



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

"Protocolo: Estudio de los valores de endotelina 1 en niños sanos y en niños con hipertensión pulmonar que viven en altura (2.640 metros sobre el nivel del mar - msnm), comparados con valores en niños que viven a baja altura (995 msnm)"

Carolina Burbano López

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Pediatría
Bogotá, Colombia
Año 2020

"Protocolo: Estudio de los valores de endotelina 1 en niños sanos y en niños con hipertensión pulmonar que viven en altura (2.640 metros sobre el nivel del mar - msnm), comparados con valores en niños que viven a baja altura (995 msnm)"

Carolina Burbano López

Protocolo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Pediatría

Director: Dr. Gabriel Díaz Góngora, Cardiólogo Pediatra

Grupo de Investigación:
Grupo Cardiología Pediátrica - Universidad Nacional

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Pediatría
Bogotá, Colombia
Año 2020

Agradecimientos y Dedicatoria

Quiero agradecer especialmente al equipo de Janssen S.A. y la Sub Dirección de Estudios Clínicos y de Epidemiología Clínica de la Fundación Santa Fé de Bogotá; quienes han sido apoyo incondicional en la elaboración y evolución de este proyecto, tanto para mí como para mi tutor, el Dr. Gabriel Diaz; y es por él, y su tenacidad con sacar adelante este protocolo, que hemos llegado tan lejos. Sin ustedes, esto no sería posible; gracias por creer en nosotros.

Dedicado a mi familia, por ser siempre mi apoyo, motivación y guía.

Resumen

La hipertensión pulmonar (HP) es una patología infrecuente, y en la literatura, la mayoría de evidencia existente se enfoca en adultos, desde la cual se extrapolan datos hacia la pediatría. Dentro de su fisiopatología, se conoce que la hipoxia hipobárica secundaria a la altura juega un papel importante en su etiología, en especial en el niño, que puede verse afectado desde la etapa prenatal. A pesar del tratamiento disponible, la HP implica gran morbimortalidad para el paciente pediátrico.

Dado el problema descrito y teniendo en cuenta que son pocos los biomarcadores disponibles en la práctica clínica con suficiente evidencia para el diagnóstico y seguimiento de esta patología, se resalta la Endotelina-1 (ET-1), molécula involucrada en los mecanismos fisiopatológicos que generan la HP y en ciertos medicamentos utilizados como primera línea de tratamiento. Por esto, se propone un estudio de casos-controles de tipo observacional analítico teniendo en cuenta como casos a pacientes pediátricos con hipertensión pulmonar que desarrollaron la enfermedad a gran altura (>2500 msnm), VS a baja altura (<1000 msnm), comparados con controles sanos que habitan en ambos niveles. En todos los subgrupos descritos se realizará la medición de ET-1 en sangre venosa periférica (previo consentimiento informado) y sus niveles se analizarán según los grupos de estudio establecidos y las variables seleccionadas para caracterizar la población y la enfermedad, con el fin de aportar evidencia que soporte su utilidad como herramienta diagnóstica y que contribuya a establecer la influencia de la hipoxia hipobárica en la fisiopatología de la enfermedad.

Palabras clave: Hipertensión pulmonar, Endotelina-1, Endotelinas, Biomarcador, Altura, Pediatría, Cardiología.

Abstract

Pulmonary hypertension (PH) is a rare pathology, and in the literature, most of the existing evidence focuses on adults, from which data are extrapolated to pediatrics. Within its pathophysiology, it is known that hypobaric hypoxia secondary to high altitude plays an important role in its etiology, especially in children, who can be affected since the prenatal stage. Despite the available treatment, PH implies great morbidity and mortality for the pediatric patient.

Given the problem described and considering that there are few biomarkers available in clinical practice with enough evidence for the diagnosis and follow-up of this pathology, Endothelin-1 (ET-1) is highlighted, as a molecule involved in the pathophysiological mechanisms that generate PH and in certain drugs used as the first line of treatment. For this reason, an analytical observational case-control study is proposed, taking into account as cases pediatric patients with pulmonary hypertension who developed the disease at high altitude (> 2500 masl), VS at low altitude (<1000 masl), compared with healthy controls that inhabit both levels. In all the subgroups described, ET-1 will be measured in peripheral venous blood (with prior informed consent) and its levels will be analyzed according to the established study groups and the variables selected to characterize the population and the disease, to provide evidence that supports its usefulness as a diagnostic tool and that contributes to establishing the influence of hypobaric hypoxia on the pathophysiology of the disease.

Keywords: Pulmonary Hypertension, Endothelin-1, Endothelins, Biomarkers, Altitude, Pediatrics, Cardiology.

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Planteamiento del problema y la pregunta de investigación	1
1. Marco conceptual.....	3
2. Justificación	11
3. Estado del arte.....	14
4. Importancia del estudio	18
5. Objetivos.....	20
6. Metodología	21
7. Resultados esperados	35
8. Consideraciones éticas	37
9. Posibles sesgos y dificultades.....	40
10. Cronograma de actividades y presupuesto	41
Bibliografía	55

Planteamiento del problema y la pregunta de investigación

Aunque la hipertensión pulmonar del paciente pediátrico, así como del adulto, es una enfermedad infrecuente de incidencia no esclarecida, su impacto en la calidad de vida de aquellos que la padecen y la morbimortalidad asociada son consideradas significativas, con aún grandes interrogantes sobre su fisiopatología y aproximación terapéutica. Dada la incidencia baja de la enfermedad sobre el nivel del mar, existen pocos estudios en este grupo etario, con números limitados de pacientes, y dada su asociación a factores genéticos y el uso de múltiples estrategias medicamentosas, e incluso quirúrgicas para casos selectos, los costos de estudios y tratamiento para el sistema de salud no están bien determinados en el ámbito internacional (1).

En el contexto colombiano, no se cuenta con una base de datos nacional que permita analizar el perfil de nuestros pacientes y las particularidades asociadas a la severidad de la enfermedad y a su presentación que ofrece la gran variedad de altitudes a las cuales habitan los diferentes grupos poblacionales, considerando que la presencia de hipoxia hipobárica a grandes alturas se ha relacionado con la fisiopatología de la HP y de otras múltiples enfermedades congénitas y del desarrollo. Sin embargo, la mayoría de estudios relacionados a este trastorno se enfoca en la población adulta y en condiciones de normoxia (a nivel del mar). De manera adicional, cabe resaltar la pobre cantidad de biomarcadores validados como útiles a la hora de diagnosticar y seguir a los pacientes con HP. Considerando la importancia de la altitud en la etiología de la enfermedad y la gran cantidad de habitantes de altura que comprende la población Bogotana y sus alrededores y el contexto referido de los biomarcadores utilizados, proponemos la Endotelina 1 (ET-1) como un biomarcador candidato, el cual se ha relacionado con la enfermedad en múltiples estudios sin establecer niveles estándar.

Por ende, se propone estudio para establecer: ¿Cuáles son los niveles esperados de ET-1 en sangre periférica para los pacientes pediátricos con hipertensión pulmonar habitantes de gran altura (>2500 msnm) y baja altura (<1000 msnm), y cómo se diferencian de los niveles de controles pediátricos sanos habitantes de gran y baja altura? Y, según estos resultados ¿cuál es su asociación con factores sociodemográficos específicos y la severidad de la enfermedad?

1. Marco conceptual

1.1 Hipertensión pulmonar en la población pediátrica

La hipertensión pulmonar en pediatría, así como en el adulto, se define como el valor de presión arterial media de la arteria pulmonar (mPAP) >25 mmHg, dentro del contexto del paciente mayor a los 3 meses de edad y ubicado a nivel del mar (1) aunque en el reciente congreso de Niza (Febrero de 2018), se bajó este valor a >20 mmHg. Sin embargo, cabe resaltar que esta patología encierra una gran cantidad de etiologías y espectros, dentro de cuyas definiciones podemos identificar otros parámetros de medición para establecer el diagnóstico (Ver Tabla 1 adjunta).

Su incidencia y prevalencia exacta en la población infantil es desconocida, aunque se estima que se presentan 1 a 2 casos por cada 1.000.000 personas en la población general, y en la población pediátrica se presenta más en el género femenino, con una relación 1,8:1 (2). Dentro de la literatura universal, existen grandes registros de pacientes, dentro de los cuales se destacan el registro TOPP (Tracking Outcomes in Pediatric Pulmonary Hypertension), REVEAL (Registry to Evaluate Early And Long-Term PAH Disease Management) de Estados Unidos, y los de países como Suiza, Reino Unido, Francia y Holanda. Dentro de los mismos, la Hipertensión Arterial Pulmonar Idiopática -IPAH (35-60% de los casos) y la Hipertensión Arterial Pulmonar-PAH asociada con cardiopatías congénitas (24-52% de los casos) representan la mayoría de formas progresivas de PH en los pacientes pediátricos (3) (4).

A pesar de ser una enfermedad poco frecuente en la población infantil y de que existen estrategias terapéuticas tanto médicas como quirúrgicas (dependiendo de la etiología y la

severidad), representa gran morbimortalidad para los pacientes afectados, con pobres resultados a largo plazo en casos severos y de origen idiopático (1).

Para su clasificación etiológica, se tiene en cuenta la Clasificación WHO y la clasificación de Panamá. La primera fue realizada con base en pacientes adultos, la cual no considera la gran y compleja heterogeneidad de fenotipos que presenta la población pediátrica, por lo cual la clasificación Panamá expande sus categorías para resaltar la importancia de los mecanismos de desarrollo fetal e infantil, y de adaptación en la patogénesis del trastorno, abarcando el equilibrio entre el desarrollo de la vasculatura pulmonar a través de mecanismos angiogénicos, y la pérdida vascular secundaria a factores genéticos, epigenéticos y ambientales. Aunque esta segunda clasificación es más amplia, aún necesita ser probada y validada (1) (5) (Ver tablas 2 y 3 adjuntas).

Dentro de la clasificación de Panamá se incluyó la categoría 9, que hace referencia a la exposición pediátrica a la hipoxia hipobárica (5), un factor que en general, no se suele considerar al hablar de la patogénesis y el curso clínico de la hipertensión pulmonar. En la clasificación WHO, esta se incluye dentro del grupo 3 (hipertensión pulmonar secundaria a enfermedad pulmonar y/o hipoxia), sin embargo, el concepto y fisiopatología que implica la hipoxia hipobárica en la evolución de la hipertensión pulmonar para el paciente habitante de altura es completamente diferente a la hipoxia secundaria a patologías (1) (6). En la mayoría de estudios reportados en la literatura, se tienen en cuenta pacientes estudiados a bajas alturas, y la mayoría de ellos son en pacientes adultos. De esta manera, los resultados y las estrategias de tratamiento son extrapolados a la población pediátrica y a los habitantes de altura, sin tener en cuenta que el comportamiento de la enfermedad y por ende, el origen de la misma y el pronóstico del paciente, son completamente diferentes (6).

Colombia, un país rico en biodiversidad, se caracteriza por contener dentro de su territorio múltiples ecosistemas y climas favorecidos por su variedad geográfica, y por ende, cuenta con poblaciones que viven a diversos niveles de altura con respecto al nivel del mar. La clasificación de la altura es diversa dependiendo de la literatura revisada, siendo debatible

un punto de corte para altura moderada (entre 2500 y 3000 msnm). Por la evidencia de cambios relevantes secundarios a la hipoxia hipobárica a partir de los 2500 msnm, se considera adecuada la clasificación de altura como (6) (7):

- Moderada: 1500 - 2500 msnm.
- Alta: 2500 - 3500 msnm.
- Muy alta: 3500-5500 msnm.
- Extremadamente alta: >5500 msnm.

Dado lo anterior, las enfermedades en las cuales la hipoxia hipobárica juega un papel fundamental dentro de su patología tendrán diferente incidencia según la altura en la cual se desarrolle y habite el individuo afectado. A pesar de que la concentración de oxígeno es igual a diferentes alturas (21%), la presión barométrica disminuye de manera inversamente proporcional con la altura, y con ella, la presión parcial de oxígeno, y por ende, se compromete también la disponibilidad del mismo para el individuo (6). Como consecuencia, los habitantes de altura pueden presentar elevación crónica de la presión de la arteria pulmonar, y se ha observado que esta exposición en los modelos animales puede resultar en remodelación estructural del lecho vascular pulmonar (en cuanto al fenotipo endotelial y la proliferación de la íntima, así como la modificación de la media y la adventicia), así como cambios en la expresión de citoquinas, factores procoagulantes, moléculas de adhesión de la matrix y alteración del equilibrio entre factores vasodilatadores y vasoconstrictores (entre estos últimos se incluyen las endotelinas), lo cual resulta en respuestas diferentes al tratamiento (8).

