

Efectos hormonales y hematológicos en una marcha invernal de baja altitud en militares chilenos

Claudio Nieto-Jiménez¹, Jorge Cajigal Vargas², Elena Pardos Mainer³, José Naranjo Orellana⁴

¹Ejército de Chile. Chile. ²Universidad Mayor. Santiago. Chile. ³Universidad San Jorge. Villanueva de Gállego. Zaragoza. ⁴Universidad Pablo de Olavide. Sevilla.

Recibido: 11.06.2018

Aceptado: 17.10.2018

Resumen

Introducción: Las exposiciones intermitentes a gran altitud tienen efectos agudos sobre algunos marcadores biológicos, como la testosterona, pero no así en baja altitud. Dado que el entrenamiento de soldados debería ir asociado a tareas militares específicas, adquiere gran importancia valorar los cambios fisiológicos que puedan producirse en determinadas circunstancias (como la altitud) pero durante la realización de actividades propias de las unidades militares.

Objetivo: Identificar los cambios hematológicos y en las hormonas Testosterona Libre (TL), Testosterona Total (TT) y Cortisol en una marcha nocturna a baja altitud en soldados de operaciones en montaña.

Metodología: 32 Militares masculinos ($26,3 \pm 4,50$ años, $75,1 \pm 7,6$ kg) realizaron una marcha invernal nocturna con equipo y un desnivel entre los 902 y 1648 m. Se obtuvieron muestras de sangre antes y después de la marcha y se midió TL, TT, cortisol y hemograma: hematíes (Hmt), hemoglobina (Hb), hematocrito (Htto) y volumen corpuscular medio (VCM).

Resultados: Se produjo un descenso significativo de los valores de TL y TT sin cambios en el cortisol plasmático. También se observó un descenso en las cifras de Hmt, Hb, Htto y VCM.

Conclusión: Una marcha invernal con equipo de combate, en baja altitud y con un desnivel de 746 m, produce un descenso significativo de los valores plasmáticos de Testosterona (libre y total) en soldados de una unidad de operaciones en montaña. No se observan cambios en los valores de cortisol. Se detecta una reducción significativa de hematíes, hemoglobina, hematocrito y VCM que podrían deberse a un efecto de hemodilución.

Palabras clave:

Cortisol. Testosterona. Tropas de montaña. Marcha.

Hormonal and hematological effects in a low-altitude winter march in Chilean military

Summary

Introduction: Intermittent exposures at high altitude have acute effects on some biological markers, such as testosterone, but not at low altitude. Since the training of soldiers should carry out specific military activities, is very important to assess physiological changes that can occur in particular circumstances (such as altitude) but during the performance of the activities of the military units.

Objective: To identify the hematological changes and the hormones Free Testosterone (TL), Total Testosterone (TT) and Cortisol during a nocturnal march at low altitude in soldiers of mountain operations.

Methodology: 32 male military (26.3 ± 4.50 years, 75.1 ± 7.6 kg) performed a nocturnal winter march with equipment between 902 and 1648 m of altitude. Blood samples were obtained before and after the march, and TL, TT, cortisol and blood count were measured: red blood cells (Hmt), hemoglobin (Hb), hematocrit (Htto) and mean corpuscular volume (MCV).

Results: There was a significant decrease in TL and TT values without changes in plasmatic cortisol. A reduction in the values of Hmt, Hb, Htto and VCM has also been observed.

Conclusion: A winter march with combat equipment, at low altitude and with a unevenness of 746 m, produces a significant decrease in the plasma values of Testosterone (free and total) in soldiers of mountain operations. No changes in cortisol values are observed. A significant reduction of red blood cells, hemoglobin, hematocrit and MCV is detected, which could be due to a hemodilution effect.

Key words:

Cortisol. Testosterone. Mountain troops. March.

Fondos asignados al programa de investigación para el combate de la División Doctrina, del Comando de Educación y Doctrina del Ejército de Chile. Año 2016.

Correspondencia: Claudio Nieto Jiménez

E-mail: c.nieto@udd.cl

Introducción

En el Ejército de Chile las tropas de montaña deben estar integradas por personal con un alto grado de especialización y preparación que le permitan desarrollar respuestas rápidas y eficaces en diferentes escenarios bajo determinados agentes estresores.

