

## **ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA (EC 1.1.1.49) EN TEJIDO ADIPOSO Y HEPÁTICO DURANTE LA EXPOSICIÓN A LA ALTURA**

**ALBERTO GONZALEZ R., DORIS RAFAEL M., HAYDEE ZUÑIGA C. Y ELIZABETH CARRANZA A.**

Departamento de Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica - U.N.M.S.M.

### **RESUMEN**

Se determinó la actividad específica de la enzima Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.49) en tejidos adiposo y hepático de 67 ratas Holtzman, machos, nacidas y criadas a nivel del mar. De ellas, 48 fueron transportadas en automóvil (3 horas de viaje) hacia 4 540 m sobre el nivel del mar, y sacrificadas a 0, 1, 2, 3, 5, 15 y 30 días después de su arribo. Las restantes se separaron en dos grupos, un grupo que no viajó, y otro que viajó tres horas a nivel del mar, tras lo cual fueron sacrificadas.

El tejido adiposo de los animales llevados a la altura, presentó una menor actividad específica de la enzima que el de los del nivel del mar. Se observó una disminución acentuada durante los primeros dos días, luego se recuperó lentamente sin volver al valor inicial de arribo.

En cuanto al tejido hepático, la actividad específica de la enzima de los animales llevados a la altura, se elevó ya durante el viaje y se mantuvo por encima de los valores del nivel del mar, sin experimentar cambios durante 15 días en la altura, mostrando un ligero aumento en el día 30 con respecto a su arribo.

### **SUMMARY**

The Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) specific activity was determined in adipose and hepatic tissues of 67 Holtzman, male, adults rats, born and bred at sea level. Of them, 48 were transported by automobile in three hours up to 4 540 m. above sea, and sacrificed in turn at 0, 1, 2, 3, 5, 15 and 30 days after arrival. The other 19 were grouped in two classes: a control class of rats which never traveled, and another class of rats that traveled around for three hours, after which they were sacrificed.

As a result, it was shown that the trip without ascent did not cause any significant variation in adipose and hepatic tissue G6PD specific activity.

In animals taken to the high altitude, it was observed a lower specific activity of adipose tissue G6PD than in those remaining at sea level. During the first two days the activity fell sharply, thereafter recovering slowly without actually returning to initial value at arrival.

As to the hepatic tissue, G6PD specific activity in animals, taken to the high altitude it arose from the arrival, stayed above those at sea level without showing significant changes during 15 days at high altitude, with a slight increase at day 30 after arrival.

### **INTRODUCCION**

La geografía especial del Perú permite que en lapsos muy cortos se pueda alcanzar grandes alturas. Cuando el hombre asciende del nivel de mar a la altura se enfrenta a dos condiciones: la hipoxia, resultante de la disminución de la presión barométrica, y el frío, que se intensifica con la altitud sobre el nivel del mar. Existen en la literatura diversos trabajos que describen los mecanismos que el organismo pone en juego para adaptarse al nuevo ambiente. Entre estos mecanismos, el sistema respiratorio, el cardiovascular y el hematopoyético han sido los más estudiados (9,23). Sin embargo, gran parte de los cambios metabólicos que se producen durante el proceso de aclimatación permanecen aún desconocidos.

Se ha demostrado tanto en el hombre como en animales, que la exposición aguda a la hipoxia va acompañada de una pérdida de peso corporal y que ésta parece depender de la altura alcanzada y del tiempo de permanencia en ella (1,2,3). Observaciones en ratas y humanos indican que en la pérdida de peso se debe principalmente a la reducción de la grasa corporal (4,14).

El contenido de grasa corporal depende del balance entre las tasas de lipogenesis (síntesis de ácidos grasos), esterificación (almacenamiento) y lipolisis (degradación). La síntesis de grasa involucra una serie de sustratos: NADPH, ATP, Acetil-CoA y glicerol-3-fosfato. El NADPH es el reductor necesario para la síntesis de ácidos grasos en la mayoría de los sistemas y es proporcionado tanto por el ciclo de la trnshidrogenación como por la vía de la pentosa fosfato (11).