La hipoxia hipobárica también puede tener impacto en el desarrollo embrionario y fetal, lo cual se puede ver reflejado de manera simple en la prevalencia de las cardiopatías congénitas. Mientras es ampliamente conocido que las cardiopatías congénitas más frecuentes son los defectos ventriculares septales (9), en las poblaciones sometidas a la altura, la prevalencia del conducto arterioso persistente se encuentra aumentada, lo cual puede correlacionarse con el hecho de que, para su cierre efectivo, la saturación arterial de oxígeno es un factor fundamental. Bialkowski et al. estudiaron las diferencias entre pacientes con esta cardiopatía a diferentes alturas, evidenciando mayor prevalencia en las

poblaciones sometidas a hipoxia hipobárica, así como un mayor perímetro ductal, un tipo anatómico diferente (tipo A) predominante y mayor presión se la arteria pulmonar, con implicaciones importantes a la hora de decidir el tipo de tratamiento vía catéter (10).

En cuanto a la aproximación diagnóstica de esta patología, además de una historia clínica completa y un examen físico minucioso, se requiere un estudio extenso de la función cardíaca antes de iniciar cualquier tratamiento (excepto en pacientes inestables que requieran inicio de terapia empírica). Los pacientes con sospecha de problemas pulmonares deben ser evaluados con las imágenes pertinentes (incluyendo una radiografía de tórax); un análisis inicial con electrocardiograma puede mostrar hallazgos iniciales que sugieren impacto en la función cardíaca, mientras que el ecocardiograma permite evidenciar cardiopatías congénitas y alteraciones en cuanto a las funciones sistólica y diastólica y valvular, permitiendo valorar la hipertensión pulmonar y sus características, aunque para el diagnóstico definitivo se requiere el cateterismo cardíaco. Este último permite medir las presiones de la arteria pulmonar y los parámetros que permitirán establecer el diagnóstico, su severidad y determinar el tratamiento más apropiado; dentro de esta evaluación es indispensable la realización del test de vasorreactividad aguda (AVT), el cual se considera significativo con una disminución de la presión de la arteria pulmonar (PAP) y de la relación entre la resistencia vascular pulmonar y sistémica de $\geq 20\%$ sin generar disminución en el gasto cardíaco. Una vez instaurado el tratamiento, se debe hacer seguimiento con cateterismos dependiendo del curso clínico. Otras herramientas útiles de evaluación son la resonancia magnética (para evaluar de manera más precisa la función ventricular y las dimensiones de las cámaras cardíacas), la caminata de 6 minutos (6MWD) para determinar la tolerancia al ejercicio en pacientes pediátricos de edad evaluable, e incluso estudios del sueño en pacientes en los que se sospeche trastornos relacionados (1).

Los estudios genéticos se recomiendan en los pacientes con formas idiopáticas o hereditarias de la enfermedad. En cuanto a los biomarcadores, solo hay evidencia disponible en las guías de manejo que soporta el uso del péptido natriurético cerebral (BNP) o el N-terminal (NT) proBNP, el cual refleja un estado de sobrecarga de presión y

de trabajo cardiaco, y el estado hemodinámico del paciente, siendo útil para suplementar su seguimiento y respuesta al tratamiento, así como para determinar su pronóstico, con altos niveles correlacionados con mayor mortalidad (1) (11).

Se han estudiado múltiples biomarcadores potenciales en el espectro de la hipertensión pulmonar, los cuales incluyen el factor de diferenciación de crecimiento 15, osteopontina, galectina-3, la molécula de adhesión intracelular soluble 1, el ancho de distribución eritrocitaria, quimioquinas, metaloproteasas de matriz, apelina, microRNAs, células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales, todos ellos aunque prometedores, con resultados controversiales (11). Cabe resaltar que la mayoría de estudios reportados en la literatura se enfocan en el paciente adulto, son limitados por la falta de estandarización, una cantidad pequeña de pacientes y limitaciones para seguimiento a largo plazo (12), y por ende, su rol en el curso de la enfermedad pediátrica es desconocido, así como la amplitud del impacto de factores inherentes a este grupo de pacientes (como la edad, el desarrollo y crecimiento en la vida prenatal y postnatal, factores nutricionales, factores ambientales, actividad física, entre otros) sobre los niveles de estos marcadores. Por lo tanto, el estudio de posibles marcadores potenciales, su estandarización y validación pueden aportar a mejorar el estudio, manejo y determinación de pronóstico para esta patología, en especial para los niños afectados (1) (11).

Dentro de estos biomarcadores estudiados se encuentran las endotelinas, y entre ellas, la endotelina 1 (ET-1), un factor vasoconstrictor endógeno que se ha encontrado elevado en múltiples estudios realizados en pacientes con hipertensión pulmonar. Esta molécula producida por el endotelio, estimula el músculo liso vascular y genera vasoconstricción, proliferación celular e hipertrofia al actuar sobre su receptor ET-A (12). Su correlación con los mecanismos fisiopatológicos detrás de la hipertensión pulmonar se han estudiado ampliamente, por lo cual los medicamentos antagonistas del receptor de endotelina (Bosentan, Ambrisentan y Macitentan) se consideran uno de los medicamentos de primera línea para el tratamiento, junto con los inhibidores de la fosfodiesterasa (PDE) (1). A pesar de verse relacionado con la patología, no hay suficiente evidencia que valide la ET-1 como marcador diagnóstico o pronóstico de enfermedad, ni se encuentran estandarizados sus

niveles de laboratorio. Por otra parte, es indispensable conocer los valores normales de la población y de los pacientes a la altura de Bogotá, y sobre los valores de Endotelina en la altura no existe ningún conocimiento.

1.2 Endotelina-1 (ET-1)

La endotelina-1 (ET-1) es un polipéptido de 21 aminoácidos que contiene 4 residuos de cisteína, entre los cuales se forman 2 puentes disulfuro, con gran capacidad vasoconstrictora, siendo uno de los compuestos endógenos más potentes con esta cualidad, además de atribuírsele propiedades mitogénicas y de relacionarse con fibrosis, hipertrofia vascular y cardíaca, e inflamación (13) (14) (15). Fue aislada por primera vez en 1988, al ser evidenciada su producción por parte de células endoteliales pulmonares y vasculares sistémicas. Estudios posteriores mostraron la existencia de otras 2 moléculas similares, ET-2 y ET-3, las cuales se diferencian de su predecesora por dos y seis residuos aminoácidos respectivamente, siendo estos 3 polipéptidos los conformantes de la familia de las endotelinas, siendo la ET-1 de expresión predominante en la mayoría de tejidos, con mayores niveles localizados en el pulmón (16). Su liberación principal está dada por la superficie basal del endotelio, y es sintetizado de manera parcial por el músculo liso, aunque también es secretada por macrófagos alveolares, leucocitos polimorfonucleares y fibroblastos (15) (16).

El gen que codifica la ET-1 se localiza en el cromosoma 6, y el polipéptido es resultado de la degradación de 2 precursores, inicialmente el prepro ET-1, molécula conformada por 203 aminoácidos, que es clivada por una endopeptidasa intracelular para formar la proendotelina o Big ET-1, de 38 aminoácidos, que es transformada de manera final por la ECE-1, una metaloproteína ligada a membrana, hasta su forma activa, la ET-1 (14) (17).

Su acción está mediada por 2 receptores acoplados a proteína G, el tipo A (ETAR, cuya acción se encuentra mediada por la activación de la fosfolipasa, la hidrólisis del fosfoinositol a inositol 1,4,5 trifosfato y diacilglicerol, y la subsecuente liberación de calcio) y el tipo B (ETBR, que actúa de manera adicional a través de la liberación de NO y activación del canal de potasio), de distribución diferencial según el tipo de célula y órgano

específico. De esta manera, ETAR se expresa principalmente en el músculo liso y en los miocitos, mientras que ETBR tiene expresión tanto en estas células como en el endotelio. Ambos receptores tienen relación con inducción de vasoconstricción, proliferación celular e hipertrofia, además de tener efecto inotrópico en el miocardio. Sin embargo, al ETBR se le atribuyen propiedades vasodilatadoras, al intervenir en la eliminación del ET-1 y la liberación de sustancia con este efecto con propiedades antiproliferativas como el óxido nítrico y las prostaciclinas (12) (15). Su acción proinflamatoria se basa en sus propiedades para estimulación neutrófila para liberar elastasa, activación de mastocitos y estimulación de monocitos en producción de múltiples citoquinas como la IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α y TGF β , e inducción de la liberación de fibronectina, proliferación fibroblástica y producción de procolágeno (14) (16).

Su acción es predominantemente autocrina y paracrina, mediando el tono basal de la vasculatura, de manera que aproximadamente 80% de su cantidad sintetizada se secreta al compartimento basolateral hacia el músculo liso e intersticio adyacentes, por lo cual, de manera basal presenta una mayor concentración tisular que plasmática; sus niveles plasmáticos usuales en el adulto suelen corresponder a 1-2 pg/ml, y en consecuencia no se considera una hormona circulante en estados fisiológicos. En su forma circulante, su vida media varía entre 4 y 7 minutos, debido a su rápida adhesión a tejidos y metabolización enzimática (15) (16) (18). Su regulación es dependiente de la inducción de su expresión genética y de la síntesis secundaria, dado que las células son incapaces de almacenarla. Su inducción se ha correlacionado con múltiples factores, entre los cuales se incluyen la hipoxia, isquemia, alteraciones del pH, vasopresina, angiotensina II, catecolaminas, insulina, HDL, LDL (oxidado), trombina, múltiples citoquinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión, mientras que se ve inhibida por acción del óxido nítrico, prostaciclinas, péptido atrial natriurético y estrógenos (16) (18).

El aumento de sus niveles se ha visto correlacionado con la presencia de hipertensión pulmonar y cardiopatías con hiperflujo pulmonar en múltiples estudios, tanto en humanos como en modelos animales; sin embargo, se ha correlacionado con otros múltiples sistemas (cardiovascular, renal, respiratorio, endocrino, neurológico, gastrointestinal) y

diferentes patologías, dentro de las cuales se incluyen: falla cardíaca congestiva, hipertensión arterial sistémica, vasoespasmo cerebral secundario a hemorragia subaracnoidea, insuficiencia renal, broncoconstricción y asma, esclerodermia, estados fibróticos como la fibrosis pulmonar idiopática, entre otras (13) (14) (16). En el contexto de hipertensión pulmonar, se ha visto relación significativa con múltiples parámetros como el intercambio gaseoso, índices hemodinámicos, índice de resistencia vascular pulmonar, mPAP, gasto cardíaco, índice cardíaco y la evaluación con caminata de 6 minutos, aunque no se ha podido relacionar con la clase funcional NYHA (en adultos) (12).

Es relevante discutir sobre los medicamentos dirigidos a inhibir este mecanismo que se utilizan para el manejo de la hipertensión pulmonar, debido a que el Bosentan tiene una acción no selectiva sobre ambos receptores, mientras que el Ambrisentan tiene acción selectiva sobre el ETAR, aunque no se han demostrado aún diferencias clínicas significativas al comparar su uso y aún es objeto de estudio en la población pediátrica (12).

2. Justificación

La hipertensión pulmonar en el niño es una entidad poco usual, pero con gran impacto en cuanto a morbimortalidad y en la calidad de vida del paciente. Dentro de la literatura revisada, se encontró carencia con respecto a estudios sobre la enfermedad en población pediátrica en la altura, teniendo en cuenta que, de por sí, la cantidad de estudios exclusivos en niños es escasa comparados con los de la población adulta, así como no existen estudios que comparen estos pacientes con controles sanos y a diferentes niveles de altura. La mayoría de los estudios sobre HP se han realizado en adultos y a nivel del mar o a baja altura sobre el nivel del mar y generalmente esos resultados son extrapolados a los pacientes que viven en altura lo cual no es correcto; por otra parte, la mayoría de los estudios sobre HP y altura se han realizado en alturas extremas, mientras que el principal grupo poblacional que vive en la altura se encuentra entre 2.500 y 4.200 msnm. Para completar las lagunas existentes sobre la HP en el habitante de la altura, los resultados de los estudios realizados en los adultos, se han extrapolado a los niños y los resultados de estudios sobre hipertensión pulmonar en niños que viven a nivel del mar se han extrapolado a los niños con hipertensión pulmonar habitantes de la altura, lo cual tampoco es correcto. En la falta de estudios sobre HP en la altura influyen varias razones, entre las cuales, una muy importante es el factor económico y la falta de centros para estudio de HP en los habitantes de la altura lo cual es necesario, sobre todo si tenemos en cuenta que en el mundo viven más de 140.000.000 de habitantes en la altura, de los cuales alrededor de 80.000.000 viven en la China y más de 40.000.000 en la Región Andina. Es importante señalar que Bogotá es la ciudad ubicada por encima de 2.500 MSNM con mayor población en el mundo, con 9.5 millones de habitantes contando el área metropolitana, lo que significa el 7.4% de la población mundial y el 23.6% de la población de Los Andes (7).

