

[https://doi.org/10.24245/rev\\_hematol.v24i2.4833](https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v24i2.4833)

## Adaptación hematológica del habitante andino a la altura

### Hematological adaptation of Andean dwellers to high altitude.

Ricardo Amaru, Teddy Quispe, Luis Felipe Mamani, Silvia Mancilla, Juan Carlos Valencia, Daniela Patón, Mireya Carrasco

#### Resumen

**ANTECEDENTES:** Los aymaras andinos y tibetanos montañoses desde hace 14,000 y 44,000 años, respectivamente, han habitado regiones de gran altitud desarrollando variaciones genéticas, algunas relacionadas con fenotipos eritroides vinculados con la regulación de la eritropoyesis.

**OBJETIVO:** Evaluar la asociación de los haplotipos de genes EPAS1, EGLN1, PKLR y NFkB1 entre aymaras y tibetanos, además de su relación con la adaptación a la altura.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio analítico longitudinal prospectivo sobre haplotipos EPAS1 (5 SNPs denisovan, 5 SNPs no-denisovan), EGLN1 (PHD2<sup>D4E</sup>, PHD2<sup>C127S</sup>), PKLR (7 SNPs) y NFkB1 (2 SNPs) presentes en aymaras andinos bolivianos y tibetanos montañoses. Los haplotipos también se clasificaron considerando las vías metabólicas de acción en que intervienen.

**RESULTADOS:** Se observó que los aymaras andinos carecen de haplotipos EPAS1-denisovan y PHD2<sup>D4E</sup>, pero tienen 2 de 5 variantes EPAS1 no denisovan, baja prevalencia de PHD2<sup>C127S</sup> (forma heterocigota), PKLR 50% y NFkB1 91%.

**CONCLUSIONES:** Aymaras y tibetanos tienen haplotipos que refieren patrones genéticos comunes, pero también haplotipos enriquecidos específicos; la frecuencia y la interacción de éstos en las vías metabólicas sugieren una adaptación hematológica parcial y completa, respectivamente.

**PALABRAS CLAVE:** Bolivianos; tibetanos; eritropoyesis.

#### Abstract

**OBJECTIVE:** To evaluate the association of EPAS1, EGLN1, PKLR and NFkB1 gene haplotypes between Aymara and Tibetans as well as their relationship to high altitude adaptation.

**MATERIALS AND METHODS:** Prospective longitudinal study concerning haplotypes EPAS1 (5 denisovan like SNPs, 5 non-denisovan like SNPs), EGLN1 (PHD2<sup>D4E</sup>, PHD2<sup>C127S</sup>), PKLR (7 SNPs) and NFkB1 (2 SNPs) present in Bolivian Andean Aymara and Tibetans. Haplotypes were also classified according to the metabolic pathways in which they take are engaged.

**RESULTS:** It was observed that Andean Aymaras do not have the denisovan-like EPAS1 and PHD2<sup>D4E</sup> haplotypes; however, they share 2 out of 5 non-denisovan like EPAS1 variants. PHD2<sup>C127S</sup> is at low prevalence (heterozygous form), PKLR is 50% and NFkB1 is 91%.

**CONCLUSIONS:** Andean Aymaras and Tibetans share haplotypes that can be referred as common genetic patterns, and they also have specific enriched haplotypes. Frequency and interaction of these haplotypes into their signaling pathways suggest a partial and complete hematological adaptation, respectively.

**KEYWORDS:** Bolivian; Tibetans; Erythropoiesis.

Instituto de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.

**Recibido:** marzo 2023

**Aceptado:** mayo 2023

#### Correspondencia

Ricardo Amaru  
amaru.ricardo@icloud.com

**Este artículo debe citarse como:** Amaru R, Quispe T, Mamani LF, Mancilla S, Valencia JC, Patón D, Carrasco M. Adaptación hematológica del habitante andino a la altura. Hematol Mex 2023; 24 (2): 52-67.

## ANTECEDENTES

Los mecanismos que emplea el organismo humano para enfrentar un ambiente de hipoxia a grandes alturas incluyen la acomodación, la aclimatación y la adaptación. La acomodación es entendida como la respuesta inicial a una exposición aguda, caracterizada por el aumento de la ventilación y la frecuencia cardiaca. La aclimatación, por su parte, es la respuesta a una exposición temporal, se caracteriza por el incremento de la eritropoyetina y la hemoglobina. Así también, el mecanismo de la adaptación está relacionado con una exposición permanente y el producto de las variaciones genéticas que permiten al organismo vivir en regiones de alturas sin grandes esfuerzos o limitaciones, implica muchas generaciones.<sup>1,2</sup>

Respecto a la adaptación a gran altitud, un ejemplo concreto lo constituye la adaptación de los tibetanos montañeses y los aymaras andinos que han habitado regiones de hasta 4000 metros sobre el nivel del mar (msnm) desde hace 44,000 y 14,000 años, respectivamente.<sup>3,4,5</sup> Una de las variaciones genéticas entre estas poblaciones recae en el fenotipo eritroide; los aymaras (3650-4150 msnm) reflejan concentraciones de hemoglobina incrementados, mientras que los tibetanos (4200 msnm) muestran concentraciones de hemoglobina similares a los del nivel del mar.<sup>6,7,8</sup> Estas diferencias fenotípicas tienen bases genéticas, concretamente en un grupo de genes implicados en la regulación de la eritropoyesis.

En los tibetanos se han encontrado genes como el EPAS1 que codifica para la proteína HIF-2 $\alpha$ , el EGLN1 que codifica la enzima PHD2,<sup>9</sup> el piruvato cinasa que codifica la enzima PKLR permitiendo regular la concentración de 2-3 DPG,<sup>10,11,12</sup> además de una alteración del gen NFkB1 que regula al HIF-1 $\alpha$ . Estos genes producen variantes fenotípicas que inducen cambios en la expresión génica para aumentar la eficiencia en la entrega de oxígeno a los tejidos, así como disminuir el consumo del mismo,<sup>13,14</sup>

promoviendo de ese modo la posibilidad de adaptación del organismo en un ambiente hipóxico.<sup>13,15,16,17</sup> Asimismo, se sabe que un tipo de haplotipos del gen EPAS1, únicos en los tibetanos, se originaron a partir de los denisovanos y se integraron al genoma tibetano por introgresión.<sup>18</sup>

La variante tibetana PHD2 (prolil hidroxilasa 2), un regulador negativo de HIF codificado por el gen EGLN1, codifica en *cis* tanto PHD2<sup>D4E</sup> como PHD2<sup>C127S</sup> que, en conjunto, tienen mayor actividad en hipoxia<sup>19</sup> y, unidos al haplotipo EPAS1, disminuyen la concentración de hemoglobina en los tibetanos montañeses protegiéndolos de la eritrocitosis.<sup>15</sup> Así también, existen otros haplotipos enriquecidos en los tibetanos que incluyen polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) del gen piruvato cinasa que codifican la enzima PKLR específica del hígado y los glóbulos rojos.<sup>20,21</sup>

Ahora bien, en los aymaras se han descrito genes asociados con procesos en el sistema cardiovascular (BRINP3, NOS2 y TBX5),<sup>22</sup> así como en la entrega del oxígeno (variante PKLR, enriquecida en tibetanos).<sup>23</sup> En relación con la eritropoyesis, se ha reportado selección para el gen EGLN1 aseverando que regiones genómicas específicas intervienen positivamente en la adaptación a la altura.<sup>24</sup> Hace poco se describió un diferente empalme (*splicing*) alternativo del gen NFkB1 enriquecido en estos habitantes, esta variante del haplotipo NFkB1 destaca como uno de los principales factores en la adaptación de los aymaras andinos a la altura.<sup>25,26</sup>

De esta manera, este estudio pretende evaluar la asociación de los haplotipos de genes EPAS1, EGLN1, PKLR y NFkB1 entre aymaras y tibetanos, además de su relación con la adaptación a la altura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio analítico longitudinal de tipo prospectivo. La recolección retrolectiva de datos previamente publicados sobre los haplotipos EPAS1, EGLN1,

PKLR y NFkB1<sup>15,22,23,25,26,27</sup> permitió analizar las variantes presentes en aymaras andinos (n = 72) provenientes de Bolivia residentes a altitudes mayores de 3650 msnm en relación con los tibetanos montañoses (n = 347) residentes entre altitudes de 200 y 4300 msnm. Los datos adicionales acerca de los SNPs se obtuvieron de la base de datos proporcionada por el equipo de investigación de la División de Hematología y Neoplasias Hematológicas del Departamento de Medicina Interna de la Universidad de Utah.