Uno de los agentes estresores más comunes en el entorno de las operaciones en montaña del Ejército de Chile es la fatiga ocasionada por la marcha en condiciones similares a las de combate en cuanto a equipo y circunstancias climatológicas adversas. Pero a veces, a este elemento se le suma su realización en condiciones de altitud con las influencias que ésta tiene en el rendimiento físico de los sujetos¹. El hecho de que en tropas de montaña estos dos factores a menudo aparezcan combinados hace que sea difícil diferenciar la influencia de cada uno de ellos.

En 2010 una revisión retrospectiva del Ejército de Estados Unidos² puso de manifiesto una enorme reducción de las lesiones causadas por frío desde la guerra de Corea (6.300 lesiones) hasta las operaciones en Afganistán (sólo 19), atribuyendo este cambio al mejor conocimiento de las circunstancias y a las mejoras en el equipamiento de los combatientes.

Por otra parte, el entrenamiento para la altitud clásicamente tiene lugar mediante largas estancias de aclimatación. Sin embargo, dado que las operaciones militares a realizar en estos entornos suelen contar con escaso tiempo de preparación, sería interesante conocer de qué forma puede ser más eficiente esta preparación. En 2014 una revisión de la literatura realizada por el Ejército Británico³ analiza la bibliografía deportiva respecto a este problema para tratar de sacar conclusiones aplicables al entrenamiento militar. Dado que en todas estas estrategias es necesario combinar la mejor adaptación fisiológica en el menor tiempo posible con los entrenamientos a las intensidades apropiadas, es importante conocer el efecto que ambos factores (altitud e intensidad) tienen sobre variables fisiológicas.

Muza⁴ realizó en 2007 una revisión sobre los efectos de las exposiciones diarias intermitentes a la hipoxia para favorecer la aclimatación, con la finalidad de ver su posible utilidad en el entrenamiento militar y concluyó que se necesitan exposiciones de al menos una hora y media, durante al menos una semana y a altitudes iguales o superiores a 4.000 m. Concluye también en su revisión que el efecto de exposiciones intermitentes a menor altitud no está documentado.

Pero las exposiciones intermitentes a gran altitud tienen efectos agudos sobre algunos marcadores biológicos, como la testosterona⁵. Dado que el entrenamiento de soldados debería ir asociado a tareas militares específicas⁶, adquiere gran importancia valorar los cambios fisiológicos que puedan producirse en determinadas circunstancias (como la altitud) pero durante la realización de actividades propias de las unidades militares.

El problema está en que la bibliografía no aporta estudios en estas circunstancias, y si recurrimos a la bibliografía de entrenamiento deportivo, encontramos información muy dispar en cuanto a los valores sanguíneos de determinadas hormonas debido a las condiciones y protocolos tan diferentes. Así, tras ejercicio en grandes altitudes hay autores que reportan aumentos del cortisol⁷⁻⁹ y otros no encuentran cambios^{10,11}.

Respecto al tiempo de exposición en grandes altitudes, unos autores han observado que mediante ascensos graduales los niveles de cortisol en reposo no cambian¹², mientras que otros reportan que los sujetos expuestos rápidamente a condiciones hipóxicas (ya sea en

una cámara hipobárica o usando vehículo o helicópteros para ascender rápidamente) sí presentan aumentos del cortisol^{9,13,14}.

Una situación parecida se da con la testosterona en altitud. Hay estudios que refieren una disminución de la testosterona en un programa de entrenamiento de escalada de montaña¹⁵ mientras que otros encuentran un aumento de los valores de testosterona en situaciones de exposición aguda a la altura¹⁶.

Pero no solo son importantes los cambios aislados del cortisol o la testosterona ya que hace tiempo que en el campo deportivo el cociente testosterona libre / cortisol se utiliza como indicador de la carga de entrenamiento^{17,18}, siendo un marcador de sobreentrenamiento incluso en militares sometidos a cargas extremas¹⁹. Se trata, por tanto, de una herramienta útil para intervenir en la planificación antes de que se produzcan alteraciones patológicas en los deportistas^{18,20-22}.