La hipoxia hipobárica consiste en la reducción en la captación de oxígeno que lleva a la disminución de la cantidad del mismo que es transportada en la sangre hacia las células en el organismo, con efectos secundarios en el sistema cardiovascular. Este fenómeno es resultado de la disminución de la presión barométrica y de la presión parcial de oxígeno generados por la exposición a grandes alturas. Los cambios fisiológicos que se derivan de su efecto depende de aclimatación o adaptabilidad, los cuales dependen del nivel de altitud y la duración de la exposición. El fenómeno afecta el equilibrio entre especies reactivas de oxígeno (ROS) y antioxidantes, que tienen impacto en la vasculatura pulmonar principal, así como en la generación de vasoconstricción pulmonar hipóxica, hipertensión pulmonar, hipertrofia ventricular derecha y el desarrollo de falla cardiaca (19).

Según los estudios de Dante Peñaloza, el efecto de la hipoxia hipobárica es más notorio por encima de los 2.500 MSNM, siguiendo una curva parabólica de rápido ascenso; por lo que a la altura de Bogotá es evidente su impacto (7). Es muy importante conocer nuestros propios valores relacionados con la HP, pero debemos partir por conocer los valores normales en la población normal. Con relación a este último aspecto, hemos terminado un estudio sobre evolución de la presión pulmonar en recién nacidos sanos a la altura de Bogotá y presentado en el 11º Congreso anual del PVRI (Pulmonary Vascular Research Institute. Miami 2017) en el cual encontramos un retraso en la disminución de las presiones pulmonares en 10.4 de los recién nacidos. Este estudio, próximo a ser publicado obtuvo una distinción. Resultados semejantes fueron obtenidos por el grupo del Perú en la década de los 60; sin embargo, estos estudios fueron hechos a mayores alturas en Morococha y cerro de Pasco (4.500 y 4.340 msnm, respectivamente).

Aunque la HP figura como una patología poco frecuente, en la altura por efecto de la hipoxia hipobárica, es más frecuente de lo que parece. Esto ha sido evidenciado por uno de los investigadores durante los últimos 30 años y cuantificado en los últimos 2 años, habiendo encontrado un promedio de 1.1 pacientes pediátricos nuevos al mes (datos del TOPP 2 Registry – Registro Mundial de Hipertensión pulmonar en niños).

Teniendo en cuenta la falta de estudios en la población pediátrica ya descrita, la escasez de biomarcadores validados para el diagnóstico y seguimiento de esta patología y la influencia de la altura como mecanismo fisiopatológico en el paciente con HP habitante de altura, es importante identificar los niveles de ET-1 presentes en niños sanos y en los pacientes pediátricos con diagnóstico de hipertensión pulmonar que viven a la altura de Bogotá: 2640 msnm y compararlos con niños enfermos y sanos que viven a baja altura snm ya que la endotelina juega un importante papel en la patogénesis de la HP, a tal punto que los inhibidores de la Endotelina son un pilar del tratamiento de la HP actualmente como ya se mencionó. De esta manera, se podrá evidenciar si estos niveles son diferentes a los publicados a nivel del mar o baja altura incluyendo el grupo control que se estudiará en nuestro medio.

Con el establecimiento de estos valores, se podrán tener por primera vez niveles de ET-1 en niños sanos y en niños con HP habitantes de la altura de Bogotá, 2.640 msnm, lo cual servirá para proponer su utilidad como marcador diagnóstico, dentro del contexto de que solo el BNP cuenta con evidencia suficiente, y que la confirmación del diagnóstico de la enfermedad requiere de la medición de la presión arterial pulmonar mediante cateterismo cardíaco, procedimiento invasivo cuya realización en nuestro medio puede verse retrasada por inconvenientes administrativos de nuestro sistema de salud.

3.Estado del arte

3.1 Descripción de la búsqueda

Para la revisión del tema en Pubmed, se utilizaron los términos Mesh "Hypertension, Pulmonary" y "Endothelins", en combinación con palabras de texto similares presentadas como términos alternativos para aumentar la sensibilidad de la búsqueda ("Pulmonary Hypertension", "Endothelium-Derived Vasoconstrictor Factors", "Vasoconstrictor Factors, Endothelium-Derived", "Endothelin"), con la introducción de los límites "Humans", "Child: birth-18 years", "English" y "Spanish". La búsqueda arrojó 97 resultados, de los cuales 26 artículos reportaban estudios en relación a pacientes con diagnóstico de hipertensión pulmonar y la medición de niveles de ET-1. Los otros resultados fueron excluidos por corresponder a reviews, estudiar ET-1 en patologías diferentes a la de interés, correspondientes a estudios en modelos animales, estudios con respecto a una intervención terapéutica o no encontrarse disponibles de manera libre o dentro de las bases de datos a las cuales tenemos acceso. Antes de la inclusión de límites de lenguaje se encontraron varios estudios con abstracts que describen estudios útiles, sin embargo, por barreras de lenguaje, no fueron incluidos.

En cuanto a BVS, se realizó la búsqueda combinando los términos MESH "Endotelina-1 / Endothelin-1 / Endotelina-1" Y "Hipertensión Pulmonar / Hypertension, Pulmonary / Hipertensão Pulmonar", utilizando los límites de búsqueda "Estudio de casos y controles", "Informe de casos", "Estudio de cohorte" (en tipo de estudio), "Niño", "Adolescente", "Recién nacido", "Lactante", "Niño, preescolar" (en edades), "Inglés" y "Español" (en idiomas). La búsqueda arrojó 19 resultados. De estos, 4 artículos corresponden a estudios

como los reportados en la búsqueda anterior, los cuales ya habían sido identificados en la búsqueda de Pubmed.

Ninguno de los estudios encontrados hizo énfasis en diferencias con respecto a los niveles de ET-1 en comparación a la altura en la cual se realizaba el estudio. Los reviews identificados fueron utilizados para la elaboración del marco teórico y estado del arte.

3.2 Estudios relacionados con el problema

Dentro de la patogénesis en la hipertensión pulmonar del paciente pediátrico, se ha demostrado que la ET-1 se encuentra en cantidades elevadas en el pulmón en desarrollo y se encarga de mantener la resistencia vascular pulmonar durante el periodo fetal. Sin embargo, en los pacientes con hernia diafragmática congénita, así como en la hipertensión pulmonar persistente del recién nacido, puede mantenerse elevada en la vida postnatal (20). Keller et al. realizaron un estudio de seguimiento de pacientes con hernia diafragmática congénita en comparación a controles sanos con monitoreo de los niveles de ET-1 y en relación con la presión arterial pulmonar estimada por ecocardiografía, evidenciando que los niveles de este marcador se correlacionaron con la severidad de la enfermedad y con peor pronóstico (21). Kumar et al. realizaron mediciones de ET-1 en controles sanos con respecto a pacientes con hipertensión pulmonar persistente del recién nacido, encontrando relación con el gradiente alveolo arterial de oxígeno, el requerimiento de uso de ECMO y la presencia de la enfermedad (22).

Del mismo modo, múltiples estudios en población pediátrica han buscado medir los niveles del marcador en correlación a estados de hipertensión pulmonar de múltiples etiologías, en algunas ocasiones con respecto a controles sanos, y de ellos, la mayoría ha demostrado una relación estadísticamente significativa, con algunos resultados contradictorios. Li X et al. realizaron una comparación entre los niveles de ET-1 encontrados entre pacientes con cardiopatías congénitas con y sin hipertensión pulmonar, comparados con controles sanos, evidenciando niveles más altos en los pacientes con cardiopatías, y entre ellos, en los pacientes con hipertensión pulmonar, con relación estadísticamente significativa con la presión sistólica y media de la arteria pulmonar y según la severidad de la enfermedad

(23). Li et al. realizaron un estudio utilizando grupos de pacientes similares en quienes también encontraron diferencias significativas de los niveles de ET-1, en especial en relación a la presión sistólica de la arteria pulmonar y la presión diastólica del ventrículo derecho (24) mientras que Allen SW et al., con el mismo modelo de estudio, encontraron niveles mayores en relación a la presencia de la enfermedad y el grado de vasoconstricción durante la hipoxia aguda (25). Yoshibayashi et al. estudiaron pacientes cardiopatas que se diferenciaban por la presencia o ausencia de hipertensión pulmonar, en ausencia de controles sanos, mostrando relación significativa entre los niveles de ET-1 y la presión de la arteria pulmonar (26).

Lu et al. pudieron correlacionar los niveles de ET-1 además de otros marcadores como la adrenomedulina, con la presencia de diferentes grados de hipertensión pulmonar en pacientes pediátricos con cardiopatías, con niveles mayores en relación a la severidad y con respecto a los controles sanos. De manera adicional, pudieron realizar comparación de estos niveles en pacientes que fueron sometidos a cirugía (niveles tomados en el día 7 de postoperatorio) con disminución significativa de los mismos (27). Ishikawa et al. evaluaron de manera similar a pacientes con cardiopatías congénitas e hipertensión pulmonar contra controles sanos, con medición de niveles de ET-1 pre y postquirúrgicos, con disminución significativa de los niveles en el postoperatorio exitoso (de 4 semanas) de manera acorde con parámetros de presión pulmonar (mejoría de presión sistólica de arteria pulmonar, índice de resistencia vascular pulmonar y presión en cuña de la arteria pulmonar), y con diferencia significativa con respecto a controles. Este hallazgo, además de correlacionarse con la enfermedad, es sugestivo de que la afectación endotelial de la vasculatura pulmonar es reversible con un manejo temprano y adecuado (28).

Otros estudios se enfocaron en detección de ET-1 en muestras de patología. Lutz J et al. compararon biopsias pulmonares de pacientes con cardiopatías con cortocircuito de izquierda a derecha e hipertensión pulmonar, evidenciando mayor densidad de receptores ETAR e inmunoreactividad de ET-1 en los casos arteriales pulmonares de los pacientes con mayor resistencia vascular y menor flujo contra los pacientes con menos resistencia vascular y mayor flujo (29). Giaid et al. realizaron estudios de inmunoreactividad de ET-1

en las arterias pulmonares de pacientes adultos con arteriopatía pulmonar e hipertensión pulmonar secundaria, con evidencia de aumento del mRNA en el endotelio vascular de los pacientes afectados en comparación a las muestras de controles (17).

En el lado contrario, Vincent JA et al. compararon pacientes pediátricos con cardiopatías con y sin cortocircuitos de izquierda a derecha, con una relación significativa entre los niveles de ET-1 y el aumento del flujo pulmonar, el Qp/Qs y la presión sistólica de la arteria pulmonar; sin embargo, no hubo diferencias en cuanto a la presencia o ausencia de hipertensión pulmonar (30). De modo contradictorio, Fratz et al. evaluaron múltiples pacientes con hipertensión pulmonar secundaria a varias cardiopatías (incluyendo también pacientes adultos) sin presencia de aumento de la resistencia vascular pulmonar, con evidencia de niveles de ET-1 aumentados en relación a mayor presión media de la arteria pulmonar, sugiriendo que la presión tiene mayor influencia en la elevación del biomarcador con respecto a el flujo pulmonar aumentado (31), mientras que Latus et al. estudiaron los niveles de ET-1 y Big ET-1 en pacientes pediátricos con hipertensión pulmonar de múltiples etiologías, en quienes no pudieron establecer relación entre los niveles y la severidad de la enfermedad (32). De modo similar Tutar et al. encontraron niveles significativamente mayores en los pacientes pediátricos con cardiopatías incluidos en su estudio en comparación a los controles sanos, sin embargo, no evidenciaron diferencia significativa entre los pacientes con cardiopatía con hipertensión pulmonar y sin ella (33).

La mayoría de los estudios referenciados que midieron niveles plasmáticos de ET-1 utilizaron muestras tomadas durante procedimientos quirúrgicos o invasivos; sin embargo, Tutar et al., mencionados previamente (33), y Nootens et al. (quienes realizaron un estudio en pacientes adultos con falla ventricular derecha secundaria a hipertensión pulmonar, con relación significativa entre los niveles de ET-1 y la presión de la aurícula derecha) (34) utilizaron muestras de sangre venosa periférica con resultados significativos.

