

# La exposición aguda a altitud previene el estrés oxidativo por una movilización del $\alpha$ -tocoferol plasmático

Cristina Casals<sup>1</sup>, Silvana N Gomes<sup>2</sup>, Gracia López Contreras<sup>3</sup>, Silvia Rosillo<sup>1</sup>, Jerónimo Aragón Vela<sup>1</sup>, Carlos de Teresa<sup>4</sup>, Jesús R. Huertas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias del Deporte, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada, España.

<sup>2</sup>Departamento de Educação Física, Centro Universitário de João Pessoa, UNIPE, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Educación Física y Deportiva, Facultad de Ciencias del Deporte, Universidad de Granada, España.

<sup>4</sup>Centro de Medicina Deportiva de la Junta de Andalucía, Granada, España.

**Recibido:** 21.11.2012  
**Aceptado:** 18.01.2013

## Resumen

**Introducción:** Existe gran controversia sobre el efecto de la hipoxia en el estatus oxidativo de deportistas; por otra parte, la mayoría de estudios analizan los mecanismos de adaptación tras un periodo de aclimatación y no contemplan el efecto de las exposiciones agudas. Así, nuestro estudio pretende comprobar el efecto del ejercicio y la exposición aguda a una altitud moderada sobre el estrés oxidativo en nadadores.

**Material y método:** Diez nadadores entrenados (5 mujeres, 5 hombres) realizaron dos sesiones idénticas de entrenamiento de 90 minutos, una a 630 m (normoxia) y otra a 2320 m de altitud (hipoxia); ambas se ajustaron para generar valores de lactato ligeramente superiores al umbral anaeróbico. Se extrajeron 5 ml de sangre en reposo y tras el esfuerzo. Las muestras fueron centrifugadas para la obtención de plasma y congeladas a -80°C. Como marcador de peroxidación lipídica se determinaron concentraciones de hidroperóxidos y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Como mecanismo antioxidante no enzimático se cuantificó el  $\alpha$ -tocoferol. Las comparaciones de medias se realizaron con una ANOVA de un factor.

**Resultados:** La exposición a hipoxia produjo un descenso significativo de TBARS (20,78±8,36 nmol/ml, p<0,03) y, tras el esfuerzo, de hidroperóxidos (20,78±8,36 nmol/ml, p<0,03) en hombres. En nadadores de ambos sexos, el  $\alpha$ -tocoferol disminuyó significativamente debido a la hipoxia (hombres: 23,06±4,26 nmol/ml, mujeres: 19,51±4,26 nmol/ml, p<0,001). En normoxia, las mujeres presentaron menor concentración de TBARS (20,54±8,36 nmol/ml, p<0,03) e hidroperóxidos (2,16±0,87 nmol/ml, p<0,03) que los hombres. La sesión de entrenamiento no modificó dichas variables.

**Conclusiones:** En estudios previos demostramos una movilización de antioxidantes no enzimáticos desde plasma a tejidos muscular y hepático en situaciones de estrés oxidativo. Concluimos que una exposición aguda a altitud moderada podría prevenir el estrés oxidativo en nadadores debido a una rápida movilización del  $\alpha$ -tocoferol plasmático.

**Palabras clave:**  
Estrés oxidativo. Hipoxia.  
Natación.

## Acute exposure to moderate altitude prevents oxidative stress by a plasmatic $\alpha$ -tocopherol mobilization

### Summary

**Introduction:** There is a controversy concerning to the modulation of hypoxia-induced oxidative stress; in addition, most studies covered mechanism of adaptation to altitude after an acclimation period, and they did not test the effects of acute exposures to hypoxia. Thus, the aim of the study was to establish oxidative status of trained swimmers analyzing the effects of exercise and acute exposure to moderate altitude.