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) (G6FD) es la primera enzima y la llave reguladora de la vía de la pentosa fosfato. Esta vía tiene como función, en la célula, la formación de dos sustratos del anabolismo: ribosa-5-fosfato para la síntesis de ácidos nucleicos y la generación de NADPH, un compuesto requerido para varias vías biosintéticas, así como también para la estabilidad de la catalasa y la preservación y la regeneración de la forma reducida del glutatión. Debido a que la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) produce el NADPH necesario para la biosíntesis de ácidos grasos y esteroides, es considerada una enzima lipogénica (11).

La actividad de esta enzima varía en diversas condiciones fisiológicas, tales como tipo de dieta, ayuno, situación endocrina, temperatura, etc. Así, aumenta unas cinco veces después de comer y disminuye en el ayuno (11).

La aclimatación a la altura es un proceso que implica la adaptación de diversos tejidos y cambios metabólicos, muchos de los cuales han sido estudiados parcialmente. Existe poca información sobre los posibles cambios en actividades enzimáticas de tejidos en condiciones de exposición a las grandes alturas. Morococha, a 4540 m nos ofrece la oportunidad de estudiar en forma natural los efectos que puedan tener la hipoxia y/o el frío sobre las funciones del organismo; y el estudio en animales permite separar dichos factores.

El trabajo de investigación que se presenta a continuación tiene como propósito determinar la actividad de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) de los tejidos adiposo y hepático, en busca de una mejor definición de los cambios que podrían producirse en el metabolismo bajo condiciones de exposición aguda a la hipoxia durante diversos períodos de exposición.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**DISEÑO EXPERIMENTAL.-** En el presente trabajo se utilizó 67 animales de experimentación nacidos y criados a nivel del mar. De ellos, 48 fueron transportados por carretera en tres horas de viaje a la altura, y 4 540 metros sobre el nivel del mar, y luego de 0(Viaje a Morococha), 1,2,3,4,5,15 y 30 días de su arribo fueron sacrificados. Diecinueve animales permanecieron en Lima, 10 conformaron el grupo "Control" que

no hizo viaje alguno (fueron sacrificadas al final del experimento) y los 9 restantes constituyeron el grupo que viajó 3 horas a nivel del mar (**Viaje en Lima**), tras lo cual fueron sacrificadas.

**MATERIAL BIOLÓGICO.-** En el presente trabajo de investigación se utilizó el tejido adiposo del epidídimo y el tejido hepático de ratas albinas machos, raza Holtzman, nacidos en Lima en el bioterio del Departamento de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Agraria y criados en el bioterio del Instituto de Biología Andina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos hasta adultos (150 días). Las ratas machos recién destetadas fueron colocadas dos por jaula y se las crió con ciclos artificiales de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad para obviar los ciclos circadianos (24) y se las mantuvo siempre a una temperatura ambiental de  $20 \pm 1$  °C. Con el fin de evitar el posible estrés por manipuleo, los animales, tanto del grupo del nivel del mar como el grupo que fueron trasladados a Morococha permanecieron en sus jaulas hasta el momento del sacrificio. Todos los animales tuvieron la misma alimentación "ad libitum", y consumieron agua potable de Lima.

Los animales quedaron en ayunas, pero con agua, 12 horas antes de ser sacrificados. El día del sacrificio se los anestesió con éter dietílico, se les pesó, se les abrió la cavidad abdominal y se aislaron los tejidos adiposo y hepático. Los tejidos fueron lavados con ClNa helado, secados en papel de filtro, pesados, envueltos en papel de aluminio frío y fueron colocados rápidamente en baño de hielo seco (-20 °C) para su posterior análisis en los laboratorios del Centro de Investigación de Biología Andina.

Tanto el tejido adiposo como el hepático fueron homogenizados en una solución de sucrosa 0.25 M helada: 1 g de tejido con 5 ml de sucrosa, se centrifugaron a  $20,000 \times g$  por 20' a 4 °C. El sobrenadante fue empleado para medir la actividad enzimática y la proteína.

La actividad de la enzima glucosa-6-fosfato dehidrogenasa (EC 1.1.1.49) se determinó por el método espectrofotométrico de Komberg y Horecker (13) y las proteínas fueron determinadas por el método de Lowry (15).

Los resultados fueron expresados como actividad específica ( $\mu$  moles de sustrato transformados/min/mg de proteína).