Los genotipos variantes estudiados fueron 10 SNPs EPAS1 (5 denisovano, 5 no-denisovano), PHD2<sup>D4E</sup> y PHD2<sup>C127S</sup> (del gen EGLN1), 7 SNPs PKLR (del gen PK); además de 2 SNPs de la variante NFkB1. Asimismo, estos haplotipos variantes relacionados con la eritropoyesis en la altura se clasificaron con base en las vías metabólicas de acción en que intervienen. **Cuadro 1**

## RESULTADOS

### Genes implicados en la adaptación a la altura

#### Vía del factor inducible por hipoxia (HIF)

Concerniente al análisis de la vía del HIF, se diseñó un esquema representativo del mismo en condiciones de normoxia e hipoxia. **Figura 1**

**Cuadro 1.** Genes relacionados con la adaptación hematológica a grandes alturas

- 1. Vía del factor inducido por hipoxia (HIF)**
  - Gen EPAS1, que codifica la proteína HIF-2a
    - SNPs EPAS1 no-denisovano
    - SNPs EPAS1 denisovano
  - Gen EGLN1, que codifica la enzima PHD2
    - Haplotipo PHD2<sup>D4E</sup>
    - Haplotipo PHD2<sup>C127S</sup>
- 2. Vía de la glucólisis (PKLR)**
  - Gen PKLR, que codifica la enzima piruvato cinasa-LR
- 3. Vía del factor nuclear kappa B (NFkB)**
  - Gen NFkB1, que codifica la proteína NFkB1 (p50)

El cuadro muestra SNPs y haplotipos de genes relacionados con la eritropoyesis en andinos bolivianos a gran altitud.<sup>15,23,26,27,32</sup>

Enseguida, contrastando la existencia de SNPs EPAS1 en tibetanos y aymaras, pudo observarse que los aymaras andinos comparten solo 2 de las 5 variantes tibetanas EPAS1 no-denisovan (**Figura 2**). También se evidenció que las variantes tibetanas EPAS1 denisovan están ausentes en los andinos (**Figura 3**), lo que respalda la conjetura de que los habitantes aymaras a gran altitud no comparten la misma ascendencia que los tibetanos.<sup>18</sup>

Al respecto de los haplotipos del gen EGLN1, se observó que los aymaras habitantes en grandes alturas no tienen la mutación tibetana PHD2<sup>D4E</sup> (**Figura 4**), pero la variante PHD2<sup>C127S</sup> alcanza un 24% (forma heterocigota).

#### Vía de la glucólisis (PKLR)

Similar a la anterior vía, para el análisis de la vía de la glucólisis se diseñó un esquema representativo en condiciones de normoxia e hipoxia. **Figuras 5 y 6**

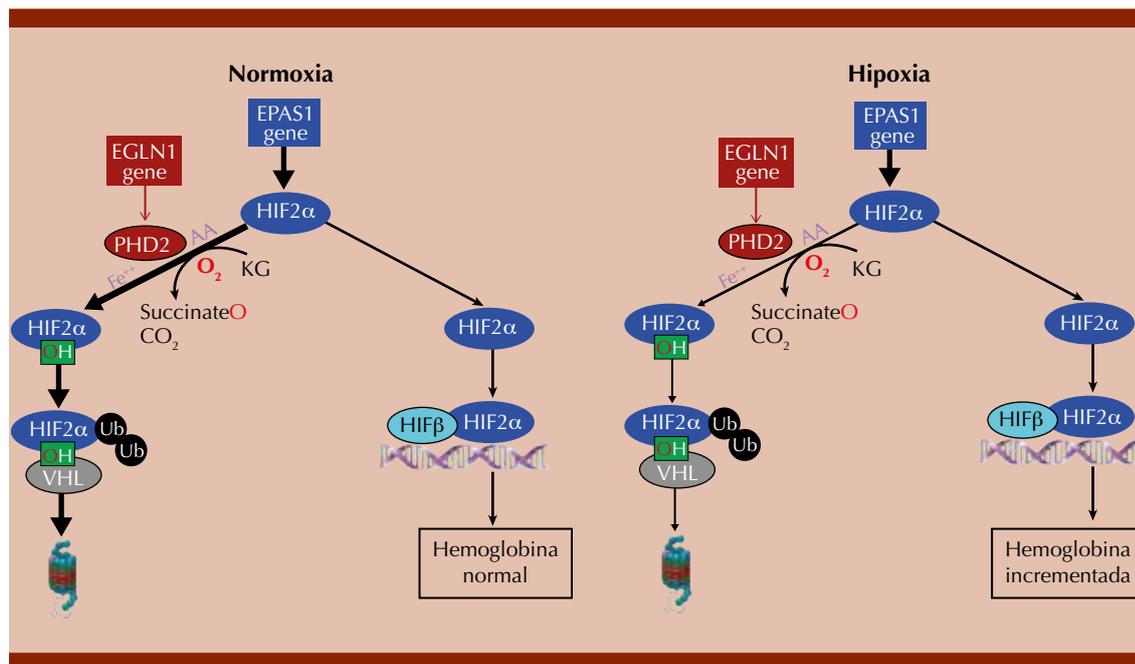
Pudo observarse que el haplotipo PKLR ‘tibetano’ seleccionado está presente en aproximadamente la mitad de los aymaras, lo que podría contribuir a su adaptación en condiciones de hipoxia. **Figura 6**

#### Vía del factor nuclear kappa B (NFkB1)

Respecto del análisis de la vía del NFkB1, se diseñó un esquema representativo en condiciones de normoxia (**Figura 7**). Los cambios moleculares del gen NFkB1 descritos en este artículo corresponden a un haplotipo enriquecido en los aymaras<sup>26</sup> presente en un 91%. **Figura 8**

#### Interacción entre las vías HIF y NFkB1

Existe también una estrecha interacción entre las vías HIF y NFkB1. Ante un ambiente hipóxico, la enzima PHD2 disminuye la hidroxilación del HIF-1 $\alpha$  y del IKK (IKB cinasa)



**Figura 1.** Esquema de la vía del HIF en condiciones fisiológicas. En condiciones de normoxia, los proteasomas degradan el HIF 2 alfa; mientras que, en condiciones de hipoxia, HIF 2 alfa se estabiliza. Este HIF 2 alfa codifica varias proteínas implicadas en la eritropoyesis que conducen al aumento en las concentraciones de hemoglobina.

permitiendo la estabilización del HIF-1α y del NFκB1, éstos migran al núcleo (ADN) y se unen a sus respectivas secuencias de elemento de respuestas (HIF-1α *response element* = HRE; NFκB1 *response element* = NRE). Ambos interactúan a nivel del ADN y el resultado final es el aumento de la eritropoyetina, seguida del aumento de la eritropoyesis; sin embargo, ante la presencia de la enzima variante EGLN1, las vías del NFκB1 y del HIF-1α se bloquean y dan lugar a la disminución de la eritropoyesis.<sup>28,29</sup>