Es importante que el estudio de las adaptaciones fisiológicas a la altitud (o a cualquier otra variable) en militares esté asociado a tareas específicas, no existiendo estudios con estas características. Por tanto, el objetivo de este trabajo es analizar los cambios producidos en valores hormonales y de la serie roja en militares de operaciones de montaña del Ejército de Chile durante una marcha invernal nocturna con equipo completo de combate en una situación de baja altitud.

Material y método

Aspectos éticos

La presente investigación fue aprobada por el Comité de Ética en Investigación en Ciencias de la Salud, Hospital Militar de Santiago, respetando las disposiciones de la declaración de Helsinki.

Los militares fueron informados del procedimiento, y aceptaron su participación voluntaria a través de la firma de un consentimiento.

Población de estudio

Treinta y dos militares hombres (edad $26,3 \pm 4,50$ años, peso $75,1 \pm 7,6$ kg) realizaron una marcha invernal nocturna en la localidad de Lonquimay, Chile, con altitud inicial de 902 m y ascendiendo hasta los 1.648 m. Los soldados realizaron la marcha con un equipamiento de 28 kg, y emplearon 5 h 38 min desde el campamento base (902 m) hasta los 1.648 m y regreso por el mismo itinerario. La distancia recorrida fue 24,2 km con una pendiente media del 6,5%, siendo la inclinación máxima del 20,1%. La temperatura ambiental media durante la marcha fue de 2° C.

Todos los sujetos llevaban residiendo 12 semanas en el campamento base situado a 902 m, con anterioridad a la realización de la marcha.

Toma de muestras sanguíneas

Se obtuvieron dos muestras de sangre de cada sujeto a la misma hora, al inicio de la marcha (PRE) y una vez retornados al campamento base (POST) para su posterior análisis. La muestra PRE se obtuvo a las 06:00 en ayunas y durante ese día los sujetos estuvieron en el campamento base realizando planificación en aula sobre la ruta de marcha, sin ningún tipo de actividad física hasta el inicio de marcha, a las 00:00 (media noche). La muestra POST se tomó una vez que los sujetos retornaron al campamento base a las 06:00.

Todas las muestras fueron obtenidas por enfermeros militares de la unidad a través de venopunción en el antebrazo utilizando el sistema Venoject®, siguiendo el procedimiento estipulado del Laboratorio Clínico del Hospital Militar de Santiago. El procesamiento analítico fue a través de la plataforma de automatización total LAB CELL (Siemens) en interfase con los equipos Advia 2120, Advia 1800 y Advia Centauro XP.

Para el hemograma la muestra se almacenó en BD Vacutainer con EDTA y procesó en equipo Advia 2120, mediante citometría de flujo, óptico-láser e impedancia. A los objetos de este estudio se consideró el número de hematíes (Hmt), hemoglobina (Hb), hematocrito (Hcto) y volumen corpuscular medio (VCM).

Para la medición de Cortisol y Testosterona Total (TT): se utilizó BD Vacutainer con gel separador y activador de la coagulación y se procesó en equipo Advia Centauro XP mediante quimioluminiscencia. Para la Testosterona Libre (TL): se utilizó BD Vacutainer con gel separador y activador de la coagulación. Fue procesada en equipo Inmulate 2000 (Siemens) y mediante Radio-Inmuno-Análisis (contador gamma).

Todas las muestras de sangre fueron enviadas al laboratorio clínico del Hospital Militar de Santiago inmediatamente después de su obtención y transportadas por personal de dicho laboratorio conforme a la normativa de transporte y almacenaje de fluidos biológicos.

Se calculó una presión atmosférica inicial de 663 mmHg²³ y se midió la saturación de oxígeno (SaO₂) con un dispositivo portátil (Nonin CMS50D, USA, 2014). El peso se midió con una báscula Tanita (Tanita Ironman BC1500, Japón, 2015) y la temperatura timpánica se tomó antes y después de la marcha utilizando un termómetro infrarrojo. (Boeringher, Alemania, 2015).