## ANÁLISIS DE DATOS

Se expresó los resultados como media desviación estándar para cada uno de los nueve grupos. Luego de aplicar el análisis de varianza, se contrastó mediante la prueba de Dunnett los grupos cuya estadía fue de 1 a 30 días con el que sacrificado al llegar a la altura; y mediante la prueba de Tukey se efectuó las comparaciones múltiples (18).



## RESULTADOS

**EFFECTO DEL VIAJE SOBRE LA ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA G6FD EN LOS TEJIDOS ADIPOSEO Y HEPATICO.-** Para analizar y determinar tal efecto, se comparó la actividad específica de los tejidos adiposo y hepático entre los siguientes grupos de estudio: el grupo "Control", conformado por ratas que no hicieron viaje, el grupo "Viaje en Lima", conformado por ratas que viajaron 3 horas a nivel del mar (tiempo equivalente al del viaje a Morococha) y el grupo "Viaje a Morococha", ratas que viajaron y ascendieron hasta 4 500 m de altitud y que fueron sacrificadas dentro de la hora de llegada. La Tabla N° 1 presenta los valores promedios y desviación estándar (DS) de la actividad específica de la enzima en los tejidos adiposo y hepático. El análisis de varianza realizado muestra que en el caso del tejido adiposo no hay diferencia significativa entre las medias de los tres grupos, por lo que en el ascenso no tendría efecto sobre la actividad de la enzima. En el caso del tejido hepático, sí hay significación estadística y la prueba de Tukey revela diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ) entre la media del grupo "Viaje a Morococha" (0.013 U/mg proteína), y las de los grupos "Control" (0.00972 U/mg proteína), y "Viaje en Lima" (0.00874 U/mg proteína). Por lo tanto, sí hay efecto significativo del viaje con ascenso hacia 4 540 m de altitud, sobre la actividad específica de la G6FD en tejido hepático.

**TABLA I**  
EFFECTO DEL VIAJE SOBRE LA ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA  
GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA  
(U/mg Proteína)

	TEJIDO ADIPOSEO		TEJIDO HEPATICO	
	n	Media $\pm$ DS ( $\times 10^{-3}$ )	n	Media $\pm$ DS ( $\times 10^{-3}$ )
CONTROL	10	24,50 $\pm$ 11,30	10	9,72 $\pm$ 1,81 <sup>a</sup>
VIAJE EN LIMA	8	19,40 $\pm$ 6,64	9	8,74 $\pm$ 1,45 <sup>a</sup>
VIAJE A MOROCOCHA	8	19,00 $\pm$ 6,57	8	1,30 $\pm$ 2,73 <sup>a</sup>

a)  $p < 0,001$  con respecto al grupo "Viaje a Morococha"

**TABLA II**  
ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA  
SEGÚN PERMANENCIA EN LA ALTURA (U/mg Proteína)

	TEJIDO ADIPOSEO		TEJIDO HEPATICO	
	n	Media $\pm$ DS ( $\times 10^{-3}$ )	n	Media $\pm$ DS ( $\times 10^{-3}$ )
0 DIAS	8	24,50 $\pm$ 11,30	8	9,72 $\pm$ 1,81
1 DIA	4	8,85 $\pm$ 2,63	4	14,10 $\pm$ 3,81
2 DIAS	4	5,72 $\pm$ 3,18	4	11,00 $\pm$ 1,36
3 DIAS	8	6,77 $\pm$ 2,24	8	10,40 $\pm$ 2,19
5 DIAS	8	11,70 $\pm$ 4,24	8	13,70 $\pm$ 1,56
15 DIAS	8	10,30 $\pm$ 7,75	8	13,40 $\pm$ 1,83
30 DIAS	8	14,30 $\pm$ 4,90	7	17,70 $\pm$ 2,80