**Materials and methods:** Ten well-trained swimmers (5 females, 5 males) performed two similar mild-intensity training sessions of 90 minutes, one at an altitude of 630 m (normoxia) and the second of 2320 m (hypoxia). Training sessions were regulated to generate blood lactate values slightly higher than anaerobic threshold. 5 ml of blood samples were collected before and immediately after the exercise. Plasma were obtained by blood-centrifugation, samples were stored at -80°C until analysis. Lipid peroxidation markers were hydroperoxides and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Alpha-tocopherol was analyzed as non-enzymatic antioxidant mechanism. Comparisons between means were performed using one-way ANOVA.

**Results:** Acute exposure to hypoxia produced a significant decrease of TBARS (20.78±8.36 nmol/ml, p<0.03) and, after effort, of hydroperoxides (20.78±8.36 nmol/ml, p<0.03) in men. In swimmers of both sexes, plasmatic  $\alpha$ -tocopherol significantly decreased by hypoxia (men: 23.06±4.26 nmol/ml, women: 19.51±4.26 nmol/ml, p<0.001). In normoxia condition, women presented lower concentrations of TBARS (20.54±8.36 nmol/ml, p<0.03) and hydroperoxides (2.16±0.87 nmol/ml, p<0.03) than men. Mild-intensity training session did not modify oxidative stress in well-trained swimmers.

**Conclusions:** In previous studies we demonstrated a non-enzymatic antioxidant mobilization from plasma to muscular and hepatic tissues as a response to an oxidative stress situation. Therefore, we conclude that acute exposure to moderate altitude could prevent oxidative stress in swimmers by a fast mobilization of plasmatic  $\alpha$ -tocopherol.

**Key words:**  
Oxidative stress. Hypoxia.  
Swimming.

*Este trabajo obtuvo el segundo premio a la mejor comunicación presentada al XIV Congreso de la Federación Española de Medicina del Deporte. Santander 2012.*

**Correspondencia:** Jesús R. Huertas  
E-mail: jhuertas@ugr.es

## Introducción

Parece bien establecido que, cuando sujetos no entrenados se someten a un esfuerzo físico de intensidad elevada se produce un aumento de los marcadores de peroxidación lipídica<sup>1</sup>. Sin embargo, cuando los sujetos están bien entrenados y realizan una prueba de esfuerzo extenuante, aparecen en la bibliografía resultados aparentemente contradictorios. Así los deportistas que realizan un entrenamiento físico continuado parecen prevenir el estrés oxidativo como consecuencia de un aumento de su capacidad antioxidante<sup>2-4</sup>. A pesar de ello, ciertos estudios observan un aumento de las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS)<sup>5,6</sup>, mientras que otros no encuentran diferencias significativas<sup>7</sup> e incluso algunos observan un descenso de los marcadores de peroxidación lipídica<sup>8-10</sup>.

Si parece existir mayor consenso sobre el efecto de la altitud; en esta línea, numerosos estudios defienden que dicha exposición supone un aumento del estrés oxidativo<sup>7,11-16</sup>, pero la mayoría de investigadores analizan los mecanismos de adaptación tras un periodo de aclimatación y no contemplan el efecto de las exposiciones agudas. Además, Pialoux *et al.*<sup>17</sup> observan en doce atletas de élite sometidos a un entrenamiento de resistencia, que la exposición a 4800 m de altitud no produce un aumento de la cantidad de malondialdehído.

Tampoco están claras las diferencias en el estrés oxidativo entre hombres y mujeres; ciertos estudios observan que las mujeres tienen una mejor capacidad antioxidante y una menor producción de ROS, en reposo<sup>18</sup>, tras 50 km de ultramaratón y tras un triatlón de ironman<sup>8,19</sup>. Por el contrario, en un estudio en el que se comparan 133 hombres y 124 mujeres en reposo, no se detectan diferencias significativas en el estatus oxidativo<sup>20</sup>; además Kaikkonen *et al.*<sup>21</sup> tampoco observan diferencias por sexo en la peroxidación lipídica producida por un esfuerzo extenuante.