4. Importancia del estudio

Ninguno de los estudios mencionados o encontrados en la literatura con respecto al paciente pediátrico relaciona los niveles de ET-1 y la presencia de hipertensión pulmonar teniendo en cuenta la altura de la población como variable de estudio, y todos se encuentran limitados en sus resultados debido a que el grupo de pacientes que manejan es usualmente bajo, secundario a la presunta baja incidencia de la patología (2). Tampoco se encontraron estudios que comparen los niveles de este marcador con pacientes pediátricos sanos. En Colombia, Monroy et al. realizaron un estudio en pollos de engorde como modelos animales comparando 2 grupos, uno en condiciones de hipoxia hipobárica (altura mayor a 2500 msnm) y uno en condiciones de normoxia relativa (300 msnm) evidenciando desarrollo de hipertensión pulmonar en 53% de los animales habitantes de altura (determinada por índice de masa cardíaca) mientras que los animales a baja altura no desarrollaron esta condición. Al ser sacrificados y realizarse tinción de rutina y pruebas de inmunohistoquímica para ET-1 en los pulmones de las aves, evidenciaron expresión marcada de ET-1 en las arteriolas de las aves enfermas en relación con sus compañeras sanas habitantes de altura, y diferencias incluso entre aves sanas de alturas diferentes, con menor expresión ante condiciones de normoxia relativa, además de cambios morfológicos asociados al desarrollo de la patología (35). Este estudio posee características similares al que proponemos.

En el contexto colombiano, no contamos con una base de datos nacional de pacientes pediátricos con hipertensión pulmonar, y nuestro modelo actual de salud dificulta la realización de un manejo multidisciplinario y el seguimiento de los pacientes a largo plazo. Dada la influencia de la hipoxia hipobárica en el desarrollo de la hipertensión pulmonar, incluso desde la etapa prenatal, y la escasez de marcadores diagnósticos validados para

esta patología, se propone medir los niveles de ET-1 en pacientes enfermos que viven en alta y baja altura (con desarrollo de la enfermedad siendo habitante de altura) y en controles sanos comparables de alta y baja altura, con el fin de determinar los rangos usuales para estas poblaciones, lo cual permitiría estandarizar los niveles esperables en estos grupos, y proponer su utilidad como marcador diagnóstico a diferentes niveles de altura, así como permitiría soportar la evidencia del impacto de la hipoxia hipobárica en la etiología de la enfermedad.

5. Objetivos

5.1 General

Determinar la asociación de la endotelina 1 (ET-1) y la presencia de hipertensión pulmonar en el paciente pediátrico en la altura de Bogotá (2.640 msnm) y Cali (995 msnm) al comparar sus niveles con aquellos obtenidos en niños sanos habitantes de alta y baja altura, así las relaciones existentes con variables sociodemográficas y factores de severidad de la enfermedad.

5.2 Específicos

- ❖ Establecer los rangos usuales de ET-1 sérico para poblaciones pediátricas con y sin hipertensión pulmonar.
- ❖ Analizar las características sociodemográficas y antecedentes clínicos que presenta la población enferma en comparación a la población sana.
- ❖ Relacionar los niveles de ET-1 con las características poblacionales identificadas y reconocer posibles asociaciones significativas.
- ❖ Comparar los niveles de ET-1 con factores asociados a la enfermedad (etiología según clasificaciones, severidad, clase funcional, parámetros de paraclínicos en el seguimiento).
- ❖ Identificar la relación existente entre los niveles séricos de ET-1 y la altura sobre el nivel del mar.
- ❖ Aportar información para soportar la utilidad de la ET-1 como posible biomarcador de enfermedad.

6. Metodología

Se propone un estudio piloto observacional analítico tipo casos y controles, en el cual se reclutarán pacientes para ambos grupos en 2 localizaciones a diferentes alturas. Los **casos** serán seleccionados entre los pacientes pediátricos que padecen la enfermedad de interés y con diagnóstico confirmado con cateterismo cardiaco. Dado que el tratamiento farmacológico con antagonistas del receptor de endotelina puede alterar los niveles de ET-1, y el desconocimiento de cómo otros tratamientos farmacológicos pueden influir en la molécula a estudiar, se deberán incluir pacientes con diagnóstico de novo que no han iniciado tratamiento farmacológico. Dada la posibilidad de requerimiento de oxígeno suplementario previa al diagnóstico, este no será considerado como criterio de exclusión. Los mismos serán captados por consulta externa u hospitalización en la Fundación Santa Fe de Bogotá (FSFB) y el Centro Médico Imbanaco de Cali, centros implicados.

La captación de pacientes de novo implica que, al momento de ser identificados, estos podrían aún no contar con un cateterismo cardiaco como prueba diagnóstica. Dada esta condición, y la capacidad de mantener congelada la muestra hasta por 2 meses, se tomará su muestra sanguínea para estudio, y esta será procesada. Según el reporte posterior del cateterismo, el paciente será incluido o excluido del estudio.

El cateterismo cardiaco, como procedimiento diagnóstico, es invasivo, de mayor costo, requiere de programación, anestesia general y periodo de ayuno previo, y no se encuentra libre de riesgos para el paciente. Sin embargo, sigue considerándose el Gold Standard para diagnóstico, y puede ser realizado en pacientes desde la edad establecida para diagnóstico (3 meses) según la experiencia del centro de atención. Wadgy R. reportó una

serie de 61 casos pediátricos de hipertensión pulmonar confirmados con cateterismo, donde la edad de los pacientes varió desde los 4 hasta los 144 meses (36).

Tanto los pacientes seleccionados como casos así como controles serán escogidos en relación al cumplimiento de criterios de inclusión y ellos así como sus familias recibirán explicación previa sobre los objetivos y características del estudio, con firma y consentimiento y asentimiento informado según sea requerido por las edades de los pacientes, asegurando su participación voluntaria. Para la obtención del asentimiento informado, se deberá contar con una asesoría previa por parte de psicología/psiquiatría infantil.

6.1 Grupos de estudio y criterios de selección

Para la selección de los grupos se tendrán en cuenta los siguientes criterios:

6.1.1 Grupo de casos a gran altura

- *Criterios de inclusión:*

- Pacientes entre 3 meses (por definición de la enfermedad (1)) y <18 años de edad con diagnóstico de hipertensión pulmonar de cualquier etiología dentro de la clasificación OMS o de Panamá, confirmada por cateterismo (Posterior o previa a toma de muestra).
- Inicio de sintomatología por enfermedad dada en la altura (>2500 msnm)
- Pacientes sin tratamiento farmacológico instaurado, con excepción de oxígeno suplementario.

- *Criterios de exclusión:*

- Diagnóstico no confirmado por cateterismo (Pacientes que no serán llevados a cateterismo de manera definitiva por la severidad de su enfermedad, contraindicación médica o decisión de la familia).
- Se excluirá la hipertensión pulmonar persistente del recién nacido dentro del estudio, al ser una patología característica de este grupo etario, el cual se excluirá de los rangos de edad a manejar.
- Debido a que parte de estos pacientes se han trasladado a menores alturas (moderadas-bajas) como parte de su tratamiento médico, ellos serán

excluidos con el fin de demostrar el impacto que la gran altura tiene en la enfermedad a estudiar.

6.1.2 Grupo de casos a baja altura

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes entre 3 meses (por definición de la enfermedad (1)) y <18 años de edad con diagnóstico de hipertensión pulmonar de cualquier etiología dentro de la clasificación OMS o de Panamá, confirmada por cateterismo (Posterior o previa a toma de muestra).
 - Inicio de sintomatología por enfermedad dada en baja altura (<1500 msnm).
 - Pacientes sin tratamiento farmacológico instaurado, con excepción de oxígeno suplementario.
- Criterios de exclusión:
 - Diagnóstico no confirmado por cateterismo (Pacientes que no serán llevados a cateterismo de manera definitiva por la severidad de su enfermedad, contraindicación médica o decisión de la familia).
 - Se excluirá la hipertensión pulmonar persistente del recién nacido dentro del estudio, al ser una patología característica de este grupo etario, el cual se excluirá de los rangos de edad a manejar.

En consideración a la clasificación de altura expuesta previamente, Bogotá, ciudad capital, que se ubica a 2640 msnm (37) se considera una localización de alta altura, mientras que Cali, Valle, ubicada a 995 msnm (38) se considera de altura baja, y estas 2 ciudades y sus poblaciones aledañas se altura similar serán los centros en los cuales se realizará el estudio.

Para la selección de los **controles sanos**, se debe tener en cuenta que deben ser comparables en edad y sexo con sus casos correspondientes, y serán seleccionados entre los pacientes pediátricos hospitalizados que cumplan los criterios establecidos en las instituciones participantes, de modo que se facilite la comunicación con el paciente y sus familiares, la valoración de psicología/psiquiatría infantil requerida, y la toma de la muestra,

dado que el paciente puede requerir toma de otras muestras dentro de su proceso de hospitalización en curso.

La relación a tener en cuenta entre casos (40 pacientes, 20 en altura y 20 en baja altura) y controles será de **1:1** en relación a número de controles en gran altura (20) y número de controles en baja altura (20) respecto al *número total* de pacientes seleccionados (para un total de 40 pacientes casos y 40 controles sanos entre alta y baja altura, que serán analizados de manera independiente).

Cabe resaltar que se propone un número bajo de pacientes casos debido a la baja incidencia de la enfermedad, que puede implicar dificultades en el reclutamiento de pacientes con diagnóstico de novo sin tratamiento farmacológico, problema que puede ser aún mayor en el caso de baja altura. Se propone un estudio piloto debido a que no es posible saber de manera premeditada la cantidad de pacientes que serán incluidos en el estudio, por lo cual se propone un número objetivo. En caso de no obtenerse suficientes pacientes casos en altura baja, se tomarán controles en baja altura comparables a los pacientes casos de gran altura. En el caso de obtenerse un mayor número de pacientes al propuesto, serán incluidos para aumentar el poder estadístico del estudio.

6.1.3 Grupo de controles a gran altura

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes entre 3 meses y <18 años de edad sin patologías crónicas de importancia.
 - Lugar de nacimiento y crianza ubicado en Bogotá o poblaciones de >2500 msnm.
 - Clase funcional I.
 - Comparables en sexo y edad a los casos.
 - Hospitalizado en Fundación Santa Fé por enfermedades agudas o programación ambulatoria quirúrgica, con diagnósticos diferentes a los establecidas en los criterios de exclusión.
- Criterios de exclusión:

-
- Paciente con patología crónica como problemas cardiovasculares (cardiopatías congénitas, hipertensión arterial, etc.), respiratorios (displasia broncopulmonar, asma, fibrosis quística, SAHOS, etc.), reumatológicas (lupus, esclerodermia, etc.), gastrointestinales (enfermedad inflamatoria intestinal, gastritis crónica) o neoplásicos, con requerimiento de tratamiento crónico.
 - Paciente con patología aguda grave que requiere manejo quirúrgico de urgencia o tratamiento en unidad de mayor complejidad (Intermedios, Intensivos).
 - Sospecha de hipertensión pulmonar.
 - Requerimiento de oxígeno suplementario.

6.1.4 Grupo de controles a baja altura

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes entre 3 meses y <18 años de edad sin patologías crónicas de importancia.
 - Lugar de nacimiento y crianza ubicado en Cali o poblaciones de <1500 msnm.
 - Clase funcional I.
 - Comparables en sexo y edad a los casos.
 - Hospitalizado en Centro Médico Imbanaco por enfermedades agudas o programación ambulatoria quirúrgica, con diagnósticos diferentes a los establecidas en los criterios de exclusión.
- Criterios de exclusión:
 - Paciente con patología crónica como problemas cardiovasculares (cardiopatías congénitas, hipertensión arterial, etc.), respiratorios (displasia broncopulmonar, asma, fibrosis quística, SAHOS, etc.), reumatológicas (lupus, esclerodermia, etc.), gastrointestinales (enfermedad inflamatoria intestinal, gastritis crónica) o neoplásicos, con requerimiento de tratamiento crónico.