Análisis estadístico

Los datos son presentados como media y desviación estándar (DE) y fueron analizados utilizando el Statistical Package for the Social Sciences 15,0 software (SPSS Inc, USA). Para cada análisis se testeó la normalidad de las distribuciones empleando el test de Shapiro-Wilk.

Se calculó el promedio y la desviación estándar para cada medición. Para determinar si existían diferencias significativas entre el pre y post test se aplicó la prueba de t-Student pareada para las variables con distribución normal y el test de Wilcoxon para las variables que no tenían distribución normal. En todos los casos se consideró un nivel de confianza de 95% (valor $p < 0,05$).

Adicionalmente la diferencia entre variables se valoró calculando el tamaño de efecto (TE) a través de la prueba d de Cohen²⁴. Los valores de d se consideraron como: muy pequeño ($d < 0,1$); pequeño ($d = 0,1$ a $0,2$); moderado ($d = 0,21$ a $0,5$); grande ($d = 0,51$ a $0,8$) y muy grande ($d > 0,8$).

Resultados

En la Tabla 1 se muestran los datos de las variables analizadas correspondientes a la muestra PRE y POST, junto con los valores de la d de Cohen y el tamaño del efecto.

Todos los cambios resultan significativos, salvo la SaO₂ y el cortisol.

Discusión

El principal aporte de este estudio es que, tras una marcha invernal con equipo de combate, en baja altitud y con un desnivel de 746 m, los soldados de una unidad de operaciones en montaña presentan un descenso significativo de los valores plasmáticos de TL y TT sin cambios en los valores de cortisol.

Respecto al cortisol, hay descritos cambios por efecto de la altura, pero sólo a altitudes moderadas o altas, y de forma que parece ser que el factor que determina el comportamiento del cortisol en esas altitudes es el proceso de exposición. Cuando la exposición es aguda se ha observado que el cortisol sube^{7,8,9,14} pero si las exposiciones son graduales no se observan cambios en los niveles de cortisol¹¹. Cuando a estas alturas se realiza ejercicio físico tras exposiciones agudas, se observa un descenso del cortisol previamente elevado, tanto en saliva¹²

Tabla 1. Media y la desviación estándar (DE) del peso, SaO₂, temperatura, cortisol (C), testosterona libre (TL) y total (TT), ratio TL/C, hematíes, hemoglobina, hematocrito y volumen corpuscular medio (VCM).

Variable	Pre-test	Post-test	d	TE
Peso (kg)	75,2±7,6	74,1±7,58*	0,15	Pequeño
SaO ₂ (%)	97,4±2,99	97,1±2,7	0,11	Pequeño
Temperatura (°C)	35,5±0,43	35,9±0,36*	1,02	Muy grande
Cortisol (uM/L)	0,75±0,12	0,72±0,17	0,26	Moderado
TL (uM/L)	43,4±11,5	24,7±14,1*	1,84	Muy grande
TT (uM/L)	11,2±3,8	4,94±3,22*	2,31	Muy grande
Cociente TL/C	60,3±19,7	36,4±22,3*	1,44	Muy grande
Hematíes (M/uL)	5,11±0,24	5,05±0,23*	0,26	Moderado
Hemoglobina (g/dL)	15,2±0,73	14,9±0,76*	0,42	Moderado
Hematocrito (%)	45,3±1,9	43,5±1,98*	0,89	Muy grande
VCM (fL)	88,7±2,22	86,4±2,3*	1,01	Muy grande

* $p < 0,05$; TE: tamaño de efecto calculado con la d de Cohen: $d < 0,1$ (TE muy pequeño); $d = 0,1$ a $0,2$ (TE pequeño), $d = 0,21$ a $0,5$ (TE moderado), $d = 0,51$ a $0,8$ (TE grande) y $d > 0,8$ (TE muy grande).

como en sangre¹⁰. A bajas altitudes (como las que forman parte de este estudio) no hay descritos efectos sobre el cortisol.

Por otra parte, la respuesta del cortisol con el ejercicio es muy variable dependiendo de la hora del día, del tipo de ejercicio y de la fatiga acumulada (además de otros factores) por lo que podría aumentar, disminuir o permanecer igual²⁵.