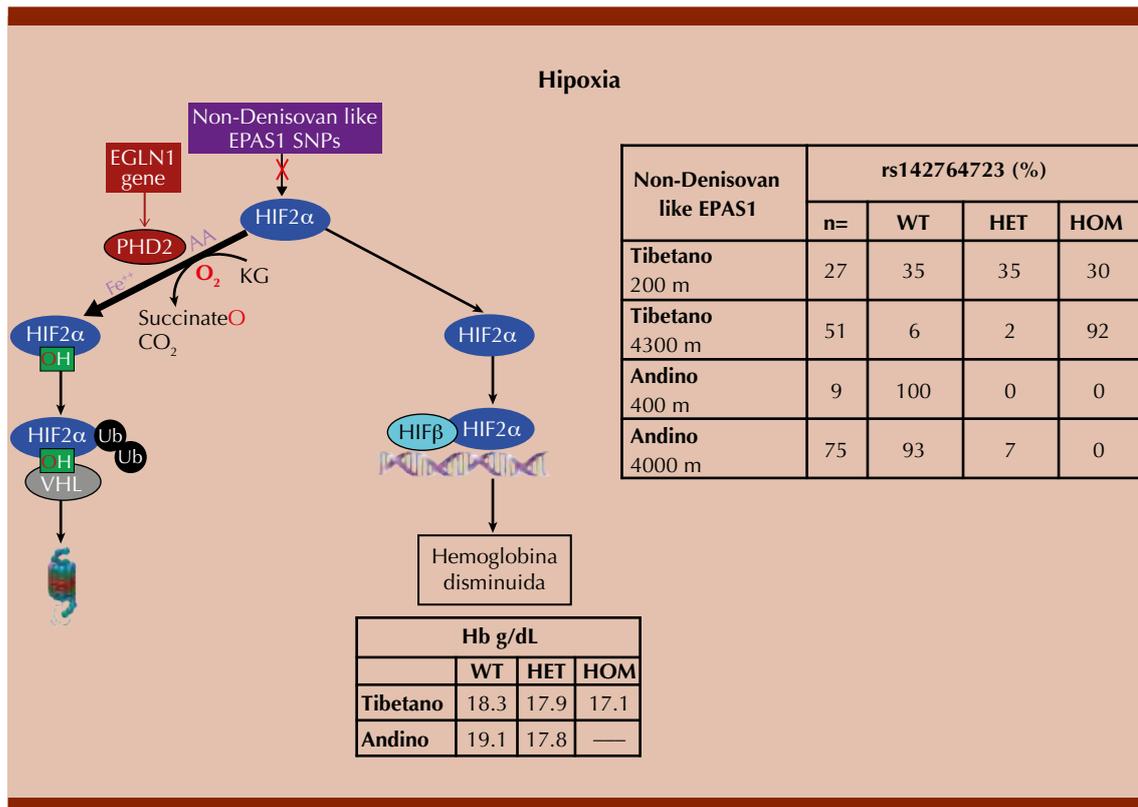
**Figura 9**

**CONCLUSIONES**

Los humanos habitan una variedad de ambientes y están expuestos a una gran cantidad de

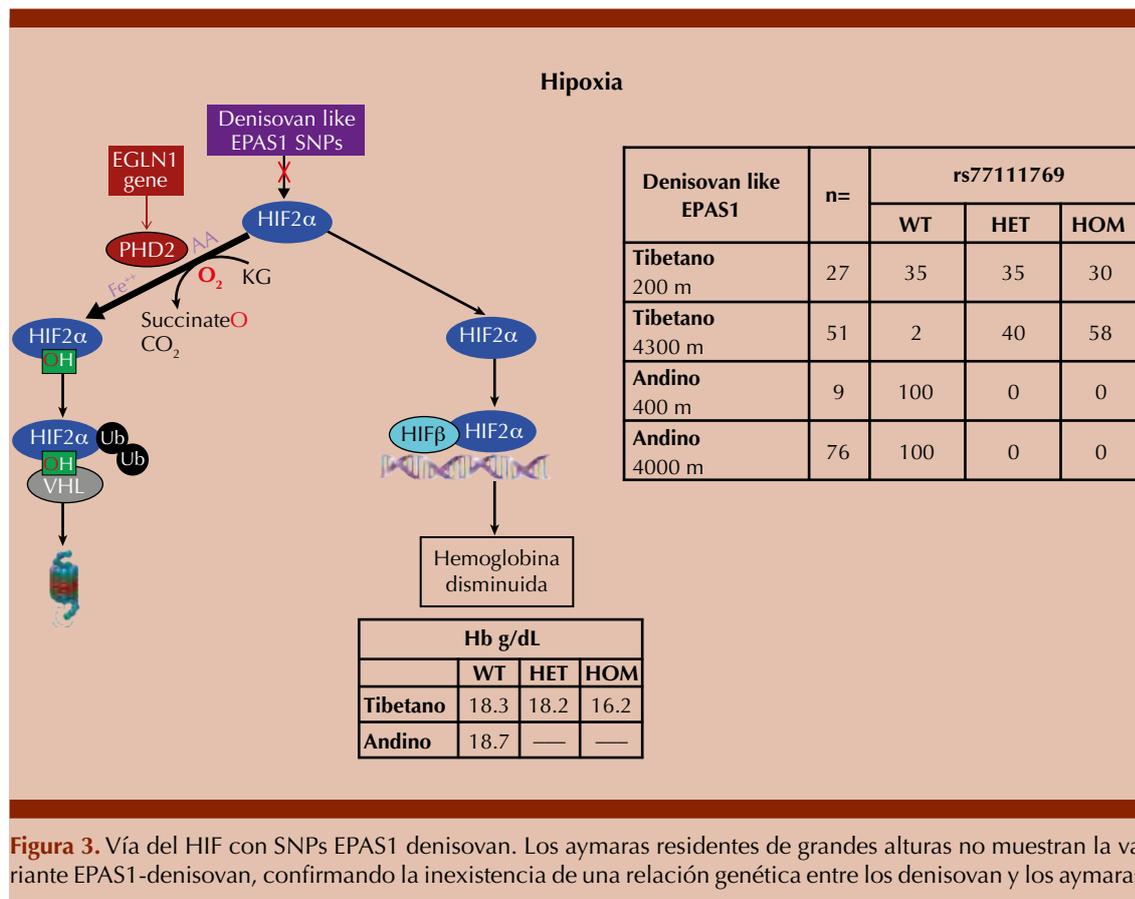
presiones selectivas, lo que conlleva múltiples adaptaciones genéticas en condiciones ambientales locales, tales como la altitud de residencia, exposición a rayos UV, dieta, estilo de vida y otros. Esto ha generado importantes diferencias genéticas y fenotípicas entre las poblaciones, las cuales pueden deberse, a su vez, a múltiples genes que interactúan entre sí.<sup>9,30,31</sup>

Los habitantes de grandes alturas demandan mayor cantidad de oxígeno (O<sub>2</sub>) para el metabolismo celular, entonces las células muestran cambios en la expresión génica para aumentar la eficiencia en la entrega de O<sub>2</sub> a los tejidos y disminuir el consumo del mismo,<sup>13,14</sup> posibilitando la adaptación del organismo a un ambiente hipóxico.<sup>13</sup> Así, los humanos se han ido adaptando



**Figura 2.** Vía del HIF con SNPs EPAS1 no-denisoan. Los SNPs no-denisoan *like* EPAS1, en condiciones de hipoxia, inducen la degradación de HIF2a por los proteosomas, por tanto, disminuyen las concentraciones altas de hemoglobina. Los tibetanos montañoses (4300 msnm) tienen SNPs más homocigotos que los tibetanos de las tierras bajas (200 msnm). Estos SNPs también están presentes en los aymara andinos, pero con pocos SNPs. Las concentraciones de hemoglobina en aymaras con alelos heterocigotos son bajas en relación con los que no tienen este tipo de SNPs.