**TABLA III**  
**PRUEBA DE DUNNETT**

	<b>TEJIDO ADIPOSEO</b>					
<b>DIA</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>30</b>
Media ( $\times 10^{-2}$ )	0,89	0,57	0,68	1,17	1,03	1,43
Diferencia con respecto a la media "Control" ( $\times 10^{-2}$ )	1,57'	1,88'	1,77'	1,28'	1,42'	1,02'
Diferencia crítica de Dunnett ( $\alpha=,05$ ) ( $\times 10^{-3}$ )	10,7	10,7	8,54	8,54	8,54	8,54
	<b>TEJIDO HEPATICO</b>					
Media ( $\times 10^{-2}$ )	1,41	1,10	1,04	1,37	1,34	1,77
Diferencia con respecto a la media "Control" ( $\times 10^{-3}$ )	4,73'	1,27	0,68	3,93'	3,67'	8,00'
Diferencia crítica de Dunnett ( $\alpha=,05$ ) ( $\times 10^{-3}$ )	3,45	3,45	8,54	2,77	2,77	2,77

(\*):  $p < 0,05$

**TABLA IV**  
**PRUEBA DE TUKEY**

	<b>TEJIDO ADIPOSEO</b>						
<b>Grupos</b>		<b>3 días</b>	<b>1 día</b>	<b>15 días</b>	<b>5 días</b>	<b>30 días</b>	<b>0 días</b>
	Media	0,68	0,88	1,03	1,17	1,43	1,90
2 días	0,57	0,11	0,31	0,46	0,59	0,86	1,33'
3 días	0,68		0,21	0,35	0,49	0,76	1,22'
1 día	0,88			0,15	0,28	0,55	1,02'
15 días	1,03				0,14	0,40	0,87'
5 días	1,17					0,27	0,73
30 días	1,43						0,47
	<b>TEJIDO HEPATICO</b>						
<b>Grupos</b>		<b>2 días</b>	<b>0 días</b>	<b>15 días</b>	<b>5 días</b>	<b>1 día</b>	<b>30 días</b>
	Media	1,10	1,30	1,34	1,36	1,41	1,77
3 días	1,04	0,06	0,26	0,30	0,32	0,37	0,73'
2 días	1,10		0,20	0,24	0,27	0,31	0,67'
0 días	1,30			0,04	0,06	0,11	0,47'
15 días	1,34				0,03	0,07	0,43'
5 días	1,36					0,04	0,41'
1 día	1,41						0,37

(\*): diferencias significativas entre medias

**EFFECTO DE LA PERMANENCIA EN LA ALTURA CON RESPECTO AL GRUPO "CONTROL" SOBRE LA ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA G6FD EN LOS TEJIDOS ADIPOSEO Y HEPATICO.**- Para analizar y determinar el efecto de la hipoxia de la altura, a 4 540 m, sobre la actividad específica de G6FD, se compararon

las medias obtenidas en los tejidos adiposo y hepático de los grupos que permanecieron 1,2,3,5,15 y 30 en la altura con respecto al grupo "Control". La Tabla N° 2 presenta los valores promedios y desviación estándar (DS) de la actividad específica de la enzima en los tejidos adiposo y hepático. El análisis de varianza realizado muestra que tanto en el tejido adiposo como en el hepático hay diferencia significativa entre las medias de los grupos de altura y la del grupo "Control". La prueba de Dunnett (Tabla 3) nos permite localizar las diferencias estadísticamente significativas. Así, en el caso del tejido adiposo, todas las diferencias observadas son mayores que las diferencias críticas de Dunnett. En consecuencia son estadísticamente significativas; y ello pone en evidencia que la hipoxia de altura sí tiene efecto sobre la actividad específica de la G6FD, en la forma de una disminución en el tejido graso. En relación a la actividad de la enzima en el tejido hepático, las diferencias correspondientes a los grupos de los días 1, 5, 15 y 30 de permanencia en la altura, son mayores que las diferencias críticas de Dunnett, en consecuencia se puede concluir que la hipoxia de altura tiene efecto significativo sobre la actividad específica de la G6FD, a saber, un aumento en la actividad específica de la G6FD. (Ver Tabla 3).