Por tanto, dado que la baja altitud por sí misma no tiene ningún efecto sobre el cortisol, el que en nuestro grupo no haya variado el cortisol indicaría (en términos generales) que la tarea concreta realizada no habría supuesto un estímulo estresor lo suficientemente intenso como para elevar los niveles de cortisol en respuesta al mismo. Sin embargo, esta explicación resulta poco consistente con el esfuerzo que supone a estos soldados, dentro de su adiestramiento, este tipo de ejercicio teniendo en cuenta que la marcha se realiza a una velocidad media considerable para el equipo que se transporta y que tiene lugar durante la noche, a bajas temperaturas y con un desnivel cercano a los 750 m.

Con respecto al descenso encontrado en los valores de testosterona, no está claro en la bibliografía cuál es la respuesta normal en grandes altitudes, si es que existe algún efecto debido directamente a la altitud. La mayoría de los trabajos consultados determinan niveles de testosterona durante entrenamientos en alta montaña¹⁵ o bien el efecto a largo plazo de la exposición a grandes alturas^{4,11,26}. En cualquier caso, no encontramos en la bibliografía ningún efecto atribuible a las altitudes bajas como las de este estudio.

Por otra parte, con respecto al ejercicio físico, un gran número de trabajos publicados emplean valores de testosterona salival con resultados muy dispares, lo que concuerda con el metanálisis de Hayes, et al.²⁷ que encuentra que los efectos son muy dependientes del tipo de ejercicio, el diseño del estudio y el tiempo de muestreo. Otra revisión reciente²⁸ revela que el ejercicio de alta intensidad produce una reducción en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas con el consiguiente descenso de los valores de testosterona, mientras que encuentra que los datos publicados para ejercicios de intensidad moderada son poco consistentes. Con arreglo a esta revisión, nuestros datos serían más coherentes con la carga de trabajo que representa esta tarea y con el nivel de fatiga generado en los sujetos.

El cociente TL/C muestra una marcada disminución con valores similares a los encontrados en deportistas bajo condiciones de altas cargas de trabajo o sobre-entrenamiento^{27,29,30}.

Con respecto a los parámetros de la serie roja, todos ellos (Hmt, Hb, Htto, y VCM) presentaron tras la marcha disminuciones significativas y con un TE moderado para Hmt y Hb y muy grande para Htto y VCM (Tabla 1). En este apartado, los datos existentes también apoyan la idea de que estas altitudes no inducen en sí misma cambios hematológicos. Así, Rietjens³¹ establece tras un seguimiento de 3 años en triatletas de alto nivel, que se necesitan altitudes de al menos 2.000 m para poder atribuir cambios hematológicos a la altitud, siendo frecuentes los trabajos que refieren estos cambios en altitudes superiores^{32,33}. En nuestra opinión, los cambios de la serie roja podrían estar condicionados por un efecto de hemodilución ya descrito también en corredores de maratón³⁴. Por lo que respecta al descenso observado en el VCM, concuerda con lo ya descrito por Sewchand en 1980³⁵ al encontrar que cualquier exposición aguda a altitud producía un descenso del VCM entre el 12 y 14%.

La principal limitación de este estudio se encuentra en el hecho de no poder diferenciar el efecto de la carga de trabajo físico realizada, de los agentes estresores adicionales (como el frío, la falta de sueño o la fatiga acumulada) y del posible efecto del cambio de altitud, si bien este último factor puede razonablemente descartarse en función de la bibliografía. También constituye una limitación no haber controlado la ingesta de líquido durante la marcha, aunque este aspecto queda algo paliado por el hecho de haber controlado el grado de deshidratación a través de la doble pesada.

Conclusiones

Una marcha invernal con equipo de combate, en baja altitud y con un desnivel de 746 m, produce un descenso significativo de los valores plasmáticos de Testosterona (libre y total) en soldados de una unidad de operaciones en montaña.

No se observan cambios en los valores de cortisol.