\* n = 4 representa controles normales.



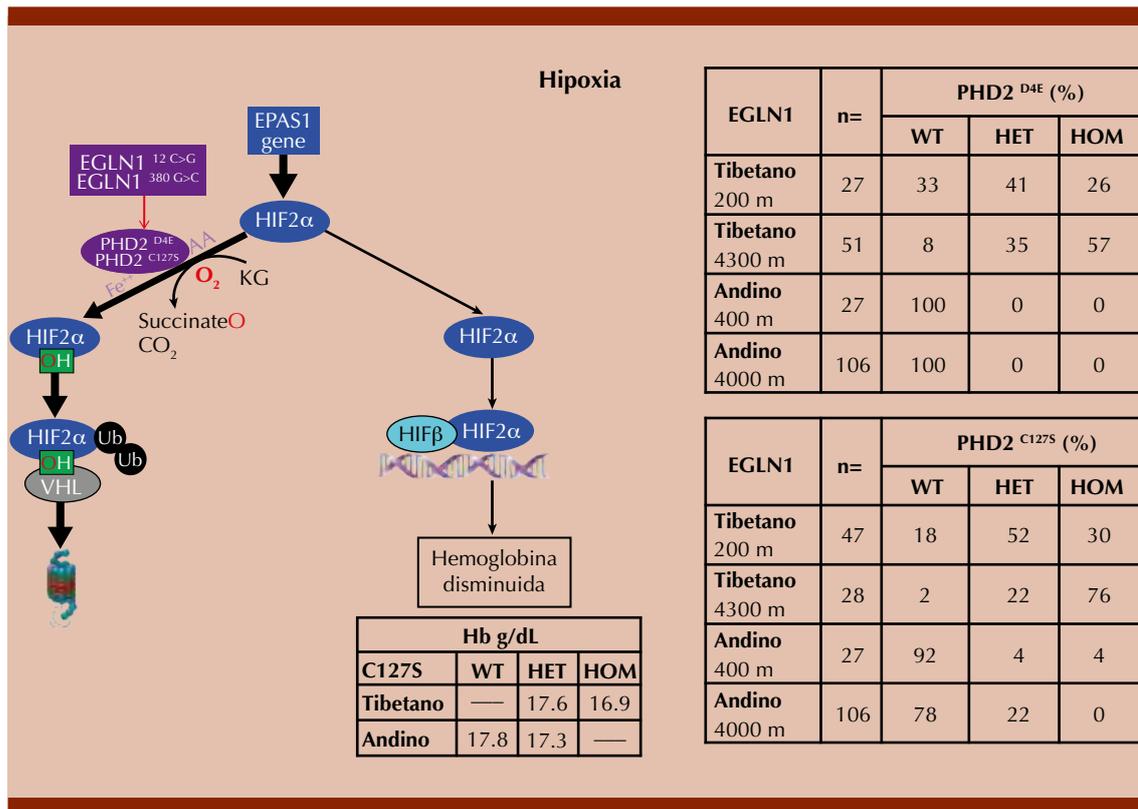
**Figura 3.** Vía del HIF con SNPs EPAS1 denisovan. Los aymaras residentes de grandes alturas no muestran la variante EPAS1-denisovan, confirmando la inexistencia de una relación genética entre los denisovan y los aymaras.

a condiciones de hipoxia crónica de gran altitud en diferentes lugares y estas adaptaciones tienen bases genéticas. En los tibetanos, por ejemplo, se ha encontrado el gen EPAS1 que codifica para HIF-2α y el gen EGLN1 que codifica la enzima PHD2,<sup>9</sup> además del gen piruvato cinasa que regula la concentración 2,3 DPG<sup>10,11,12</sup> y la alteración del gen NFκB1, este último enriquecido en los aymaras.<sup>26</sup>

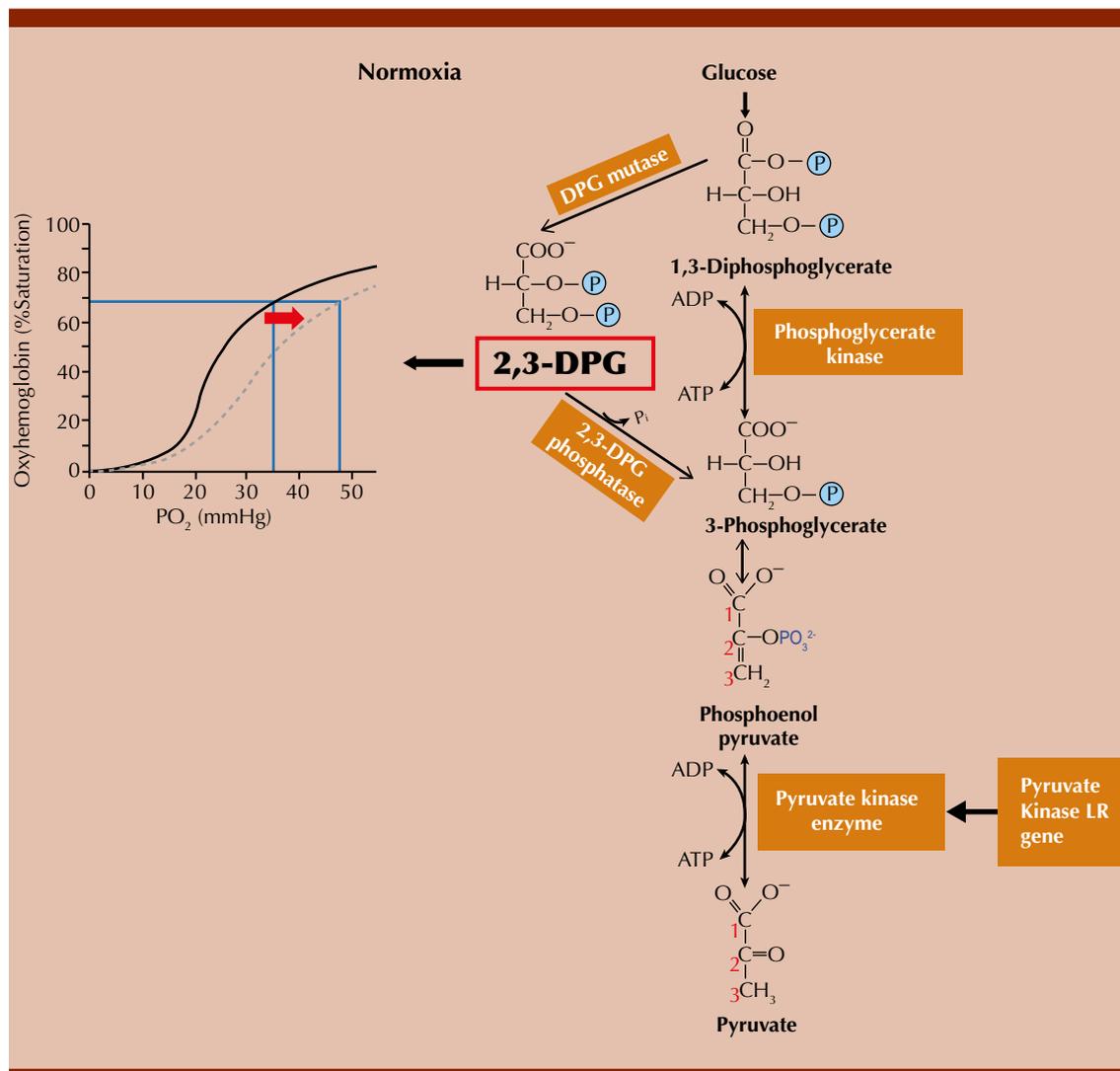
Entonces, los habitantes a nivel del mar, en condiciones de normoxia y genes normales, tienen una concentración de hemoglobina normal. Los tibetanos montañoses, en condiciones de hipoxia y con mayor porcentaje de haplotipos, tienen

concentraciones normales de hemoglobina que permiten aludir una adaptación hematológica completa. Por su parte, los aymaras andinos, en condiciones de hipoxia y con bajo porcentaje de haplotipos, tienen concentraciones de hemoglobina elevadas, lo que sugiere una adaptación hematológica parcial.