Debido a esta controversia, consideramos que la regulación y funcionamiento del estrés oxidativo no están claramente establecidos y menos aún en ambientes hipóxicos moderados, por lo que el objetivo del presente estudio pretende analizar el efecto del sexo, del ejercicio y de la exposición aguda a una altitud moderada sobre el estrés oxidativo de nadadores bien entrenados.

## Material y método

### Participantes

En el estudio participaron de forma voluntaria diez nadadores de buen nivel competitivo (5 mujeres y 5 hombres), con  $23 \pm 1,60$  (media  $\pm$  error estándar de la media) años de edad, que llevaban un mínimo de 12 años de práctica competitiva en natación. Todos los participantes estaban sanos y no tomaban ningún suplemento vitamínico o medicación. Se hizo un registro alimenticio de 5 días para comprobar que las dietas eran equilibradas de acuerdo con su nivel de actividad física. Los nadadores fueron informados sobre los posibles riesgos del estudio y dieron su consentimiento por escrito. El protocolo del estudio siguió las normas de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Granada.

### Diseño experimental

Todo el procedimiento se llevó a cabo en dos piscinas cubiertas de 50 metros de longitud, una localizada a 630 m de altitud (instalación

deportiva de la Universidad de Granada, España), y otra a 2.320 m (Centro de Alto Rendimiento Deportivo de Sierra Nevada, Granada, España); correspondiendo con la situación de normoxia e hipoxia moderada respectivamente.

Los nadadores realizaron dos sesiones idénticas de entrenamiento de intensidad media, en normoxia y en hipoxia. Cada sesión de entrenamiento se dividió en tres fases de 30 minutos cada una: calentamiento, parte principal y vuelta a la calma.

Durante la parte principal se registró la frecuencia cardiaca con un pulsómetro Polar (Polar Team 2, Finlandia), la velocidad promedio de nado anotando el tiempo requerido para recorrer cada largo, y el lactato en sangre con el analizador portátil Lactate Pro (KDK Corporation Lactate Pro System, Kyoto, Japón); controlándose así la intensidad de ambas sesiones de entrenamiento. Esta intensidad moderada se estableció tomando la intensidad 3 de Mujika<sup>22</sup>.

Para controlar los posibles efectos de hemoconcentración por el aumento de altitud y/o actividad física, se midió el hematocrito en reposo y tras la sesión de entrenamiento a través de un analizador hematológico automático (K800, Sysmex, Japón).

## Análisis bioquímicos

### Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

Se utilizó el método de Orrenius *et al.*<sup>23</sup>, el cual se basa en la medición espectrofotométrica de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS). Esta técnica se fundamenta en un procedimiento que comprende una etapa de precipitación proteica, durante la cual se incorpora el ácido tiobarbitúrico que produce una reacción directa con la fracción de malondialdehído presente en el plasma. Las lecturas de densidad óptica se realizaron en microplacas a 532 nm de longitud de onda. Los datos se expresan en nmol/ml de plasma mediante una curva patrón realizada previamente al ensayo con ácido tiobarbitúrico.

### Hidroperóxidos

Los valores de peroxidación lipídica se han analizado empleando el kit para la determinación de hidroperóxidos de Sigma (Sigma, San Louis, USA). El método está basado en que  $Fe^{2+}$  pasa a  $Fe^{3+}$  en pH ácido. El Xylenol orange es un colorante sensible a la oxidación del  $Fe^{2+}$ , así la coloración naranjada determina la cantidad de hidroperóxidos. Las lecturas de densidad óptica se realizaron en microplacas a 560 nm de longitud de onda. Los datos se expresan en nmol/ml de plasma mediante una curva patrón con peróxido de hidrógeno.

