaciones e indicaciones". *Revista Mundial de Gastroenterología* 28, n.º 18: 1875–1901. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i18.1875>.
- Salem, I., A. Ramser, N. Isham y MA Ghannoum. 2018. "El microbioma intestinal como regulador principal del eje intestino-piel". *Front Microbiol* 9: 1459. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01459>.
- Song, G., S. Trujillo, Y. Fu, F. Shibi, J. Chen y R. Fass. 2023. "Estimulación eléctrica transcutánea para trastornos de la motilidad gastrointestinal". *Neurogastroenterología y motilidad* PMID: 37288650 35: e14618.
- Varni, JW, CB Bendo, J. Denham, et al. 2014. "Módulo de síntomas gastrointestinales PedsQL™: viabilidad, confiabilidad y validez". *Revista de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica* 59: 347–355.
- Vriesman, MH, IJN Koppen, M. Camilleri, C. Di Lorenzo y MA Benninga. 2020. "Manejo del estreñimiento funcional en niños y adultos". *Nature Reviews. Gastroenterología y Hepatología* 17, n.º 1: 21–39. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0222-y>.
- Walters, WA, Z. Xu y R. Knight. 2014. "Metaanálisis de microbios intestinales humanos asociados con la obesidad y la EII". *FEBS Letters* 2014, n.º 588: 4223–4233.
- Wu, GD, y JD Lewis. 2013. "Análisis del microbioma intestinal humano y su asociación con enfermedades". *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 11, n.º 7: 774–777. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.03.038>.