Se detecta una reducción significativa de hemáties, hemoglobina, hematocrito y VCM que podrían deberse a un efecto de hemodilución.

Agradecimiento

A la División Doctrina, Escuela de Montaña y Hospital militar del Ejército de Chile. Al Mayor Mario Pizani, Daniela Cárdenas, Reinaldo Rosas, Vjera Triantafilo y Cecilia Rojas.

Comité ético de aprobación: Hospital Militar de Santiago N° CEC/23.06.2016/HOSMIL-DIVDOC.

Conflicto de interés

Los autores no declaran conflicto de intereses alguno.

Bibliografía

- Bergeron MF, Bahr R, Bartsch P, Bourdon L, Calbet JA, Carlsen KH, et al. International Olympic Committee consensus statement on thermoregulatory and altitude challenges for high-level athletes. *Br J Sports Med.* 2012;46(11):770-9.
- Hall A, Evans K, Pribyl S. Cold injury in the United States military population: current trends and comparison with past conflicts. *J Surg Educ.* 2010;67(2):61-5.
- Heil KM, Keenan AM. Athletic altitude training protocols and their application in preparation for mountainous operations. *J R Nav Med Ser.* 2014;100(1):65-9.
- Muza SR. Military applications of hypoxic training for high-altitude operations. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(9):1625-31.
- He J, Cui J, Wang R, Gao L, Gao X, Yang L, et al. Exposure to hypoxia at high altitude (5380 m) for 1 year induces reversible effects on semen quality and serum reproductive hormone levels in young male adults. *High Alt Med Biol.* 2015;16(3):216-22.
- Nieto C, Cárcamo M. Entrenamiento y evaluación de la capacidad física militar: revisión de la literatura. *Rev Esp Edu. Fis y Dep.: REEFD.* 2016;41:5:75-86.
- Zaccaria M, Rocco S, Noventa D, Varnier M, Opocher G. Sodium regulating hormones at high altitude: basal and post-exercise levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(2):570-4.
- Barnholt KE, Hoffman AR, Rock PB, Muza SR, Fulco CS, Braun B, et al. Endocrine responses to acute and chronic high-altitude exposure (4,300 meters): modulating effects of caloric restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(6):E1078-88.
- Sutton JR, Viol GW, Gray GW, McFadden M, Keane PM. Renin, aldosterone, electrolyte, and cortisol responses to hypoxic decompression. *J Appl Physiol.* 1977;43(3):421-4.
- McLean CJ, Booth CW, Tattersall T, Few JD. The effect of high altitude on saliva aldosterone and glucocorticoid concentrations. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1989;58(4):341-7.
- Benso A, Broglio F, Aimaretti G, Lucatello B, Lanfranco F, Ghigo E, et al. Endocrine and metabolic responses to extreme altitude and physical exercise in climbers. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(6):733-40.