### Alfa-tocoferol

Basándonos en el método de Kroger y Klingenberg<sup>24</sup>, se extrajo el  $\alpha$ -tocoferol utilizando una mezcla de metanol:éter de petróleo 60:40 (v/v). Las concentraciones plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol fueron determinadas mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en fase reversa, siguiendo el método descrito por MacCreham<sup>25</sup>, utilizando una columna Spherisorb S5 ODS I (Merck, Alemania) y etanol:agua bidestilada a 97:3 (v/v) como fase móvil. El instrumento utilizado fue un Beckman Gold System, con un detector Diode array 168 (Fullerton, USA) y un horno de columna (Beckman), conectado a un inyector automático

Waters (Milford, USA) 717 plus Autosampler. Los datos se expresan en nmol/ml de plasma mediante una curva patrón a partir de estándares puros de  $\alpha$ -tocoferol.

### Análisis estadístico

Se comprobó la normalidad de la distribución de los datos a través del test de Shapiro-Wilk, y la homogeneidad de varianzas con el test de Levene. Las comparaciones entre grupos por altitud, sexo y ejercicio se realizaron a través de una ANOVA de un factor, con comparaciones *post hoc* utilizando el test de Bonferroni. Para este análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS 18.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, USA); los resultados se consideraron estadísticamente significativos para  $p < 0,05$ . Los resultados se muestran como la media  $\pm$  el error estándar de la media.

## Resultados

En el grupo de hombres en la situación de reposo, los TBARS descendieron significativamente ( $20,78 \pm 8,36$  nmol/ml;  $p < 0,03$ ) con la exposición a hipoxia; mientras que los hidroperóxidos disminuyeron sin que llegue a darse significación estadística ( $1,85 \pm 1,01$  nmol/ml). Tras la sesión de entrenamiento, debido a la situación hipóxica la concentración de hidroperóxidos descendió significativamente  $2,27 \pm 0,93$  nmol/ml ( $p < 0,03$ ) y la de TBARS disminuyó  $14,13 \pm 8,36$  nmol/ml en el grupo de nadadores varones.

En normoxia apreciamos diferencias significativas debidas al sexo, donde los hombres mostraron mayor cantidad de marcadores de peroxidación lipídica en reposo ( $20,54 \pm 8,36$  nmol/ml de TBARS,  $p < 0,03$ , y  $2,16 \pm 0,87$  nmol/ml de hidroperóxidos en plasma,  $p < 0,03$ ) (Figura 1).

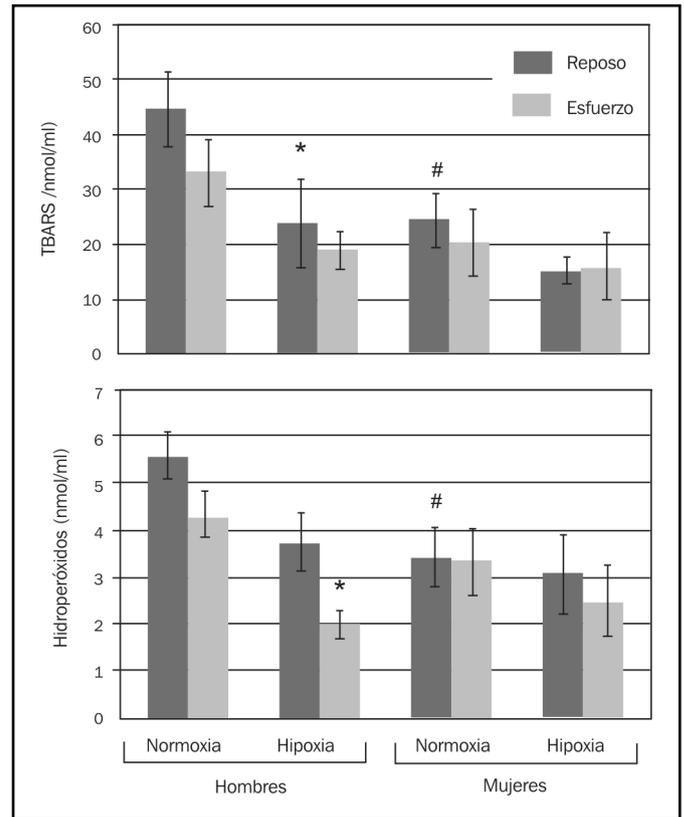
La exposición aguda a una altitud moderada produjo un descenso en la cantidad de  $\alpha$ -tocoferol en plasma. En los hombres descendió significativamente  $23,06 \pm 4,26$  nmol/ml en reposo ( $p < 0,001$ ) y  $25,87 \pm 4,26$  nmol/ml tras el esfuerzo ( $p < 0,001$ ); mientras que en el grupo de mujeres, descendió  $7,80 \pm 4,26$  nmol/ml en reposo y  $19,51 \pm 4,26$  nmol/ml tras el esfuerzo siendo éste último estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ). En cuanto a las diferencias por sexo, en la situación de reposo a 2.320 m de altitud, las mujeres tuvieron  $9,58 \pm 4,26$  nmol/ml de  $\alpha$ -tocoferol en plasma más que los hombres ( $p < 0,05$ ) (Figura 2).