**EFFECTO DE LA HIPOXIA SEGÚN EL TIEMPO DE EXPOSICION A LA ALTURA SOBRE LA ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA G6FD EN LOS TEJIDOS ADIPOSEO Y HEPATICO.-** Para analizar y comparar tal efecto, se compararon las variaciones de la actividad específica de G6FD en tejido adiposo y hepático desde la llegada a la altura y durante la exposición a la hipoxia, según tiempo de permanencia. La Tabla 2 presenta los valores promedios de los grupos 0, 1, 2, 3, 5, 15 y 30 de permanencia en la altura. El análisis de varianza realizado muestra que tanto en el tejido adiposo y hepático hay diferencia significativa entre las medias de los grupos según tiempo de permanencia de altura. La prueba de Tukey nos permite localizar las diferencias estadísticamente significativas. Así, en el caso del tejido adiposo (Tabla 4), se produce una disminución significativa de la actividad enzimática durante el 1° y 2° día de permanencia en la altura con respecto al recién llegado (grupo 0 días) y luego se incrementa paulatinamente hacia el final del experimento sin regresar al valor inicial de llegada a la altura. En relación al tejido hepático (Tabla 5) solamente se encuentra diferencia significativa en el grupo 30 días de permanencia, y un ligero aumento de la actividad con respecto al valor inicial de llegada a la altura.

## DISCUSION

La enzima, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6FD), ha sido considerada y estudiada por mucho tiempo como la típica enzima "reguladora" que está presente en todas las células, donde juega un papel importante regulando el flujo del carbono a través de la vía de las pentosas de fosfato. Específicamente, la enzima cataliza la primera reacción en la vía que lleva a la producción de fosfatos de pentosas y de NADPH para la biosíntesis reductiva y el mantenimiento del estado redox de la célula (11).

En el presente trabajo de investigación, se ha estudiado el efecto de la hipoxia aguda sobre la actividad específica de la G6FD en los tejidos adiposo y hepático de ratas.



## TEJIDO ADIPOSEO

Los resultados obtenidos, bajo las condiciones experimentales del presente trabajo, revelan que la actividad enzimática de la G6FD en el tejido adiposo por el viaje con ascenso no varía significativamente con respecto al resultado obtenido tras el viaje alrededor de la ciudad de Lima (Viaje a Lima) y al estado basal de Lima (Control). Por otro lado, observamos una menor actividad específica de la G6FD en el tejido adiposo de todos los grupos de animales llevados a la altura en comparación con el grupo de control ( $p < 0.001$ ). Además la actividad específica de la G6FD en el tejido adiposo se ve afectada por la hipoxia según el tiempo de permanencia en la altura de 4 540 m. con respecto al valor inicial de arribo ( $p > 0.001$ ). Es de notar una disminución brusca durante los 2 primeros días en la altura, para luego ir recuperándose lentamente sin recuperar el nivel inicial de arribo.

La disminución de la actividad específica de G6FD en el tejido adiposo por la permanencia a una altitud de 4 540 m con respecto al nivel del mar tiene relación con la reducción de la ingesta alimenticia debido a la anorexia, que es otra característica de la exposición aguda a la hipoxia; en razón de que la reducción de la ingesta alimenticia es un inhibidor de la actividad específica de la G6FD en el tejido adiposo (11).

La observación de una brusca disminución, durante el primer y segundo día de permanencia en la altura, posiblemente se debe a la armonización de las siguientes circunstancias durante la hipoxia aguda: a) La estimulación de la corteza adrenal por la ACTH, que origina la secreción de cortisol. Este aumento ocurre durante los primeros pocos días en la altura, el cual decae hacia valores normales entre 5 a 7 días (8,16,17,20,21). El aumento de la liberación de la hormona cortisol moviliza las grasas de los acúmulos corporales. (10); b) El aumento en la glucosa sanguínea en ayuno, seguido por una caída hacia los valores de control al final de una semana (23a) y c) La pérdida de peso que reduce la grasa corporal, consecuente con la anorexia que reduce la ingesta alimenticia; dan como resultado estimulación de la gluconeogénesis (11) y reducción de la síntesis grasa como parte de una respuesta no específica al estrés (23a), disminuyendo la actividad de la G6FD en el tejido adiposo.

Sin embargo, la actividad específica del G6FD en el tejido adiposo comenzó a recuperar paulatinamente entre el tercer y trigésimo días, sin llegar a la actividad inicial observadas en el arribo a la altura. Esto concuerda con el trabajo de Consolazio (2), quien descubrió que a 4 500 m, una vez aclimatadas las personas tienen apetito normal y consumen alimentos normalmente. Pero la pérdida de grasa corporal, aparte de que es debida al bajo consumo de calorías a consecuencia de la anorexia, puede ser debida también a otros factores, tales como la malabsorción de carbohidratos (6,22); lo cual podría explicar por qué la actividad de la G6FD no se recupera totalmente.