- Paciente con patología aguda grave que requiere manejo quirúrgico de urgencia o tratamiento en unidad de mayor complejidad (Intermedios, Intensivos).
- Sospecha de hipertensión pulmonar.
- Requerimiento de oxígeno suplementario

De este modo, la clasificación se resume en el siguiente esquema:

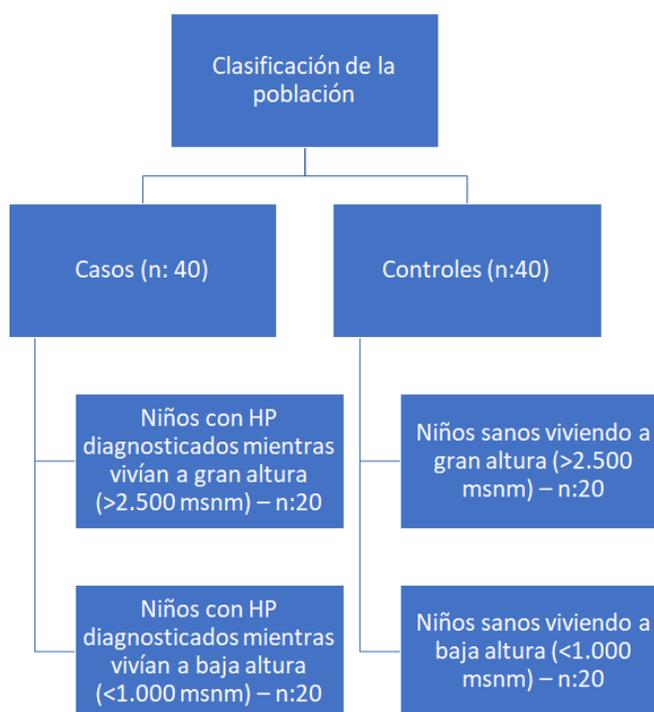


Figura 1: Clasificación de los grupos de estudio incluidos en el protocolo.

Es importante resaltar que, dada la inclusión de pacientes de novo, para la cual se tomará en cuenta un periodo de 1 año de captación, la cantidad de pacientes propuesta puede ser menor a la captada, por lo cual puede disminuir la muestra a estudio, lo cual reducirá de manera proporcional el número de controles sanos.

6.2 Cálculo del tamaño de la muestra poblacional

Teniendo en cuenta que los valores estándar en plasma heparinizado humano adulto sano varían entre 0.58 y 1.96 pg/ml (Valores determinados como normales según estudios realizados en voluntarios sanos, referidos en inserto de kit de ET-1 a utilizar (39)) y teniendo en cuenta como punto de corte significativo 1.17 pg/ml para considerar el nivel de ET-1, como elevado en estudios realizados en adultos en el contexto de hipertensión pulmonar (40) y haciendo uso del el software libre R para excel, se determinó que la muestra óptima para cada grupo de estudio corresponde a 20 pacientes por grupo, tomando como referentes:

- 1.00 (aproximado desde 0.98) como efecto de muestra basándose en el valor punto de corte reportado para el paciente adulto referido previamente
- Intervalo de confianza del 95%
- Poder estadístico de 0.8
- Análisis de 4 grupos de estudio.

Es importante destacar que no se encuentran referentes en la literatura que comparen valores de endotelina en grupos de pacientes pediátricos a diferentes alturas, pero si se encuentran estudios en pacientes adultos respecto al nivel de ET-1 y su relación con hipertensión pulmonar. Jankowich et al. estableció la relación existente entre ET-1 y la presencia de hipertensión pulmonar determinada por ecocardiograma en una cohorte de adultos Africano Americanos, así como su asociación con la presencia de falla cardiaca y una mayor mortalidad, para lo cual el 6.7% del total de la población tenía el diagnóstico (217 de 3223 adultos) (40). Aunque corresponde a un número elevado de pacientes, Low et al pudo encontrar una asociación significativa entre los niveles de la molécula en sangre y esputo, y la presencia de hipertensión pulmonar asociada a cardiopatía congénita en pacientes adultos, así como con alteración de pruebas de función pulmonar, al comparar un grupo de 20 pacientes con la enfermedad con 2 controles, uno con antecedente cardiopatía congénita sin asociación a hipertensión pulmonar y otro sin cardiopatía, demostrando que una cantidad de menos pacientes también puede ser útil (41). Teniendo en cuenta la inclusión de pacientes de novo con el diagnóstico, así como la incidencia indeterminada de la enfermedad en el paciente pediátrico habitante de altura y los cálculos

realizados con los parámetros especificados, proponemos 4 grupos poblacionales de 20 pacientes cada uno, con el fin de aumentar el poder estadístico del estudio, y teniendo en cuenta que existe la posibilidad que, dentro del periodo de tiempo determinado para recopilar pacientes (1 año) puede llegar a no lograrse captar la cantidad de pacientes objetivo.

6.3 Prueba de laboratorio y muestra en sangre

La prueba de laboratorio para la detección de la ET-1 consiste en una medición por técnica ELISA con resultados expresados en pg/ml, en una muestra de sangre venosa periférica tomada por personal con experiencia en el procedimiento, procesándose en el plasma de la muestra, tomada en tubos con heparina o con EDTA (Recomendación del fabricante).

La prueba [Quantikine® ELISA Endothelin-1 Immunoassay] manufacturada por R&D Systems, Inc., consiste en una ELISA en Sandwich con placas de 96 Pozos. Está marcado como "FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES", autorizado para su uso en humanos. La prueba se puede correr en plasma o suero, para el estudio se decide realizar en plasma [rango en voluntarios sanos 0.58-1.96 pg/ml, con sensibilidad de dosis mínima detectable entre 0.031-0.207 pg/ml, valor mediana en individuos sanos: 1.17 pg/ml] (39).

Las muestras, tomadas con los anticoagulantes previamente mencionados, se deben centrifugar por 15 minutos a 1000 x g dentro de los primeros 30 minutos de recolección y en caso de no procesarse de inmediato, se debe tomar la alícuota correspondiente y almacenar la muestra a ≤ -20 °C, con una estabilidad de dos meses congeladas.

La muestra de cada uno de los casos y controles se procesará por duplicado como recomendación del fabricante, y se incluirán estándares y controles (estos últimos no incluidos en el kit, por lo cual se adquirirán por separado). Cada Kit permite el estudio de

34 pacientes. Se ha calculado una muestra aproximada de 40 casos, con requerimiento de 2 grupos control comparables a gran y baja altura, por lo cual se estima una muestra total de aproximadamente 80 pacientes. Se debe tener en cuenta que las muestras máximo pueden conservarse por 2 meses para su procesamiento, y que el tiempo de recolección de pacientes corresponde a 1 año, siendo posible acumular muestras para procesarse con un mismo kit, pero perdiendo la posibilidad de usar el resto de placas disponibles en el mismo para las muestras acumuladas de los siguientes 2 meses, se consideran 6 Kits (utilización de 1 cada 2 meses), teniendo en cuenta la posibilidad de requerir repetir alguna muestra. Como es una prueba de montaje manual y se recomienda el procesamiento mínimo de media placa por montaje para evitar diferencias significativas en tiempos, se debe enviar las muestras de manera agrupada para disminuir los sesgos. El tiempo de análisis requerido es de 4.5 horas para obtener el resultado.

Para facilitar el procesamiento de las muestras y disminuir la probabilidad de sesgos, se debe procesar las mismas en el mismo centro médico donde fueron tomadas (Laboratorio de FSFB), con el fin de disminuir la probabilidad de sesgos que implicaría 2 laboratorios que procesen las muestras por separado. Todas las muestras se procesarán con el mismo kit de laboratorio bajo las mismas indicaciones de uso. Las muestras tomadas deben ser centrifugadas y congeladas a la temperatura mencionada, para realizar el procesamiento del kit al completar la cantidad de pacientes requerida.

Las muestras permiten un tiempo de almacenamiento bajo congelación de hasta 2 meses para ser procesadas, por lo cual se recolectarán para ser enviadas desde el centro en Cali hacia el laboratorio en Bogotá de manera mensual via mensajería manteniendo la cadena de frío con el fin de mantener la calidad de la muestra, y poder ser procesadas en el laboratorio.

Las muestras serán utilizadas exclusivamente para el análisis de ET-1, posterior al cual serán desechadas según los protocolos de bioseguridad establecidos en el laboratorio correspondiente.

6.4 Centros involucrados

La institución donde se realizará la recolección de datos y muestras de grupo de casos y control en altura corresponde a la FSFB en Bogotá, mientras que los casos y controles de baja altura corresponde al Centro Médico Imbanaco en la ciudad de Cali. Todas las muestras serán procesadas en la ciudad de Bogotá como se explicó con anterioridad. En convenio directo se encuentra establecido entre la FSFB y la Universidad Nacional de Colombia, con colaboración de Centro Médico Imbanaco.

6.5 Variables por analizar

Entre las variables a investigar en todos los participantes del estudio se encuentran:

Variables demográficas:

- Sexo.
- Edad.
- Lugar de nacimiento (y altura relacionada).
- Lugar de residencia actual (y altura relacionada).

Resultado de laboratorio:

- Nivel de ET-1 resultante en laboratorio.

Antecedentes clínicos:

- Edad gestacional al nacimiento
- Complicaciones de gestación y nacimiento (especificadas en tabla de variables)
- Vía de nacimiento
- Peso al nacer.
- Requerimiento de IOT al nacimiento.
- Requerimiento de oxígeno suplementario al nacer
- Tiempo de requerimiento de oxígeno posterior al nacimiento (semanas)
- Patologías y padecimientos: Definidos por CIE10.
- Antecedentes familiares positivos en primer y segundo grado para cardiopatía generadora de hipertensión pulmonar o hipertensión pulmonar secundaria a alguna otra etiología.

Para los pacientes del grupo de casos se tendrán en cuenta datos pertinentes a su enfermedad. Dada la importancia de comparar los niveles de ET-1 con otros marcadores de enfermedad para establecer su correlación con la severidad de la misma, se tendrán en cuenta los valores de mPAP obtenidos por cateterismo, el valor estimado de presión de la arteria pulmonar obtenido por ecocardiograma (Estudio de mayor disponibilidad, de adecuada correlación con presiones medidas por cateterismo y predictor de mortalidad, sin embargo, limitado por calidad de imagen, operador dependiente, con mediciones de presión indirectas imprecisas con limitada cantidad de estudios que verifican validez en la población pediátrica (42)), la clase funcional del paciente en el momento del diagnóstico (Teniendo en cuenta la clasificación de la PVRI Paediatric Workforce que tiene en cuenta grupo etario, crecimiento, desarrollo y asistencia a guardería/colegio, dado que la clase funcional se considera uno de los pocos factores pronósticos dentro del espectro de la enfermedad (43)) y los niveles de BNP/Pro-BNP (Biomarcador validado para uso en hipertensión pulmonar como reflejo de sobrecarga de presión, predictor de riesgo de la condición en enfermedades predisponentes como esclerosis sistémica y enfermedad de células falciformes, marcador de mejoría o empeoramiento como respuesta a tratamientos instaurados, pronóstico (44)) y de ácido úrico (Marcador de alteración del metabolismo oxidativo y de pronóstico, de uso clínico limitado por influencia en sus niveles por uso de medicamentos como diuréticos y alopurinol (44)), que son tomados de manera rutinaria dentro del estudio de la enfermedad, y cuyos valores se obtendrán de los registros de la historia clínica.

- Clasificación de etiología según OMS (Tabla 2 anexa).
- Clasificación de etiología según Panamá (Tabla 3 anexa).
- Clasificación clínica de cardiopatía congénita asociada con hipertensión pulmonar (Si aplica según la etiología del paciente - Tabla 4 anexa).
- Edad al momento del diagnóstico.
- Sitio de residencia en el momento de inicio de enfermedad.
- Datos de cateterismo diagnóstico.
- Ecocardiograma al diagnóstico: Énfasis en presión estimada de la arteria pulmonar.

- Grado de hipertensión pulmonar.
- Uso de oxígeno suplementario.
- Sometimiento a procedimientos quirúrgicos para tratamiento de la enfermedad de base.
- Clase funcional (Tablas 5-9 anexas) al momento del diagnóstico
- Nivel de BNP/Pro BNP en el momento del diagnóstico.
- Nivel de ácido úrico en el momento del diagnóstico.

Se especifican definiciones operativas de variables en las tablas anexas (*Anexo B*).

6.6 Registro de datos y análisis estadístico

Los datos serán consignados inicialmente en un formato físico creado en Word (*Anexo C*), y posteriormente serán transcritos a un formato de Excel creado en Google Drive, al cual tendrán acceso únicamente las personas involucradas en la investigación.

Estos datos obtenidos se tendrán en cuenta en su totalidad para su análisis y los resultados serán publicables en artículos y congresos, sin embargo, las identidades de los pacientes y sus familias se mantendrán en completa confidencialidad por el grupo investigador. El análisis de los datos se hará en relación a las variables establecidas de la población de estudio en general y a las variables específicas para el grupo de casos, además de análisis selectivo para cada uno de los grupos de estudio en relación a los niveles obtenidos de ET-1, con el fin de establecer una relación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las variables de enfermedad y severidad de la misma, altura a la cual se encuentran los grupos analizados y descartar posible relación con variables adicionales establecidas que puedan establecer confusión. Del mismo modo, se compararán los factores pronósticos y de severidad adicionales recopilados de la entrevista con el paciente y su historia clínica, con el fin de establecer la relación entre los mismos.