La sesión de entrenamiento no modificó el estrés oxidativo en este grupo de nadadores bien entrenados. Las características de los sujetos participantes del estudio se muestran en la Tabla 1, y los resultados de los indicadores de intensidad de la sesión de entrenamiento en la Tabla 2.

## Discusión y conclusiones

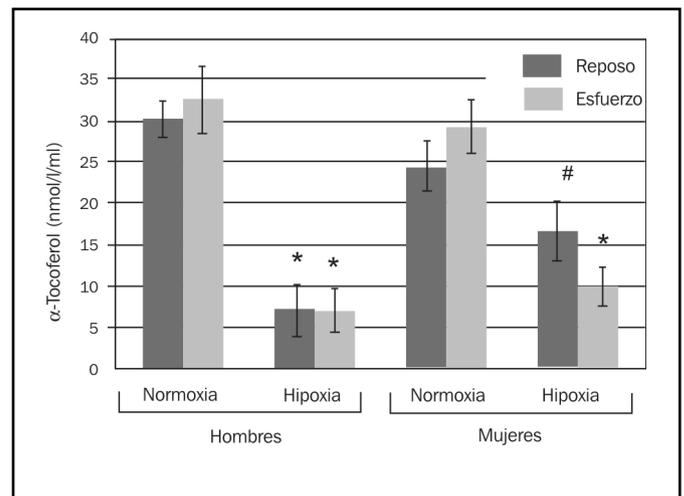
La sesión de entrenamiento no produjo diferencias relevantes en el estatus oxidativo de los nadadores bien entrenados; lo que podría atribuirse a apropiadas adaptaciones de su sistema de defensa antioxidante<sup>2-4</sup>, a que la intensidad de la sesión de entrenamiento fue media y sobre todo a la larga duración de la misma (90 minutos). En un estudio reciente, Kabasakalis *et al.*<sup>26</sup>, investigaron en nadadores los efectos de una ultramaratón (15 km) y tampoco observaron incrementos ni en la concentración plasmática de TBARS ni en la capacidad antioxidante plasmática total, y concluyeron que la baja intensidad y la larga duración no están asociados con el daño oxidativo.

**Figura 1. Valores medios  $\pm$  error estándar de la media de las concentraciones plasmáticas de TBARS e hidroperóxidos.**



\*Indica diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre hipoxia vs normoxia; # entre mujeres vs hombres.

**Figura 2. Valores medios  $\pm$  error estándar de la media de la concentración plasmática de  $\alpha$ -tocoferol.**



\*Indica diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre hipoxia vs normoxia; # entre mujeres vs hombres.