12. Woods DR, Davison A, Stacey M, Smith C, Hooper T, Neely D, *et al.* The cortisol response to hypobaric hypoxia at rest and post-exercise. *Horm Metab Res.* 2012;44(4):302-5.
13. Larsen JJ, Hansen JM, Olsen NV, Galbo H, Dela F. The effect of altitude hypoxia on glucose homeostasis in men. *J Physiol.* 1997;504 (Pt 1):241-9.
14. Richalet JP, Letournel M, Souberbielle JC. Effects of high-altitude hypoxia on the hormonal response to hypothalamic factors. *Am J Physiol Regul Integ. Comp Physiol.* 2010;299(6):R1685-92.
15. Wang RY, Tsai SC, Chen JJ, Wang PS. The simulation effects of mountain climbing training on selected endocrine responses. *Chin J Physiol.* 2001;44(1):13-8.
16. Gonzales GF. Hemoglobina y testosterona: importancia en la aclimatación y adaptación a la altura. *Rev. Per. de Med. Exp. y Sal. Pú.* 2011;28(1):92-100.
17. Adlercreutz H, Harkonen M, Kuoppasalmi K, Naveri H, Huhtamieni H, Tikkanen H, *et al.* Effect training on plasma anabolic and catabolic steroid hormones and their responses during physical exercise. *Int J Sports Med.* 1986;(7):27-8.
18. Schelling X, Calleja-González J, Terrados N. Variation in testosterone and cortisol with relation to mood state in professional basketball players. *RICYDE. Rev. Int. de Ciencias del Deporte.* 2013;9(34):342-59.
19. Tanskanen M, Kyröläinen H, Uusitalo A, Huovinen J, Nissilä J, Kinnunen H, *et al.* Serum sex hormone-binding globulin and cortisol concentrations are associated with overreaching during strenuous military training. *J Strength Cond Res.* 2011;25(3):787-97.
20. Martínez AC, Seco J, Tur JA, Abecia LC, Orella EE, Biescas AP. Testosterone and Cortisol Changes in Professional Basketball Players Through a Season Competition. *J Strength Cond Res.* 2010;24(4):1102-8.
21. Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Med.* 1995;20(4):251-76.
22. Vervoorn C, Vermulst LJM, Boelens-Quist AM, Koppeschaar HPF, Erich WBM, Thijssen JHH, *et al.* Seasonal changes in performance and free testosterone: cortisol ratio of elite female rowers. *Eur J Appl Physiol.* 1992;64(1):14-21.
23. Hematy Y, Setorki M, Razavi A, and Doudi M. Effect of Altitude on some Blood Factors and its Stability after Leaving the Altitude. *Pak J Biol Sci.* 2014;17(9):1052-7.
24. Cohen, J. Statistical power analysis for behavioral sciences. Hillsdale, NJ: LEA; 1988,p.412-4.
25. Suárez AM, Javierre C, Ventura JL, Garrido E, Barbany JR, Segura R. Interindividual plasma cortisol differences in the response to one hour of aerobic exercise with inserted supramaximal workloads. *Apunts.* 2007;42(153):3-62.
26. Okumura A, Fuse H, Kawachi Y, Mizuno I, Akashi T. Changes in male reproductive function after high altitude mountaineering. *High Alt Med Biol.* 2003;4(3):349-53.
27. Hayes LD, Grace FM, Baker JS, Sculthorpe N. Exercise-induced responses in salivary testosterone, cortisol, and their ratios in men: a meta-analysis. *Sport Med.* 2015;45(5):713-26.
28. Matos B, Howl J, Ferreira R, Fardilha, M. Exploring the effect of exercise training on testicular function. *Eur. Jour. of Appl. Phy.* 2018;1-8.
29. Gonzalez Jurado JA, De Teresa C, Molina E, Guisado R, Naranjo J. Efecto del Phlebodium Decumanum sobre los cambios en niveles plasmáticos de testosterona y cortisol inducidos por el ejercicio en sujetos no entrenados. *Rev. Med. de Chile.* 2009;137:497-503.
30. Di Blasio A, Izzicupo P, Tacconi L, Di Santo S, Leogrande M, Bucci I, *et al.* Acute and delayed effects of high intensity interval resistance training organization on cortisol and testosterone production. *The Jour. Of Sport. Med. And Phy. Fit.* 2016;56:192-9.
31. Rietjens GJM, Kuipers H, Hartgens F, Keizer HA. Red blood cell profile of elite olympic distance triathletes. A three-year follow-up. *Int J Sports Medicine.* 2002;23(6):391-6.
32. Heinicke K, Heinicke I, Schmidt W, Wolfarth B. A three-week traditional altitude training increases hemoglobin mass and red cell volume in elite biathlon athletes. *Int J Sports Med.* 2005;26(5):350-5.
33. Hematy Y, Setorki M, Razavi A, Doudi M. Effect of altitude on some blood factors and its stability after leaving the altitude. *Pak J Biol Sci.* 2014;17(9):1052-7.
34. Traipern N, Gatterer H, Burtscher M. Plasma electrolyte and hematological changes after marathon running in adolescents. *Med. and scie. in spor. and exe.* 2013;45(6):1182-7.
35. Sewchand LS, Lovlin RE, Kinnear G, Rowlands S. Red blood cell count (RCC) and volume (MCV) of three subjects in a hypobaric chamber. *Aviat Space Enviro Med.* 1980; 51(6):577-8.