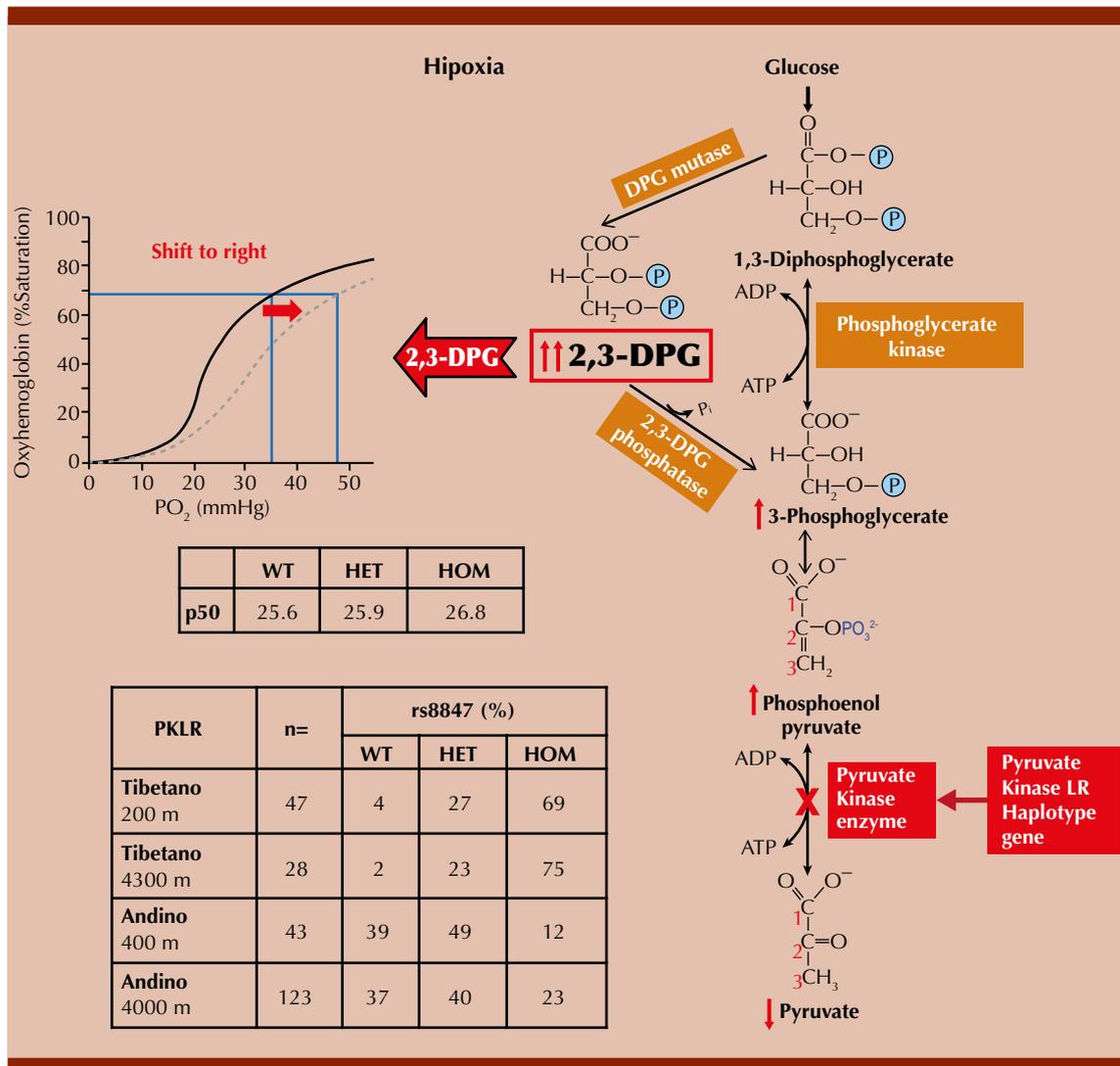
Los haplotipos de la vía del factor inducible por hipoxia disminuyen la proteína HIF-2α, los haplotipos de la vía de la glucólisis aumentan las concentraciones de DPG, y los haplotipos de la vía de señalización de NFκB1 disminuyen HIF-1α. En consecuencia, el HIF-2α disminuido, el HIF-1α disminuido y el DPG aumentado inducen



**Figura 4.** Vía del HIF con haplotipos EGLN1 (PHD2). Los haplotipos EGLN1 y PHD2, en condiciones de hipoxia, inducen la degradación del HIF2a por los proteosomas, por tanto, las concentraciones altas de hemoglobina disminuyen. Los tibetanos de tierras altas tienen formas más homocigotas que los tibetanos de tierras bajas; mientras tanto los aymara andinos tienen solo el 24% (heterocigosis) del haplotipo PHD2<sup>C127S</sup>. Las concentraciones de hemoglobina en aymaras con alelos heterocigotos son bajas en relación con controles normales. \* n = 4, representa controles normales.