Sin embargo, nuestros resultados muestran un descenso de los marcadores de peroxidación lipídica debido a la exposición aguda a una altitud moderada (2.320 m) de los nadadores, aunque de forma significativa sólo en varones. Como se ha comentado previamente, varios estudios muestran resultados discrepantes<sup>7,11-16</sup> que podrían atribuirse a diferencias en el tiempo de exposición (prolongado o intermitente frente a una única exposición aguda) o a la altitud que, en nuestro diseño, es inferior al de la mayoría de estudios.

No obstante, nuestros resultados parecen estar en contra de la hipótesis propuesta por Clanton<sup>27</sup>, según la cual el aumento de formación de ROS tendría una distribución bimodal en función de la presión parcial de oxígeno intracelular, generada tanto en hipoxia como en hiperoxia. También podría ocurrir que sí exista un incremento de ROS en nuestros nadadores, pero que por nuestras condiciones experimentales (90 minutos de entrenamiento de intensidad media), los mecanismos de defensa podrían operar sin que aparezcan incrementos concomitantes de los marcadores de peroxidación lipídica.

**Tabla 1. Características físicas de los sujetos participantes en el estudio. EEM: error estándar de la media.**

Parámetro	Hombres		Mujeres	
	Media	EEM	Media	EEM
Edad (años)	21,00	± 2,12	24,00	± 1,78
Peso (kg)	60,60	± 1,99	73,20	± 5,17
Estatura (cm)	165,80	± 1,62	176,00	± 3,44
Masa grasa (%)	13,94	± 0,46	10,82	± 0,52
"n"	5		5	

Por otra parte, el descenso de los marcadores de estrés oxidativo de origen lipídico debido a la hipoxia fue acompañado de un fuerte descenso del  $\alpha$ -tocoferol. Este descenso de antioxidantes no enzimáticos ha sido asociado a un aumento del estrés oxidativo<sup>28</sup> y parece operar como mecanismo de defensa, movilizándolo desde plasma hacia las membranas de los tejidos activos por la actividad física<sup>29,30</sup>, más concretamente movilizándolo  $\alpha$ -tocoferol<sup>31</sup> y coenzima-Q<sub>10</sub><sup>32</sup> hacia membranas mitocondriales.

Nuestros resultados parecen indicar que la exposición aguda a altitud moderada induciría un rápido mecanismo de defensa, consistente en la movilización de  $\alpha$ -tocoferol desde el pool plasmático hacia las membranas celulares. No obstante, habría que dilucidar en próximas investigaciones cuáles serían los mecanismos inductores en respuesta a la hipoxia y por cuánto tiempo persistirían. Por otro lado, nuestros datos reflejan que en normoxia, las mujeres generan menor cantidad de peroxidación lipídica que los hombres, pero estas diferencias parecen atenuarse en la altitud moderada. Así, las mujeres parecen tener una mejor capacidad antioxidante que los hombres, pero una peor activación por la hipoxia del mecanismo de movilización de los antioxidantes del plasma a los tejidos. Pocos estudios analizan las diferencias en el estrés oxidativo en función del sexo en una situación hipóxica, por lo que resultan necesarias futuras investigaciones al respecto.

## Agradecimientos

Agradecemos la colaboración del Centro de Alto Rendimiento Deportivo de Sierra Nevada y de los Servicios Deportivos de la Universidad de Granada.

**Tabla 2. Indicadores de intensidad del esfuerzo en reposo y tras la sesión de entrenamiento. EEM: error estándar de la media.**