Aunque el objetivo del estudio es obtener valores de p significativos, se debe resaltar que los resultados finales son impredecibles, y que aunque no se logre obtener una diferencia

estadísticamente significativa, los resultados son de gran impacto clínico y serán publicados igualmente dada su relevancia en el campo investigativo.

Para el análisis se considerarán los datos de manera anónima. Los posibles tipos de análisis a realizar son:

- Análisis exploratorio de datos para describir la muestra.
- Prueba Chi cuadrado y/o Exacta de Fischer, para determinar la asociación entre factores cualitativos.
- Análisis de correlación de Spearman (no paramétricos) y/o Pearson (paramétricos) para determinar relación entre variables continuas.
- Análisis de regresión múltiple, para determinar los factores que explican significativamente la ET-1.
- Análisis de componentes principales, para reducir las variables y explicarlas como componentes que determinan la ET1.

Se utilizará el software libre R v3.6 de 2019 para realizar los análisis estadísticos pertinentes y las gráficas necesarias. Las especificaciones del software se encuentran resumidas en su pagina web [<https://www.r-project.org/>].

6.7 Plan de publicación y presentación en congreso

Se considera que, dada la propuesta innovadora de este estudio, sus resultados son candidatos a ser publicados en una revista indexada de alto impacto enfocada en cardiología, en la tabla 10 se indican las revistas propuestas (Ver tabla 10 en anexo A).

Inicialmente, se había planteado la presentación de los resultados del proyecto en el 8th World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery (2021), sin embargo, dadas las demoras en el inicio del proyecto dadas por el inicio de la pandemia por Sars-Cov-2, no se tendrán listos los datos para su análisis para las fechas establecidas para la inscripción en el evento (Enero a Abril de 2020), por lo cual se propone la presentación de

los resultados del estudio en el próximo congreso disponible, en cuanto se disponga del calendario del mismo. Se adjunta el plan de calidad, con información adicional sobre los procesos a seguir durante la aplicación del protocolo (*Anexo D*).

6.8 Investigadores involucrados

Además del director del proyecto, el Dr. Gabriel Fernando Díaz Góngora, los siguientes investigadores estuvieron involucrados en la revisión del protocolo y han colaborado en su implementación, en calidad de coinvestigadores:

Dr. Angelo Valencia (Cali)

Médico especialista en Cardiología Pediátrica

Correo electrónico: anvalenc@yahoo.es

Teléfono de contacto: 3016613144

Entidad: Centro Médico Imbanaco

Dr. José Antonio de la Hoz (Bogotá)

Médico especialista y con maestría en Epidemiología

Correo electrónico: jose.delahoz@fsfb.org.co

Teléfono de contacto: 3507084846

Entidad: Fundación Santa Fé de Bogotá

Dra. Sonia Restrepo (Bogotá)

Médica especialista en Neumología Pediátrica

Correo electrónico: sonito75@gmail.com

Teléfono de contacto: 3164740605

Entidades: Universidad Nacional, Fundación Santa Fé de Bogotá

7. Resultados esperados

7.1 Resultados de investigación

- Obtención de rangos esperados de ET-1 en sangre periférica de pacientes pediátricos con hipertensión pulmonar y de poblaciones sanas habitantes a diferentes niveles de altura.
- Caracterización de la población pediátrica con hipertensión pulmonar.
- Verificar la relación existente entre factores biológicos, marcadores de severidad y parámetros paraclínicos en el estudio de la hipertensión pulmonar con los niveles del biomarcador sérico estudiado.
- Comprobar la influencia de la hipoxia hipobárica generada en el habitante de altura sobre la generación de la enfermedad y los niveles de ET-1, tanto en pacientes enfermos como en controles sanos.

7.2 Productos de investigación

- *Especialidad médica:* Dentro de los co-investigadores se incluye a la Dra. Carolina Burbano, estudiante residente de tercer año de la especialidad en Pediatría de la Universidad Nacional de Colombia, con el fin de hacer del estudio su proyecto de Grado y parte de su formación profesional.
- *Eventos científicos:* Al considerarse un trabajo que busca establecer la utilidad de un nuevo biomarcador en una enfermedad considera inusual en la población pediátrica general, se buscará llevar sus resultados y progresos a eventos relevantes a nivel internacional, con el fin de aportar a la divulgación de nuevo

conocimiento (Ej: *World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery - WCPCCS*).

- *Artículo original en revista indexada*: Como parte de generación de nuevo conocimiento, se divulgarán los resultados del estudio en un artículo original, el cual será propuesto, e idealmente, publicado en una revista indexada.
- Dada la poca cantidad de estudios en la población pediátrica y en el paciente habitante de altura, así como la disponibilidad limitada de evidencia respecto a biomarcadores de enfermedad validados, el estudio podría brindar información valiosa que sustente la utilidad de la ET-1 como posible biomarcador en el diagnóstico y seguimiento de la hipertensión pulmonar.

7.3 Impacto ambiental

El presente estudio implica un impacto medio ambiental leve, representado en el manejo de las muestras biológicas, que debe seguir los estándares establecidos de laboratorio y disposición posterior establecidos en cada institución.

7.4 Impacto de los resultados

Aporte de evidencia de calidad sobre la utilidad de la ET-1 en el diagnóstico de la hipertensión pulmonar infantil en el niño con HP habitante de la altura, patología con estudios insuficientes en la literatura para la población pediátrica y con pocos biomarcadores validados hasta la fecha.

8. Consideraciones éticas

El presente estudio se rige por los principios éticos establecidos de manera internacional para las investigaciones médicas en seres humanos establecidos por la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, las pautas establecidas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), y las normas administrativas, técnicas y científicas establecidas por la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia.

Según lo establecido en la última, el presente estudio constituye una investigación con riesgo mínimo para el paciente, dado que implica una intervención médica de rutina (toma de una muestra de sangre venosa periférica) de riesgo identificado y bajo, junto con la recolección de datos correspondientes a la historia clínica brindada por el paciente y sus familiares. Por ende, **se requiere del consentimiento informado de los familiares** de los pacientes involucrados (quienes son en su totalidad menores de edad) **consentimiento informado de los pacientes mayores de 14 años y asentimiento informado de los menores de 6 años a menos de 14 años**, los cuales se tomarán previo al inicio de toma de datos clínicos y de la muestra especificada. **Previo a la obtención del asentimiento informado en los pacientes que así lo requieran, se deberá realizar valoración y acompañamiento por parte de psicología/psiquiatría pediátrica.** Todos los pacientes incluidos en el estudio se tendrán en cuenta para el análisis y publicación de resultados.

El equipo investigador se compromete a mantener la confidencialidad de los datos de cada individuo participante, manteniendo la información aportada como de uso exclusivo para el proceso de investigación referido para el cual fue aportada. En caso de presentarse algún daño al individuo en estudio secundario al proceso de investigación (considerado de muy baja probabilidad), el equipo proporcionará la atención médica requerida, según lo establecido en el artículo 13 de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud.

Contamos con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Nacional de Colombia, quienes hacen parte del estudio como ente evaluador y al este hacer parte de un trabajo de grado de especialidad médica (Pediatria). La Universidad como institución no hará parte del reclutamiento de pacientes, la toma y procesamiento de las muestras. Del mismo modo, contamos con aprobación del comité de ética de la FSFB y para el mes de Octubre de 2020, el protocolo se encuentra en sometimiento en el Centro Médico Imbanaco. Se anexa documento de aprobación por parte de ambos comités (*Anexo E*).

La persona encargada del patrocinio del proyecto corresponde al Dr. Gabriel Díaz, quien recibe apoyo financiero para su ejecución por parte de Janssen S.A. . Se realiza la aclaración que Janssen Cilag S.A. proporcionará el soporte financiero solicitado y acordado para la realización del estudio según el contrato firmado entre las partes, dará seguimiento al proyecto de acuerdo a los plazos establecidos, realizará recolección de los documentos generados del estudio y revisará el manuscrito de resultados antes de su publicación, en ninguna circunstancia tendrá acceso a los datos de los pacientes de forma nominal; solamente podrá tener visibilidad de la data global y de manera agregada. Aparte de esta aclaración respecto al soporte financiero recibido, no existen conflictos de interés adicionales.

Del mismo modo, el protocolo implica un procedimiento de riesgo mínimo (venopunción - toma de muestra de sangre periférica), y consiste en un estudio observacional, sin intervención adicional. La Subdirección de Estudios Clínicos y de Epidemiología Clínica de la FSFB cuenta con una póliza para la realización de este procedimiento.

Se adjunta formato de consentimiento informado y de asentimiento informado para cada institución (*Anexo F*).

9. Posibles sesgos y dificultades

- Selección: La cantidad de pacientes casos disponibles para realizar el estudio es limitada por la baja incidencia de la enfermedad, por lo cual el estudio implica limitaciones, de por sí implícitas en estudios tipo casos-contrroles. También se limita por la aceptación de familiares e individuos en participar en el estudio. Se propone selección emparejada de controles para los casos, respecto a edad y sexo, con el fin de disminuir este sesgo.
- Medición:
 - La ET-1 no tiene un valor de referencia estandarizado en población general y en estados patológicos, por lo cual no se puede prever de antemano los posibles valores a obtener en ninguno de los grupos.
 - La recolección de las muestras en 2 centros diferentes puede aumentar el sesgo dado que se arriesga la conservación de la molécula en la muestra, aún cuando ambas se procesarán en el mismo laboratorio y bajo los mismos estándares y kits de ET-1. Para disminuir este riesgo se debe asegurar las condiciones del transporte con el proveedor del mismo, así como mantener la muestra en condiciones de conservación óptimas para el momento de su procesamiento.
 - Las especificaciones del laboratorio indican posible reactividad cruzada, aunque mínima, de la prueba con otros tipos de endotelinas (ET-2, ET-3, Big Endothelin) los cuales podrían alterar los resultados, sesgo inherente a especificaciones del producto.
- Confusión: Los factores sociodemográficos de los pacientes pueden representar variables de confusión en el momento del análisis de resultados, por lo cual deberán tenerse en cuenta al realizar el análisis estadístico específico de las mismas.

10. Cronograma de actividades y presupuesto

La totalidad del proyecto esta propuesta para desarrollarse a lo largo de 24 meses, desde la captación del primer paciente vinculado al estudio hasta el momento de envío del artículo final a una revista indexada. El presupuesto fue revisado y aprobado por el equipo de Janssen. S.A., apoyo financiero en el desarrollo del proyecto. Se anexan tablas con información detallada de ambos campos (*Tablas 11 y 12 en Anexo A*).

A. Anexo: Tablas referenciadas

TABLA 1: Definición de hipertensión pulmonar según las Guías AHA/ATS de 2015 (45).

Definiciones
<p>Hipertensión pulmonar: PmAP >25 mm Hg > 3 meses de edad a nivel del mar</p>
<p>Hipertensión arterial pulmonar PmAP > 25 mm Hg PEAP < 15 mm Hg IRVP > 3 WU/m² Hipertensión arterial idiopática o hipertensión pulmonar aislada Hipertensión arterial pulmonar sin enfermedad subyacente conocida Referida como HPAH con historia familiar positiva o evaluación genética Enfermedad vascular pulmonar hipertensiva Categoría amplia que incluye formas de HAP, pero agrupa sujetos con gradiente transpulmonar elevado = (PmAP – presión auricular izquierda o PEAP > 6 mm Hg) o alta IRVP como se observa en pacientes con anastomosis cavo pulmonares sin PmAP alta</p>
<p>HPAH: hipertensión arterial pulmonar hereditaria; HAPI: hipertensión arterial pulmonar idiopática; PmAP: presión media de la arteria pulmonar; HAP: hipertensión arterial pulmonar; HP: hipertensión pulmonar; EVPH; enfermedad vascular hipertensiva pulmonar; IRVD: índice de resistencia vascular pulmonar.</p>

TABLA 2: Clasificación OMS de hipertensión pulmonar (45).

Clasificación clínica de la hipertensión pulmonar, 5º Congreso Mundial
<p>Grupo 1. Hipertensión arterial pulmonar (HAP) 1.1 Idiopática (HAPI) 1.2 Hereditaria 1.2.1 BRPR2</p>

1.2.2 Mutaciones en los genes ALK1, endoglin, ENG, SMAD9, CAV1, KCNK3

1.2.3 Desconocida

1.3 Inducida por drogas y toxinas (metanfetaminas)

1.4 Asociada con HAPA

1.4.1 Enfermedades del tejido conectivo

1.4.2 Infección por VIH

1.4.3 Hipertensión portal

1.4.4 Enfermedades cardiacas congénitas

1.4.5 Esquistosomiasis

1`Enfermedad venooclusiva pulmonar (EVOP) y/o hemangiomatosis capilar pulmonar (HCP).