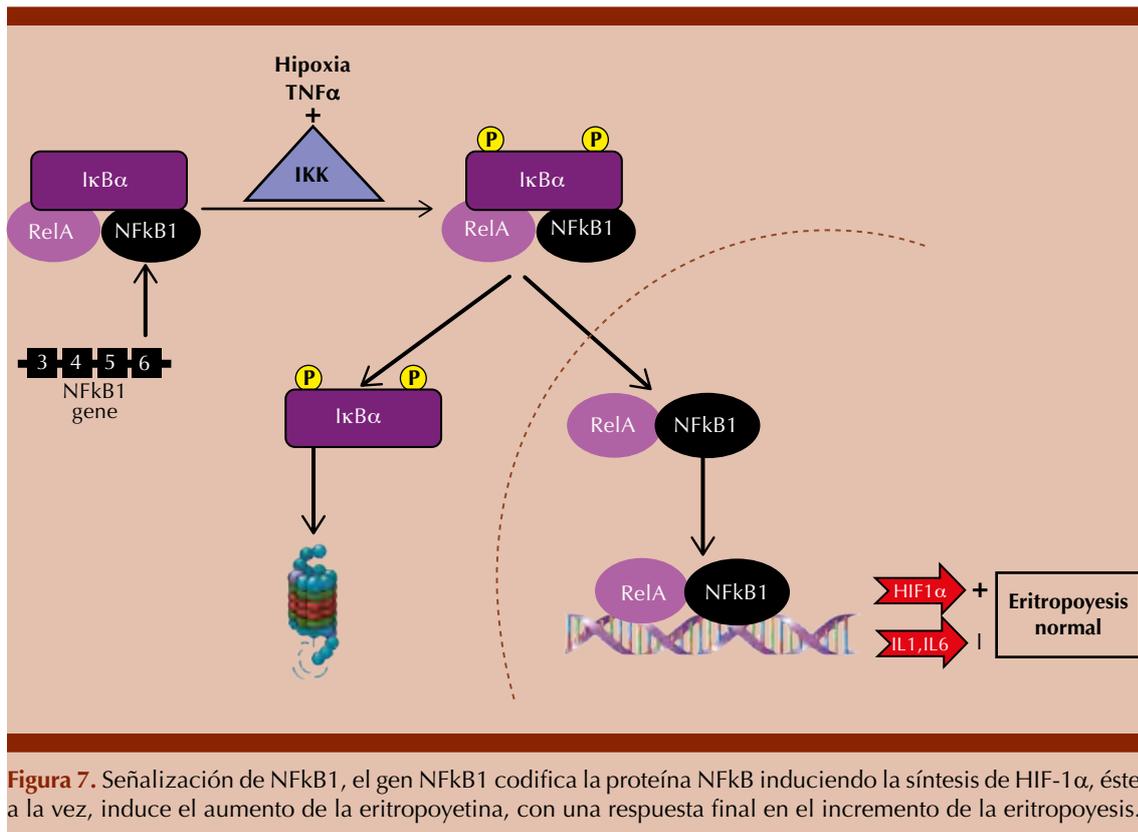


**Figura 5.** Esquema de la vía de la glucólisis en condiciones fisiológicas. En condiciones de normoxia, las concentraciones de DPG dependen de la actividad de la enzima piruvato cinasa. Cuando la actividad del piruvato cinasa aumenta, la concentración de DPG disminuye e, inversamente, cuando la actividad del piruvato cinasa disminuye, la concentración de DPG aumenta. Las concentraciones de DPG son responsables de disminuir la afinidad oxígeno-hemoglobina y esto mejora el suministro de oxígeno a los tejidos.



**Figura 6.** Vía de la glucólisis con el haplotipo variante PKLR. En condiciones de hipoxia, los haplotipos PKLR reducen la actividad de la enzima piruvato cinasa, por tanto, las concentraciones de DPG aumentan y este cambio de DPG hacia la derecha mejora el suministro de oxígeno a los tejidos. La forma homocigótica del haplotipo PKLR está presente tanto en los tibetanos montañoses como en los tibetanos de las tierras bajas. En los aymaras, este haplotipo PKLR alcanza alrededor del 67%, en ellos el p50 se desplaza hacia la derecha disminuyendo la afinidad de oxígeno-hemoglobina, mejorando el suministro de oxígeno a los tejidos y, como era de esperar, no hay cambios en los valores de hemoglobina.

\* n = 6 representa controles normales.



**Figura 7.** Señalización de NFκB1, el gen NFκB1 codifica la proteína NFκB induciendo la síntesis de HIF-1α, éste, a la vez, induce el aumento de la eritropoyetina, con una respuesta final en el incremento de la eritropoyesis.

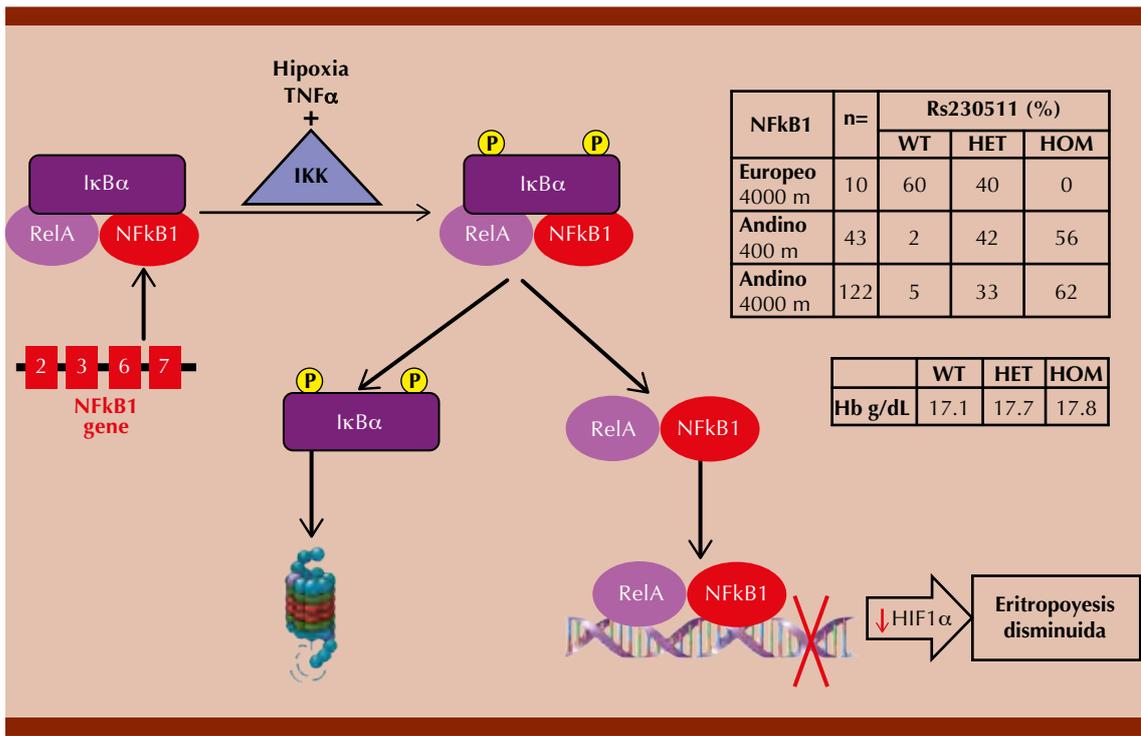
la inhibición de la eritropoyesis y mejoran el suministro de oxígeno a los tejidos, dando lugar a lo que podría ser el mecanismo de adaptación hematológica en los andinos residentes a gran altitud. **Figura 10**

Sin embargo, quedan habitantes de gran altitud que viven en condiciones de hipoxia, con genes normales o un porcentaje muy bajo de haplotipos, que tienen concentraciones de hemoglobina aún mayores, lo que supone una adaptación hematológica ausente (no adaptación) en este grupo. Los pacientes con eritrocitosis corresponden a este grupo.

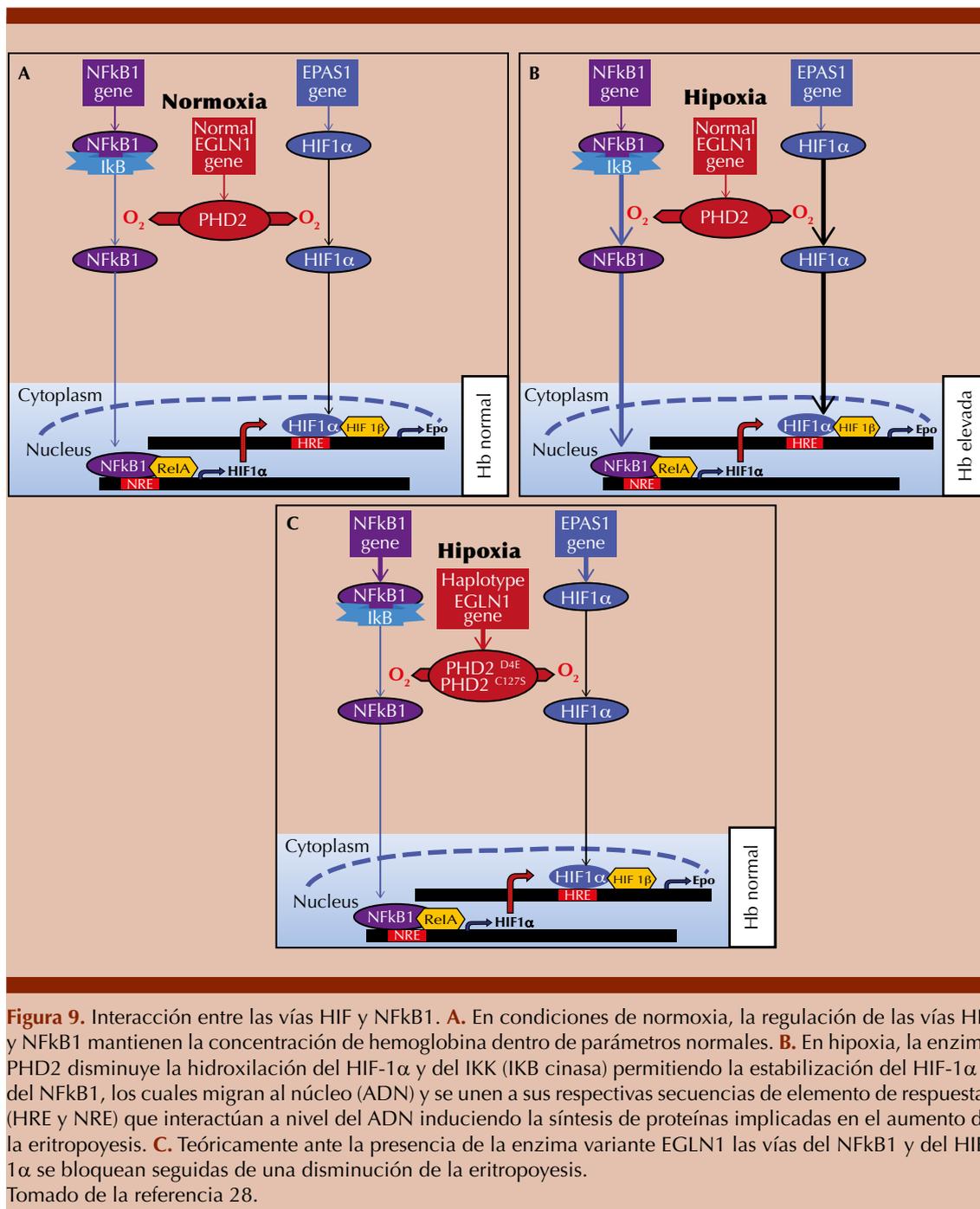
De esta manera, puede observarse que los tibetanos montañoses y los aymaras andinos comparten haplotipos en común, pero también tienen haplotipos enriquecidos específicos (**Figura 11**) y considerando esto, se puede conjeturar que los aymaras están en vías de adaptación.