Parámetro	Condición		Hombres		Mujeres	
			Media	EEM	Media	EEM
Velocidad de nado (m/s)	Normoxia	Reposo	-	-	-	-
		Esfuerzo	1,31	± 0,05	1,16	± 0,02
	Hipoxia	Reposo	-	-	-	-
		Esfuerzo	1,30	± 0,06	1,16	± 0,02
Frecuencia cardiaca (ppm)	Normoxia	Reposo	74,00	± 6,50	76,00	± 4,50
		Esfuerzo	168,56	± 3,20	172,03	± 1,83
	Hipoxia	Reposo	71,83	± 4,75	66,60	± 3,93
		Esfuerzo	166,94	± 5,83	171,22	± 2,89
Lactato (mmol/l)	Normoxia	Reposo	1,70	± 0,09	1,48	± 0,12
		Esfuerzo	5,33	± 0,62	5,38	± 0,69
	Hipoxia	Reposo	1,68	± 0,22	1,32	± 0,12
		Esfuerzo	8,70	± 1,30	8,64	± 1,06
Hematocrito (%)	Normoxia	Reposo	50,00	± 0,77	40,33	± 1,76
		Esfuerzo	49,67	± 0,88	40,17	± 1,47
	Hipoxia	Reposo	48,83	± 0,83	41,50	± 1,43
		Esfuerzo	50,17	± 0,40	42,20	± 1,28
"n"			5		5	