1``Hipertensión pulmonar persistente del recién nacido

Grupo 2. Hipertensión pulmonar debida a enfermedad cardiaca izquierda

2.1 Disfunción sistólica

2.2 Disfunción diastólica

2.3 Enfermedad valcular

2.4 Cardiopatias congénitas o adquiridas que afectan la entrada o salida del ventrículo izquierdo.

Grupo 3. Hipertensión pulmonar asociada a enfermedades pulmonares y/o a hipoxemia

3.1 Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

3.2 Enfermedad pulmonar intersticial

3.3 Otras enfermedades pulmonares con patron mixto restrictivo y obstructivo

3.4 Síndrome de apnea del sueño

3.5 Hipoventilación alveolar

3.6 Exposición crónica a grandes alturas

3.7 Displasias pulmonares

Grupo 4. Hipertensión pulmonar por enfermedad tromboembolica crónica (HPTEC)

Grupo 5. Hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales no claros

5.1 Desordenes hematológicos: Anemia hemolítica crónica, trastornos mieloproliferativos, esplenectomía

5.2 Trastornos sistémicos: sarcoidosis, histiocitosis de células de Langerhans: linfangioleiomiomatosis, vasculitis

5.3 Trastornos metabólicos: enfermedades por deposito de glucógeno, enfermedad de Gaucher, desordenes tiroideos

5.4 Otros: obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante, insuficiencia renal crónica en diálisis, hipertensión pulmonar segmental.

TABLA 3: Clasificación de Panamá de hipertensión pulmonar pediátrica (45).

Las diez categorías básicas de la enfermedad vascular hipertensiva en Pediatría – PVRI – Consenso de Panamá 2011	
1.	Enfermedad vascular pulmonar hipertensiva prenatal o del desarrollo
2.	Maladaptación vascular pulmonar perinatal
3.	Enfermedad cardiovascular pediátrica
4.	Displasia broncopulmonar
5.	Enfermedad vascular pulmonar hipertensiva pediátrica aislada (HAP aislada)
6.	Enfermedad vascular pulmonar hipertensiva multifactorial asociada a malformaciones y/o síndromes
7.	Enfermedad pulmonar
8.	Enfermedad tromboembólica pediátrica
9.	Exposición del niño a la hipoxia hipobárica
10.	Enfermedad vascular pulmonar hipertensiva del niño asociada con alteraciones de otros sistemas

TABLA 4: Clasificación clínica de cardiopatía congénita asociada con hipertensión pulmonar (46).

Clasificación clínica de cardiopatía congénita asociada con hipertensión pulmonar	
Síndrome de Eisenmenger	
Hipertensión arterial pulmonar asociada a cortocircuito sistémico-pulmonar	
	Operable
	Inoperable
Hipertensión arterial pulmonar asociada con pequeños defectos septales	
Hipertensión arterial pulmonar postoperatoria	

TABLAS 5-9: Clasificación funcional del paciente pediátrico con hipertensión pulmonar según el rango de edad.

Tabla 5: Niños de 0 - 6 meses (47).

Clasificación funcional pediátrica de la hipertensión pulmonar: Niños de 0 a 6 meses	
Clase	Cuadro Clínico
I	Asintomáticos, crecen y se desarrollan normalmente, no hay limitación de la actividad física, en los tres primeros meses aumentan el tono corporal y van ganando control sobre su cabeza; más adelante pueden voltearse, no se les cae la cabeza y logran sentarse con apoyo

II	Ligera limitación de la actividad física; se presenta disnea y fatiga y van retrasándose en el desarrollo físico pero continúan creciendo dentro del rango de sus percentiles. No hay síntomas en reposo
IIIa	Limitación marcada de la actividad física con bastante fatiga. Se observa regresión de las actividades físicas aprendidas, mantienen muy callados y duermen mucho pero no presentan síntomas en reposo. Ligeras actividades causan fatiga, presíncope o síncope; hay retraso en el crecimiento, disminución del apetito y necesitan atención médica excesiva
IIIb	Presentan importante retraso en el crecimiento, pobre apetito, requieren alimentación suplementaria y la actividad ligera causa fatiga o síncope. Otras características de la clase III a.
IV	Incapacidad para realizar cualquier actividad física sin disnea, fatiga o síncope; no hay interacción con la familia; pueden presentar síncope o falla cardíaca derecha. Otras características de la clase III.

Tabla 6: Niños de 6 meses - 1 año (47).

Clasificación funcional pediátrica de la hipertensión pulmonar: Niños de 6 meses a 1 año	
Clase	Cuadro Clínico
I	Asintomáticos, con crecimiento adecuado dentro de sus percentiles y sin limitaciones para la actividad física. Se mueven, se sientan, se agarran, gatean, comienzan a ponerse de pie, y juegan.
II	Leve limitación de la actividad física; cuando juegan presentan disnea y fatiga, hay retraso en el desarrollo físico, pero son asintomáticos en reposo; el crecimiento continúa dentro de los percentiles adecuados.
IIIa	Limitación marcada de la actividad física; hay regresión de las actividades físicas aprendidas, se detiene el gateo, mantienen callados y necesitan frecuentes períodos de sueño, son vacilantes y poco aventureros, pero asintomáticos en reposo. Ligeras actividades originan fatiga, presíncope y/o síncope; hay retraso en el crecimiento y pobre apetito; requieren atención médica excesiva.
IIIb	Hay importante retraso del crecimiento, pobre apetito y requerimiento de alimento suplementario. Ligeras actividades originan fatiga o síncope. Otras características de la clase IIIa.
IV	Incapacidad para realizar cualquier actividad física sin que se presente disnea, fatiga o síncope, no interactúan con la familia; presentan síncope y/o falla cardíaca derecha. Otras características de la clase III.

Tabla 7: Niños de 1 - 2 años (47).

Clasificación funcional pediátrica de la hipertensión pulmonar: Niños con edad entre 1 a 2 años	
Clase	Cuadro Clínico
I	Asintomáticos; crecimiento adecuado dentro de los percentiles correspondientes, sin limitaciones para la actividad física; se sostienen de pie, comienzan a caminar y a treparse.
II	Leve limitación de la actividad física; cuando juegan presentan disnea y fatiga significativa; hay retraso en el desarrollo pero son asintomáticos en reposo; el crecimiento continúa dentro de los percentiles adecuados.
IIIa	Limitación marcada de la actividad física; hay regresión de las actividades físicas aprendidas; son renuentes a jugar, mantienen callados, necesitan dormir frecuentemente, son vacilantes pero asintomáticos en reposo; ligeras actividades originan fatiga, disnea, presíncope y/o síncope; hay retraso en el crecimiento y presentan pobre apetito.
IIIb	Retraso severo del crecimiento, pobre apetito y requerimiento de alimento suplementario; ligeras actividades originan fatiga o síncope. Otras características de la clase IIIa.

IV	Incapacidad para realizar cualquier actividad física sin que se presente disnea, fatiga o síncope; no interactúan con la familia, presentan síncope y/o falla cardiaca derecha. Otras características de la clase III.
-----------	--

Tabla 8: Niños de 2 - 5 años (47).

Clasificación funcional pediátrica de la hipertensión pulmonar: Niños de 2-5 años	
Clase	Cuadro Clínico
I	Asintomáticos; crecen normalmente, asisten al colegio o a la guardería en forma regular; no hay limitación de la actividad física y practican deportes con sus compañeros
II	Ligera limitación de la actividad física; cuando juegan con sus compañeros presentan disnea y fatiga significativa pero son asintomáticos en reposo; el crecimiento continúa dentro de los percentiles adecuados; asisten al colegio en un 75% de lo normal; no hay dolor precordial.
IIIa	Limitación marcada de la actividad física; hay regresión de las actividades físicas aprendidas, no suben escaleras y rechazan jugar con sus amigos, son vacilantes y poco aventureros; sin embargo, están asintomáticos en reposo. Ligeras actividades como vestirse originan disnea, fatiga, presíncope y/o síncope o dolor precordial. La asistencia a la guardería (jardín) o colegio está comprometida a menos del 50% de lo normal.
IIIb	Incapacidad para asistir a la guardería (jardín) o colegio, pero se mueven en casa; sin embargo, para salir de ésta necesitan silla de ruedas. El crecimiento está comprometido lo mismo que el apetito y requieren alimentación suplementaria. Ligeras actividades originan fatiga, síncope o dolor precordial. Otras características de la clase IIIa.
IV	Incapacidad para realizar cualquier actividad física sin presentar disnea, fatiga, síncope o dolor precordial. Hay incapacidad para asistir al colegio, son dependientes de silla de ruedas y no hay interacción con los amigos. Presentan síncope y/o falla cardiaca derecha. Otras características de la clase III.

Tabla 9: Niños de 5 - 16 años (47).

Clasificación funcional pediátrica de la hipertensión pulmonar: Niños de 5-16 años	
Clase	Cuadro Clínico
I	Asintomáticos; crecen dentro del rango de los percentiles correspondientes, asisten al colegio en forma regular; no hay limitación de la actividad física y practican deportes con sus compañeros
II	Ligera limitación de la actividad física; cuando juegan con sus compañeros presentan disnea y fatiga pero son asintomáticos en reposo; el crecimiento continúa dentro de los percentiles adecuados; asisten al colegio en un 75% de lo normal; no hay dolor precordial.
IIIa	Marcada limitación de la actividad física; no practican deportes pero están asintomáticos en reposo. Ligera actividad física produce disnea, fatiga, síncope o dolor precordial. La asistencia al colegio está comprometida, pues asisten a menos de 50% de lo normal.
IIIb	Incapacidad para asistir al colegio, pero se movilizan en casa e interactúan con los amigos. Para salir de casa necesitan silla de ruedas. El crecimiento está comprometido y presentan pobre apetito requiriendo suplemento alimentario. Ligeras actividades como vestirse originan disnea, fatiga, presíncope y/o síncope o dolor precordial. Otras características de la clase IIIa.
IV	Incapacidad para asistir al colegio, pero se movilizan en casa e interactúan con los amigos. Para salir de casa necesitan silla de ruedas. El crecimiento está comprometido y presentan pobre apetito requiriendo suplemento alimentario. Ligeras actividades como vestirse originan disnea, fatiga, presíncope y/o síncope o dolor precordial. Otras características de la clase IIIa.

Costo de publicación – Revista Indexada	Costos requeridos para el pago de publicación del artículo final en una revista indexada	\$ 10,500,000	1	\$ 10,500,000	\$ 3,230
Inscripción a congreso	El objetivo es llevar los resultados y progreso del estudio a eventos internacionales relevantes, con el fin de contribuir a la disseminación de nuevo conocimiento – Hace referencia al valor correspondiente al registro del evento	\$ 2,255,000	2	\$ 4,510,000	\$ 1,390
Resma de papel	Para la impresión de instrumentos de recolección de información, consentimientos y asentimientos informados y la escritura de reportes y borradores preliminares	\$ 12,000	2	\$ 24,000	\$ 8
Lápices	Para la recolección de datos y para trabajo de oficina en general	\$ 1,000	12	\$ 12,000	\$ 4
Borrador de tinta	Para la recolección de datos y para trabajo de oficina en general	\$ 5,000	3	\$ 15,000	\$ 5
Cosedora	Para trabajo de oficina en general	\$ 20,000	1	\$ 20,000	\$ 6
Ganchos de cosedora	Para trabajo de oficina en general	\$ 6,000	1	\$ 6,000	\$ 2
Subsidio de transporte para el paciente	Soporte de asistencia a citas para los pacientes	\$ 15,000	80	\$ 1,200,000	\$ 372
Total adicional de ítems del estudio				42,129,000	\$ 13,017
Sub Total (Costo de personal + Ítems de estudio adicionales)				61,841,843	\$ 19,100
<u>Sobrecosto Institucional</u>					
Tasa de sobrecosto			20%	12,368,569	3,820
Sub Total (con sobrecosto institucional)				74,210,412	\$ 22,920
<u>Costos de contratos</u>					
Item referido	Descripción			Costo	Costo
Envío de muestras (Embioexpress)	Envío de muestras de Cali a Bogotá (Una vez al mes por año, cada uno de aproximadamente \$ 280.000)			\$ 3,360,000	\$ 1,040
Total costos de contratos				\$ 3,360,000	\$ 1,040
Presupuesto total				77,570,412	23,960

B. Anexo: Tablas de variables incluidas en el estudio

Se incluye un documento con tablas que describen a detalle las variables a evaluar en todos los niños incluidos en el protocolo, además de variables específicas a aplicar de manera exclusiva en los casos, con el fin de caracterizar su enfermedad y el impacto de la misma en su funcionalidad.