#### Agradecimientos

Agradecemos a Josef T Prchal y Jihyun Song de la División de Hematología y Neoplasias Hematológicas de la Universidad de Utah, Estados Unidos por el asesoramiento y los datos proporcionados de la población tibetana.

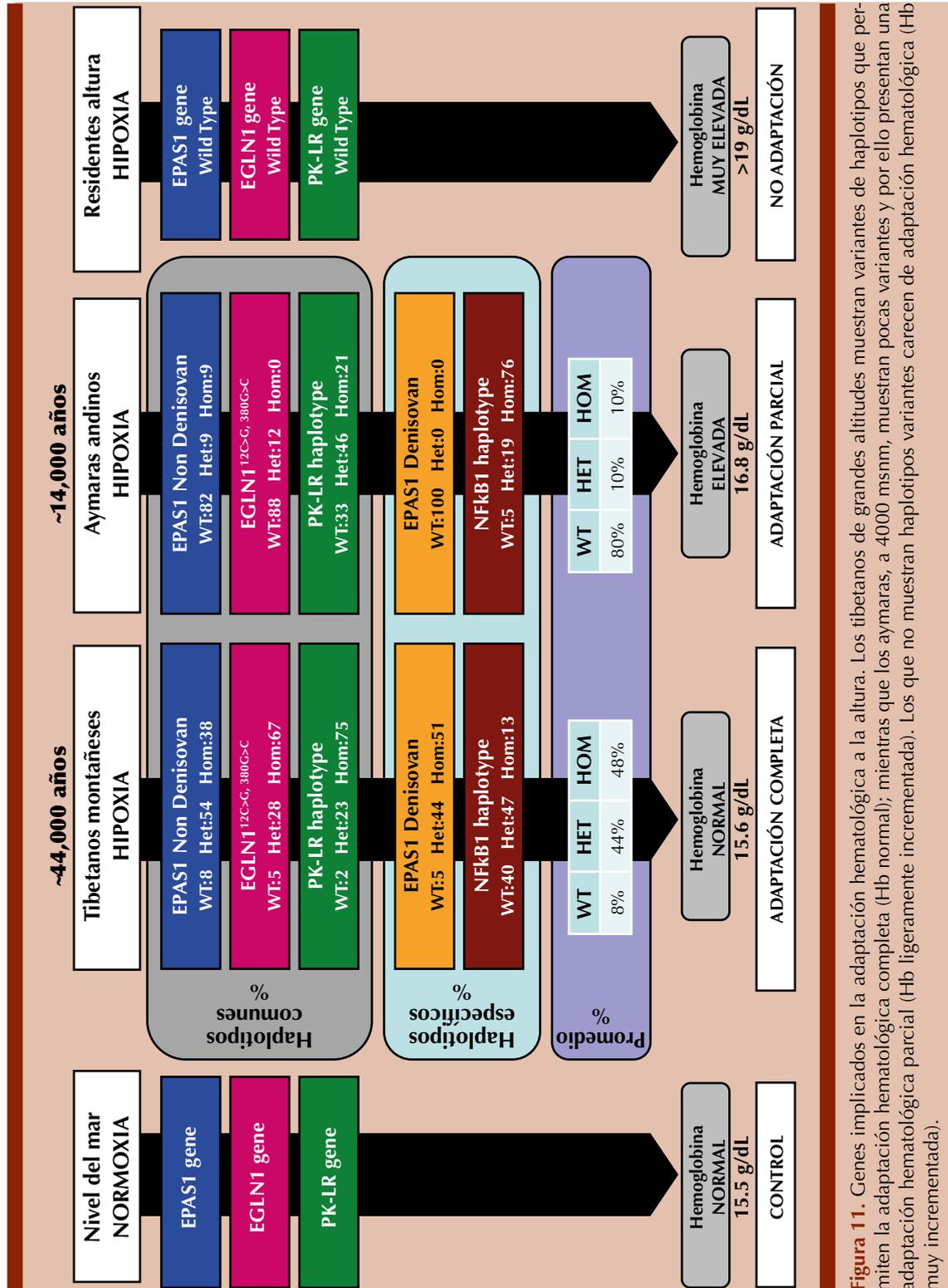


**Figura 8.** Vía del NF $\kappa$ B con SNPs NF $\kappa$ B1. Haplotipo NF $\kappa$ B1 enriquecido en los aymaras andinos. Existe un *splicing* alternativo que omite el exón 4, 5 o ambos, y esta alteración codifica una proteína NF $\kappa$ B1 pequeña no funcional que bloquea la síntesis de HIF-1 $\alpha$  y conduce a la disminución de la eritropoyesis. Asimismo, la forma homocigota NF $\kappa$ B1 en los aymaras muestra un porcentaje más alto en relación con los tibetanos y los europeos. \* n = 6 representa controles normales.



**Figura 9.** Interacción entre las vías HIF y NFkB1. **A.** En condiciones de normoxia, la regulación de las vías HIF y NFkB1 mantienen la concentración de hemoglobina dentro de parámetros normales. **B.** En hipoxia, la enzima PHD2 disminuye la hidroxilación del HIF-1α y del IKK (IKB cinasa) permitiendo la estabilización del HIF-1α y del NFkB1, los cuales migran al núcleo (ADN) y se unen a sus respectivas secuencias de elemento de respuestas (HRE y NRE) que interactúan a nivel del ADN induciendo la síntesis de proteínas implicadas en el aumento de la eritropoyesis. **C.** Teóricamente ante la presencia de la enzima variante EGLN1 las vías del NFkB1 y del HIF-1α se bloquean seguidas de una disminución de la eritropoyesis. Tomado de la referencia 28.





**Figura 11.** Genes implicados en la adaptación hematológica a la altura. Los tibetanos de grandes altitudes muestran variantes de haplotipos que permiten la adaptación hematológica completa (Hb normal); mientras que los aymaras, a 4000 msnm, muestran pocas variantes y por ello presentan una adaptación hematológica parcial (Hb ligeramente incrementada). Los que no muestran haplotipos variantes carecen de adaptación hematológica (Hb muy incrementada).