## Bibliografía

- Balci SS, Okudan N, Pepe H, Gökbel H, Revan S, Kurtoglu F, et al. Changes in lipid peroxidation and antioxidant capacity during walking and running of the same and different intensities. *J Strength Cond Res.* 2010;24:2545-50.
- Miranda-Vilela AL, Alves PCZ, Akimoto AK, Pereira LC, Nazaré KGM, Grisolia CK. The effect of hydrogen peroxide-induced oxidative stress on leukocytes depends on age and physical training in healthy human subjects carrying the same genotypes of antioxidant enzymes' gene polymorphisms. *Am J Hum Biol.* 2010;22:807-12.
- Miyazaki H, Oh-Ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2001;84:1-6.
- Falone S, Mirabilio A, Pennelli A, Cacchio M, Di Baldassarre A, Gallina S, et al. Differential impact of acute bout of exercise on redox- and oxidative damage-related profiles between untrained subjects and amateur runners. *Physiol Res.* 2010;59:953-61.
- Branth S, Hambraeus L, Piehl-Aulin K, Essén-Gustavsson B, Akerfeldt T, Olsson R, et al. Metabolic stress-like condition can be induced by prolonged strenuous exercise in athletes. *Ups J Med Sci.* 2009;114:12-25.
- Sahlin K, Shabalina IG, Mattsson M, Bakkman L, Fernström M, Rozhdestvenskaya Z, et al. Ultraendurance exercise increases the production of reactive oxygen species in isolated mitochondria from human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2010;108:780-7.
- Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, Rock E, Mazur A, Dufour S, et al. Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60:1345-54.
- Ginsburg GS, O'Toole M, Rimm E, Douglas PS, Rifai N. Gender differences in exercise-induced changes in sex hormone levels and lipid peroxidation in athletes participating in the Hawaii Ironman triathlon. *Clin Chim Acta.* 2001;305:131-9.
- Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Belló-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Can J Appl Physiol.* 2005;30:723-34.
- Grossard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, Chevanne M, Vincent S, Sergent O, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2003;89:14-20.
- Huang HH, Han CL, Yan HC, Kao WY, Tsai CD, Yen DH, et al. Oxidative stress and erythropoietin response in altitude exposure. *Clin Invest Med.* 2008;31:380-5.
- Heinicke I, Boehler A, Rechsteimer T, Bogdanova A, Jelkmann W, Hofer M, et al. Moderate altitude but not additional endurance training increases markers of oxidative stress in exhaled breath condensate. *Eur J Appl Physiol.* 2009;106:599-604.
- Vani R, Reddy CS, Devi SA. Oxidative stress in erythrocytes: a study on the effect of antioxidant mixtures during intermittent exposures to high altitude. *Int J Biometeorol.* 2010;54:553-62.
- Pialoux V, Mounier R, Brown AD, Steinback CD, Rawling JM, Poulin MJ. Relationship between oxidative stress and HIF-1 alpha mRNA during sustained hypoxia in humans. *Free Radic Biol Med.* 2009;46:321-6.
- Taylor L, Midgley AW, Chrismas B, Madden LA, Vince RV, McNaughton LR. The effect of acute hypoxia on heat shock protein 72 expression and oxidative stress in vivo. *Eur J Appl Physiol.* 2010;109:849-55.
- Pialoux V, Hanly PJ, Foster GE, Brugniaux JV, Beaudin AE, Hartmann SE, et al. Effects of exposure to intermittent hypoxia on oxidative stress and acute hypoxic ventilator response in humans. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180:1002-9.
- Pialoux V, Mounier R, Rock E, Mazur A, Schmitt L, Richalet JP, et al. Effects of the 'live high-train low' method on prooxidant/antioxidant balance on elite athletes. *Eur J Clin Nutr.* 2009;63:756-62.
- Ilhan N, Kamanli A, Ozmerdivenli R, Ilhan N. Variable effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration. *Arch Med Res.* 2004;35:294-300.
- Mastaloudis A, Yu TW, O'Donnell RP, Frei B, Dashwood RH, Traber MG. Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay. *Free Radic Biol Med.* 2004;36:966-75.
- Ozbay B, Dülger H. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: relation to age, gender, exercise, and smoking. *Tohoku J Exp Med.* 2002;197:119-24.
- Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Tuomainen TP, Nyssönen K, Kosonen L, Ristonmaa U, et al. Exhaustive exercise increases plasma/serum total oxidation resistance in moderately trained men and women, whereas their VLDL + LDL lipoprotein fraction is more susceptible to oxidation. *Scand J Clin Lab Invest.* 2002;62:599-607.
- Mujika I, Chatard JC, Busso T, Geysant A, Barale F, Lacoche L. Effects of training on performance in competitive swimming. *Can J Appl Physiol.* 1995;20:395-406.
- Orrenius S, Moldeus P, Theor H. *Microsomes and drugs oxidation.* Ed: Ulrich V, Roots I, Hilderbrandt A, et al. Nueva York: Editors. Pergamon Press; 1977.
- Kröger A. Determination of contents and redox state of ubiquinone and menaquinone. *Methods Enzymol.* 1978;53:579-91.
- MacCreham MA. Determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in serum by liquid chromatography. *Methods Enzymol.* 1990;189:172-81.
- Kabasakalis A, Kyparos A, Tsalis G, Loupos D, Pavlidou A, Kouretas D. Blood oxidative stress markers after ultramarathon swimming. *J Strength Cond Res.* 2011;25:805-11.
- Clanton TL. Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2007;102:2379-88.
- Quiles JL, Huertas JR, Mañas M, Battino M, Ochoa J, Mataix J. Plasma antioxidants are strongly affected by iron-induced lipid peroxidation in rats subjected to physical exercise and different dietary fats. *Biol Factors.* 1998;8:119-27.
- Quiles JL, Huertas JR, Mañas M, Ochoa JJ, Battino M, Mataix J. Oxidative stress induced by exercise and dietary fat modulates the coenzyme Q and vitamin A balance between plasma and mitochondria. *Int J Vitam Nutr Res.* 1999;69:243-9.
- Breganó JW, Dichi JB, Barbosa DS, El Kadri MZ, Matsuo T, Rodrigues MA, et al. Decreased total antioxidant capacity in plasma, but not tissue, in experimental colitis. *Dig Dis Sci.* 2009;54:751-7.
- Mataix J, Quiles JL, Huertas JR, Battino M, Mañas M. Tissue specific interactions of exercise, dietary fatty acids, and vitamin E in lipid peroxidation. *Free Rad Biol Med.* 1998;24:511-21.
- Revan S, Balci SS, Pepe H, Kurtoglu F, Erol AE, Akkus H. Short duration exhaustive running exercise does not modify lipid hydroperoxide, glutathione peroxidase and catalase. *J Sports Med Phys Fitness.* 2010;50:235-40.