C. Anexo: Formato de recolección de datos

Contiene el formato de datos con el cual se recolectarán los datos básicos de los pacientes, que posteriormente serán transcritos a una base de datos virtual.

D. Anexo: Plan de Calidad

Contiene información adicional sobre los roles correspondientes a cada uno de los investigadores, así como de los procesos internos de ejecución del protocolo.

E. Anexo: Aprobación del Comité de Ética de la Universidad Nacional de Colombia y FSFB

Documento que certifica la revisión y aprobación del presente protocolo por el Comité de Ética de la Universidad Nacional de Colombia, expedido el 26 de julio de 2019, y del Comité de Ética de la FSFB expedido el 16 de marzo de 2020.

F. Anexo: Consentimientos y asentimientos informados

Contiene los consentimientos y asentimientos informados requeridos tanto para la Fundación Santa Fe de Bogotá, así como para el Centro Medico Imbanaco, en este orden respectivo, ajustadas a los requerimientos establecidos por cada institución para ambos documentos.

Bibliografía

1. Abman SH, Hansmann G, Archaer SL, Ivy DD, Adatia I, Chung WK, et al. *Pediatrics Pulmonary Hypertension - Guidelines From the American Heart Association and American Thoracic Society. Circulation. 2015;132:2037-2099. Erratum en: Circulation. 2016;133:e368.*
2. Asociación Colombiana de Neumología Pediátrica. *Hipertensión arterial pulmonar en niños. Guía número 3 - Guías de práctica clínica 2010. Consultado en: 14 Abril, 2018. Disponible en: <http://portal.neumopediatricocolombia.com/wp-content/uploads/2017/03/hipertension-Arterial.pdf>.*
3. Ivy D. *Advances in Pediatric Pulmonary Arterial Hypertension. Curr Opin Cardiol. 2012 March ; 27(2): 70–81.*
4. Jin H, Yang J, Zhang Q, Du, J. *Epidemiology and clinical management of pulmonary hypertension in children. Korean Circ J. 2012 Aug;42(8):513-8.*
5. Del Cerro MJ, Abman S, Diaz G, Freudenthal F, Harikrishnan S, Haworth SG, et al. *A consensus approach to the classification of pediatric pulmonary hypertensive vascular disease: Report from the PVRI Pediatric Taskforce, Panama 2011. Pulm Circ. 2011;1(2):286-298.*
6. Diaz G. *Pulmonary hypertension at moderate altitude in children. Rev Colomb Cardiol. 2012. 19 (4): 199-207. Spanish.*
7. Diaz G, Márquez A. *Capítulo 62: Hipertensión pulmonar en el niño habitante de la altura. En: Diaz G, Sandoval N, Velez JF. Cardiología Pediátrica. Segunda Edición. Editorial Distribuna. Año 2018., p1129-40.*
8. Stenmarck KR, Fagan KA, Frid MG. *Hypoxia-Induced Pulmonary Vascular Remodeling - Cellular and Molecular Mechanisms. Circ Res. 2006;99:675-691.*
9. Spicer DE, Hsu HH, Co-Vu J, Anderson RH, Fricker FJ. *Ventricular septal defect. Orphanet J Rare Dis. 2014; 9: 144.*
10. Bialkowski J, Glowacki J, Zabal C, Garcia-Montes A, Bermudez-Canete R, Flores-Arizmendi R, et al. *Patent ductus arteriosus at low and high altitudes: anatomical and*

- haemodynamic features and their implications for transcatheter closure. Kardiol Pol. 2011;69(5):431-6.*
11. *Pattathu J, Gorenflo M, Hilgendorff A, Koskenvuo JW, Aplitz C, Hansmann G, et al. Genetic testing and blood biomarkers in paediatric pulmonary hypertension. Expert consensus statement on the diagnosis and treatment of paediatric pulmonary hypertension. The European Paediatric Pulmonary Vascular Disease Network, endorsed by ISHLT and DGPK. Heart. 2016 May;102 Suppl 2:ii36-41.*
 12. *Awaminathan AC, Dusek AC, McMahon TJ. Treatment-related biomarkers in pulmonary hypertension. Am J Respir Cell Mol Biol. 2015 Jun;52(6):663-73.*
 13. *Masali T. The endothelin family: an overview. J Cardiovasc Pharmacol. 2000, 35:S3-5.*
 14. *Beghetti M, Black SM, Fineman JR. Endothelin-1 in Congenital Heart Disease. Pediatr Res. 2005, 57: 16R-20R.*
 15. *Huang H, Zhang P, Wang Z, Tang F, Jiang Z. Activation of endothelin-1 receptor signaling pathways is associated with neointima formation, neoangiogenesis and irreversible pulmonary artery hypertension in patients with congenital heart disease. Circ J. 2011;75(6):1463-71.*
 16. *Teder P, Noble PW. A cytokine reborn? Endothelin-1 in pulmonary inflammation and fibrosis. Am J Respir Cell Mol Biol. 2000 Jul;23(1):7-10.*
 17. *Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. N Engl J Med. 1993 Jun 17;328(24):1732-9.*
 18. *Galiè N, Manes A, Branzi A. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. Cardiovasc Res. 2004 Feb 1;61(2):227-37.*
 19. *Siques P, Brito J, Pena E. Reactive Oxygen Species at High Altitude (Hypobaric Hypoxia) on the Cardiovascular System. In: Cristiana F, Elena A, editors. Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells. IntechOpen. 2017, p. 109-125.*
 20. *Wolf D, Tseng N, Gregory S, Gates R, Abman SH, Gien J. Endothelin-1 decreases endothelial PPAR γ signaling and impairs angiogenesis after chronic intrauterine pulmonary hypertension. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2014 Feb 15; 306(4): L361–L371.*
 21. *Keller RL, Tacy TA, Hendricks-Munoz K, Xu J, Moon-Grady, Neuhaus J, et al. Congenital diaphragmatic hernia: endothelin-1, pulmonary hypertension, and disease severity. Am J Respir Crit Care Med. 2010 Aug 15;182(4):555-61.*

22. Kumar P, Kazzi NJ, Shankaran S. Plasma immunoreactive endothelin-1 concentrations in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Am J Perinatol.* 1996 Aug;13(6):335-41.
23. Li X, Qiu J, Pan M, Zheng D, Su Y, Wei M, et al. Correlation between congenital heart disease complicated with pulmonary artery hypertension and circulating endothelial cells as well as endothelin-1. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Sep 1;8(9):10743-51.
24. Li G, Xia J, Jia P, Zhao J, Sun J, Wu C, et al. Plasma Levels of Acylated Ghrelin in Children with Pulmonary Hypertension Associated with Congenital Heart Disease. *Pediatr Cardiol.* 2015 Oct;36(7):1423-8.
25. Allen SW, Chatfield BA, Koppenhafer SA, Schaffer MS, Wolfe RR, Abman SH. Circulating immunoreactive endothelin-1 in children with pulmonary hypertension. Association with acute hypoxic pulmonary vasoreactivity. *Am Rev Respir Dis.* 1993 Aug;148(2):519-22.
26. Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, Saito Y, Matsumura M, Ueda T, et al. Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects. . Evidence for increased production of endothelin in pulmonary circulation. *Circulation.* 1991 Dec;84(6):2280-5.
27. Lu H, Chen S, Wang H, Cheng P. Role of adrenomedullin in congenital heart disease associated with pulmonary hypertension. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2003;23(3):275-7.
28. Ishikawa S, Miyauchi T, Sakai S, Ushinohama H, Sagawa K, Fusazaki N. Elevated levels of plasma endothelin-1 in young patients with pulmonary hypertension caused by congenital heart disease are decreased after successful surgical repair. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995 Jul;110(1):271-3.
29. Lutz J, Gorenflo M, Habighorst M, Vogel M, Lange PE, Hocher B. Endothelin-1- and Endothelin-Receptors in Lung Biopsies of Patients with Pulmonary Hypertension due to Congenital Heart Disease. *Clin Chem Lab Med.* 1999 Apr;37(4):423-8.
30. Vincent JA, Ross RD, Kassab J, Hsu JM, Pinsky WW. Relation of elevated plasma endothelin in congenital heart disease to increased pulmonary blood flow. *Am J Cardiol.* 1993 May 15;71(13):1204-7.
31. Fratz S, Geiger R, Kresse H, Roemer G, Hennig M, Sebening W, Hess J. Pulmonary blood pressure, not flow, is associated with net endothelin-1 production in the lungs of patients with congenital heart disease and normal pulmonary vascular resistance. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Dec;126(6):1724-9.

32. Latus H, Karanatsios G, Basan U, Salsler K, Müller S, Khalil M, et al. *Clinical and prognostic value of endothelin-1 and big endothelin-1 expression in children with pulmonary hypertension. Heart.* 2016 Jul 1;102(13):1052-8.
33. Tutar HE, Imamoglu A, Atalay S, Gümüs H, Akar N. *Plasma endothelin-1 levels in patients with left-to-right shunt with or without pulmonary hypertension. Int J Cardiol.* 1999 Jul 1;70(1):57-62.
34. Nootens M, Kaufmann E, Rector T, Toher C, Judd D, Francis GS, Rich S. *Neurohormonal activation in patients with right ventricular failure from pulmonary hypertension: relation to hemodynamic variables and endothelin levels. J Am Coll Cardiol.* 1995 Dec;26(7):1581-5.
35. Monroy LC, Hernandez A. *Endothelin-1 expression in pulmonary hypertensive chickens by hypoxia. Rev.MVZ Córdoba* 2017. 22(2):5951-5958.
36. Wagdy R. *The role of diagnostic cardiac catheterization for children with congenital heart diseases: local experience. Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2018 Jun 28;3:e72-e79.
37. *Alcaldía Mayor de Bogotá. Ubicación de la Ciudad [Internet]. Fecha de publicación: 21/11/2017 [Consultado el 15/04/2018]. Disponible en: <http://www.bogota.gov.co/ciudad/ubicacion>.*
38. *Alcaldía de Santiago de Cali. Datos de Cali y el Valle del Cauca[Internet]. Fecha de publicación 11/05/2004; Última modificación 28/07/2017 [Consultado el 15/04/2018]. Disponible en: http://www.cali.gov.co/publicaciones/227/datos_de_cali_y_el_valle_del_cauca/.*
39. *USA R&D Systems, Inc [Internet]. Quantikine®ELISA - Endothelin-1 Immunoassay - Catalog Number DET100 (2018). [Consultado el 15/05/2019]. Disponible en: <https://resources.rndsystems.com/pdfs/datasheets/det100.pdf>.*
40. Jankowich MD, Wu WC, Choudhary G. *Association of Elevated Plasma Endothelin-1 Levels With Pulmonary Hypertension, Mortality, and Heart Failure in African American Individuals: The Jackson Heart Study. JAMA Cardiol.* 2016 Jul 1;1(4):461-9.
41. Low A, George S, Howard L, Bell N, Millar A, Tulloh RMR. *Lung Function, Inflammation, and Endothelin-1 in Congenital Heart Disease-Associated Pulmonary Arterial Hypertension. J Am Heart Assoc.* 2018 Feb 14;7(4).
42. Kirkpatrick EC. *Echocardiography in pediatric pulmonary hypertension. Paediatr Respir Rev.* 2013 Sep;14(3):157-64.
43. Koestenberger M, Hansmann G, Apitz C, Latus H, Lammers A. *Diagnostics in Children and Adolescents with Suspected or Confirmed Pulmonary Hypertension. Paediatr Respir Rev.* 2017 Jun;23:3-15.

44. Marra AM, Bossone E, Salzano A, D'Assante R, Monaco F, Ferrara F, Arcopinto M, Vriz O, Suzuki T, Cittadini A. Biomarkers in Pulmonary Hypertension. *Heart Fail Clin*. 2018 Jul;14(3):393-402.
45. Caicedo LM. Enfoque de la hipertensión pulmonar en el paciente pediátrico. *Rev Colomb Cardiol*. 2017;24(s1):89---97.
46. Calderon J, Sandoval J, Beltran M. Hipertensión pulmonar asociada a cardiopatías congénitas y síndrome de Eisenmenger. *Arch Cardiol Mex*. 2015;85(1):32---49.
47. Lammers AE, Adatia I, Del Cerro MJ, Díaz G, Heath-Freudenthal A, Freudenthal F, et al. Clasificación funcional de la hipertensión pulmonar en niños: informe del task force pediátrico del Pulmonary Vascular Research Institute (PVRI),. Panamá 2011 (Functional classification of pulmonary hypertension in children: Report from the PVRI pediatric taskforce, Panama 2011 - Traducción autorizada). *Rev Colomb Cardiol* 2012; 19(6): 332-338.