Si se tiene en cuenta que la adaptación a la altura, bajo las condiciones experimentales del presente trabajo, implica ajustes metabólicos solamente debidos a la hipoxia y no al frío; el probable menor "recambio" de los ácidos grasos podría explicarse como un mecanismo de adaptación al estrés de la hipoxia. Esta moderada disminución, sin em-

bargo contrasta con los marcados incrementos encontrados en trabajos realizados en procesos hipóxicos crónicos con exposición al frío (19).

### TEJIDO HEPÁTICO

Los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales del presente trabajo revelan que, la actividad específica de la G6FD en el tejido hepático se elevó significativamente en el grupo "Viaje a Morococha" ( $p < 0.001$ ) con respecto al grupo "Viaje en Lima" y el grupo "Control". Del mismo modo, observamos mayor actividad específica de la G6FD en el tejido hepático de los animales llevados a la altura que en los del nivel del mar ( $p < 0.001$ ). Además, la actividad específica de la G6FD en el tejido hepático se mantuvo sin variación desde la llegada hasta los 15 días en la altura, distinguiéndose un ligero aumento en el día 30 con respecto al valor inicial de arribo ( $p < 0.001$ ).

La actividad específica de la G6FD en el tejido hepático aumentada por efecto del viaje con ascenso hacia una altitud de 4 540 m no ha sido reportada por una investigación similar. Sin embargo, este resultado se explica porque durante el ascenso a la altura hay estimulación de la corteza adrenal por la ACTH, que origina la secreción de cortisol (8,16,17,20,21); como se sabe, la liberación del cortisol es uno de los medios más importantes de la gluconeogénesis, interviniendo de manera directa en muchas reacciones de las vías glucolítica y de las pentosas fosfato (11), principalmente la primera reacción catalizada por la G6FD como respuesta integrada al estímulo hormonal externo en el tejido hepático (12). La acción esteroidogénica de la ACTH sobre las células adrenales se debe al estímulo de las actividades de la fosforilasa y 11  $\beta$ -hidroxilasa, aumentando la glucólisis y provocando a su vez un incremento en los sistemas enzimáticos que producen NADPH, por ejemplo G6FD (11).

De otro lado, la mayor actividad específica de la G6FD en el tejido hepático de los animales llevados a la altura con respecto a los del grupo "Control", y que no sufrió variación significativa durante el tiempo de permanencia en altura, hasta los 30 días en relación con el valor de arribo, concuerda con los resultados obtenidos por Lee Frank (7), quien halló que la exposición a la hipoxia produjo elevaciones significativas en la actividad de G6FD del pulmón y del tejido hepático de rata, en comparación con ratas control; afirmando que la producción del anión superóxido ( $O_2^-$ ) y del  $H_2O_2$  aumentan bajo condiciones hipóxicas. Como se sabe, la expresión de la G6FD en los hepatocitos está modulada por los radicales libres durante el estrés oxidativo aumentando la actividad de G6FD (5).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOYER, S. J. And BLUME, F. D. Weight loss and changes in body composition at high altitude. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exercise Physiol.*, 57: 1380 – 1385. 1984.
2. CONSOLAZIO, C.F.; MATOUSH, LL. O. Protein and water balances of young adults during prolonged exposure to high altitude (4300m). *Am. J. Clin. Nutr.*, 21, 134 – 161. 1968.
3. CONSOLAZIO, C.F., JOHNSON, H.L. Metabolic Aspects of acute altitud exposure (4300) in adequately nourished humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 25:23-29. 1972.