## REFERENCIAS

1. Gonzales GF. Hemoglobina y testosterona: importancia en la aclimatación y adaptación a la altura. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2011; 28 (1): 92-100.
2. Noel-Jorand M, Burnet H. Changes in human respiratory sensation induced by acute high altitude hypoxia. *Neuroreport* 1994; 5 (13): 1561-6. doi: 10.1097/00001756-199408150-00005.
3. Hu H, Petousi N, Glusman G, Yu Y, Bohlender R, Tashi T, et al. Evolutionary history of Tibetans inferred from whole-genome sequencing. *PLoS Genetics* 2017; 13 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006675>.
4. Rademaker K, Hodgins G, Moore K, Zarrillo S, Miller C, Bromley GR, et al. Paleoindian settlement of the high-altitude Peruvian Andes. *Science* 2014; 346 (6208): 466-9. <https://doi.org/10.1126/science.1258260>.
5. Julian CG, Moore LG. Human genetic adaptation to high altitude: Evidence from the Andes. *Genes* 2019; 10 (2): 150. doi: 10.3390/genes10020150.
6. Beall CM, Cavalleri GL, Deng L, Elston RC, Gao Y, Knight J, et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2 $\alpha$ ) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *Proceed National Acad Sci* 2010; 107 (25): 11459-64. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002443107>.
7. Ronen R, Zhou D, Bafna V, Haddad GG. The genetic basis of chronic mountain sickness. *Physiology* 2014; 29 (6): 403-12. doi: 10.1152/physiol.00008.2014.
8. Simonson TS. Altitude adaptation: a glimpse through various lenses. *High Alt Med Biol* 2015; 16 (2): 125-37. doi: 10.1089/ham.2015.0033.
9. Bigham AW, Lee FS. Human high-altitude adaptation: forward genetics meets the HIF pathway. *Genes Dev* 2014; 28 (20): 2189-204. doi: 10.1101/gad.250167.114.
10. Moore LG, Brewer GJ. Beneficial effect of rightward hemoglobin-oxygen dissociation curve shift for short-term high-altitude adaptation. *J Lab Clin Med* 1981; 98 (1): 145-54.
11. Dempsey JA. With hemoglobin as with politics-should we shift right or left? *J Physiol* 2020. doi: 10.1113/JP279555.
12. Milledge J. Hypobaric: High altitude, aviation physiology, and medicine. *Cotes' Lung Function* 2020: 615-37.
13. Semenza GL. The genomics and genetics of oxygen homeostasis. *Ann Rev Genomics Hum Genet* 2020; 21: 183-204. doi: 10.1146/annurev-genom-111119-073356.
14. Samanta D, Semenza GL. Metabolic adaptation of cancer and immune cells mediated by hypoxia-inducible factors. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2018; 1870 (1): 15-22. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.07.002.
15. Tashi T, Reading NS, Wuren T, Zhang X, Moore LG, Hu H, et al. Gain-of-function EGLN1 prolyl hydroxylase (PHD2 D4E: C127S) in combination with EPAS1 (HIF-2 $\alpha$ ) polymorphism lowers hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *J Mol Med* 2017; 95 (6): 665-70. doi: 10.1007/s00109-017-1519-3.
16. Prabhakar NR. 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Am Physiol Soc* 2020. <https://doi.org/10.1152/physiol.00001.2020>.
17. Chan X, Eoh J, Volkova E, Black R, Fang L, Gorashi R, et al. HIF2A gain-of-function mutation modulates the stiffness of smooth muscle cells and compromises vascular mechanics. *iScience* 2021; 24 (4): 102246. doi: 10.1016/j.isci.2021.102246.
18. Huerta-Sánchez E, Jin X, Bianba Z, Peter BM, Vinckenbosch N, Liang Y, et al. Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA. *Nature* 2014; 512 (7513): 194-7. <https://doi.org/10.1038/nature13408>.
19. Lorenzo FR, Huff C, Myllymäki M, Olenchock B, Swierczek S, Tashi T, et al. A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation. *Nature Genetics* 2014; 46 (9): 951. <https://doi.org/10.1038/ng.306>.
20. Simonson TS, Yang Y, Huff CD, Yun H, Qin G, Witherspoon DJ, et al. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. *Science* 2010; 329 (5987): 72-5. doi: 10.1126/science.1189406.
21. Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, Jin X, Cuo ZXP, Pool JE, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. *Science* 2010; 329 (5987): 75-8. doi: 10.1126/science.1190371.
22. Amaru R, Song J, Reading NS, Gordeuk VR, Quispe T, Moore L, et al. Erythroid and cardiovascular high altitude-selected haplotypes in Andean aymaras and Tibetans. *Blood*. 2017; 130 (Supplement 1): 2205. [https://doi.org/10.1182/blood.V130.Suppl\\_1.2205.2205](https://doi.org/10.1182/blood.V130.Suppl_1.2205.2205).
23. Song J, Abello V, Amaru R, Sergueeva A, Isakova J, Kosinski PA, et al. Tibetan enriched PKLR variant is beneficial to high altitude adaptation by improving oxygen delivery. *Blood* 2018; 132 (Supplement 1): 1027. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-117389>.
24. Bigham AW, Julian CG, Wilson MJ, Vargas E, Browne VA, Shriver MD, et al. Maternal PRKAA1 and EDNRA genotypes are associated with birth weight, and PRKAA1 with uterine artery diameter and metabolic homeostasis at high altitude. *Physiol Genomics* 2014; 46 (18): 687-97. doi: 10.1152/physiolgenomics.00063.2014.
25. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Gina T, Mamani J, Vera O, et al. Bolivian aymara natives with chronic mountain sickness have autonomous BFU-E growth. *Blood* 2015; 126: 5206. <https://doi.org/10.1182/blood.V126.23.5206.5206>.
26. Song J, Han S, Amaru R, Quispe T, Kim D, Crawford JE, et al. Novel form of alternative splicing of NFKB1. Its role in polycythemia and adaptation to high altitude in Andean Aymara. *Blood* 2018; 132 (Supplement 1): 2316. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-117463>.
27. Crawford JE, Amaru R, Song J, Julian CG, Racimo F, Cheng JY, et al. Natural selection on genes related to cardiovascular health in high-altitude adapted Andeans. *Am J Human Genet* 2017; 101 (5): 752-67. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.09.023.
28. Figueroa Y, Chan AK, Ibrahim R, Tang Y, Burow ME, Alam J, Scandurro AB, Beckman BS. NF-kappaB plays a key role in hypoxia-inducible factor-1-regulated erythropoietin gene

- expression *Exp Hematol* 2002; 30: 1419-27. doi: 10.1016/s0301-472x(02)00934-7.
29. Chen P-S, Chiu W-T, Hsu P-L, Lin S-C, Peng I-C, Wang C-Y, et al. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *J Biomed Sci* 2020; 27: 1-19. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00658-7>.
  30. Rees JS, Castellano S, Andrés AM. The genomics of human local adaptation. *Trends Genet* 2020. doi: 10.1016/j.tig.2020.03.006.
  31. Key FM, Fu Q, Romagné F, Lachmann M, Andrés AM. Human adaptation and population differentiation in the light of ancient genomes. *Nature Communications* 2016; 7 (1): 1-11. <https://doi.org/10.1038/ncomms10775>.
  32. Shestakova A, Lorenzo F, Tashi T, Lanikova L, Wittwer CT, Prchal JT. Tibetan PHD2 D4E high altitude adapted gene can be rapidly detected by high resolution melting assay. *Blood* 2014. <https://doi.org/10.1182/blood.V124.21.4875.4875>.