4. BUTTERFIELD, G.E., GATES, J., Increased energy intake minimizes weight loss in men at high altitude. *J. Appl. Physiol.* 72: 1741-48. 1992.
5. CRAMER, C.T.; COOKE, S.; GINSBERG, L. C.; Upregulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in response to hepatocellular oxidate stress: studies with diquat. *J. Biochem. Toxicol.* 10: 293-298. 1995.
6. DINMORE, A. J., EDWARDS, J.S.A., and TRAVIS, S.P.L. Intestinal carbohydrate absorption and permeability at high altitude (5 350m). *J. Appl. Physiol.*, 76: 1903 – 1907. 1994.
7. FRANK, L. Protection from O<sub>2</sub> toxicity by preexposure to hypoxia: lung antioxidant enzyme role. *J. Appl. Physiol.: Respirat Environ. Exercise Physiol.*, 53:475-482. 1982.
8. FRAYSER, R.; RENNIE, I.D.; GRAY, G. W.; and HOUSTON, C. S. Hormonal and electrolyte response to exposure to 17 5400 ft. *J. Appl. Physiol.*, 38: 636-642. 1975.
9. FRISANCHO, A. R. Adquisición de la Adaptación Fisiológica a la Altura. *Acta Andina* 1: 17 – 20. 1992.
10. GUYTON, A. C. Tratado de Fisiología Médica 7ª Edición. Nueva Editorial Interamericana. Graw-Hill Inc. México D.F. pp 415-420, 1989.
11. HERRERA, E. "Elementos de Bioquímica". 1ª Edición. Nueva Editorial Interamericana. Graw-Hill Inc. México D.F. pp 417: 417, 1993
12. KLETZIEN, R. F.; HARRIS, P. K.; FOELLM L.A. Glucose-6-phosphate dehydrogenase: a housekeeping enzyme subject to tissue-specific regulation by hormones, nutrients, and oxidant stress. *FASEB J.* 8: 174-181. 1994.
13. KOMBERG, A.; HORECKER B. L.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase. In: *Methods in Enzymology*. SP Colowicks and N.O. Kaplan., Editors, Vol. 1, Academic Press, New York, p 323, 1995.
14. Krzywicki Harry, Consolazio, F. et al. Body composition changes during exposure to altitude. *Fed. Proc.* 28: 1190-93. 1969.
15. LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; LEWIS FARR, A.; RANDALL, Rose J. Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-75. 1951
16. MacKINNON, P.C.B.; MONK-JONES, M.E.; and FOTHERBY, K. A. study of various indices of adrenocortical activity during 23 days at high altitude. *J. Endocrinol.*, 26:555-556. 1963.
17. MONCLOA, F.; DONAYRE, J.; SOBREVILLA, L.A.; and GUERRA GARCÍA, R. Endocrine studies at high altitude: I. Adrenal cortical function in sea level natives exposed to high altitudes (4 300 m) for two weeks. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 25: 1640-1642. 1965.
18. MONTGOMERY, D.C. "Diseño y Análisis de Experimentos". 3ª Edición. Grupo Editorial Iberoamérica. México D.F., pp 49-72, 1991.
19. OYOLA H., L.; y REYNAFARJE D., Estudio de las variaciones de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en cobayos nativos de altura y del nivel del mar. *Arch. Inst. Biol. And.* 2: 25-30. 1967.
20. RICHLET, J. P.; RUTGERS, V.; BOUCHET, P.; et al. Diurnal variation of acute mountain sickness, colour vision, and cortisol and ACTH at high altitude. *Aviat. Space Environ. Md.*, 60, 105-111. 1989.
21. SUTTON, J. R. Effect of acute hypoxia in the hormonal response to exercise. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exercise Physiol.*, 42: 578-592. 1997.
22. TRAVIS, S.P.L.; A' COURT, C.; MENZIES, I.S.; et al. Intestinal function at altitudes above 5000 m. *Gut.* 34: T165. 1993.
23. WARD, M. P.; MILEDGE, J. S.; WEST, J. B. "High Altitude Medicine and Physiology". Second Edition Published by Chapman & Hall Medical. Second Edition. Cambridge. Great Britain pp 98-172. 1995.
- 23ª WARD, M. P.; MILEDGE, J. S.; WEST, J. B. "High Altitude Medicine and Physiology". Second Edition Published by Chapman & Hall Medical. Second Edition. Cambridge. Great Britain pp 315-317, 1995.
24. ZARDOYA, R.; DIEZ, A.; SERRADILLA, M.G.; MADRID, J.A.; BAUTISTA, J.M.; and GARRIDO-PERTIERRA, A. Lipogenic Activities In Rat Liver are Subjected to Circadian Rhythms. *Rev. Esp. Fisiol.* 50: 239-244. 1994.