

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/244502509>

# Antioxidants against oxidative stress induced by hypobaric hypoxia in testis and epididymis.

Article · January 2013

CITATIONS

0

READS

521

2 authors:



Andrea B Zepeda

29 PUBLICATIONS 1,007 CITATIONS

SEE PROFILE



Jorge G Farias

Universidad de La Frontera

151 PUBLICATIONS 2,680 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Study of the Mitochondrial Dynamics in the Spermatozoa of Fish for the Optimization of Reproduction in Chilean Aquaculture [View project](#)



Production of extracellular L-asparaginase: from bioprospecting to the engineering of an antileukemic biopharmaceutical [View project](#)

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

# ANTIOXIDANTES FRENTE A ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO POR HIPOXIA HIPOBÁRICA EN TESTÍCULO Y EPIDÍDIMO.

(Antioxidants against oxidative stress induced by hypobaric hypoxia in testis and epididymis)

Andrea B. Zepeda y Jorge G. Farías

Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química, Ciencias y Administración, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile.  
Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera.

### RESUMEN

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, reactive oxygen species) como los radicales de anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) por largo tiempo han sido reconocidos como derivados no deseables de la generación oxidativa de ATP en la mitocondria. Recientemente, ROS ha sido destacado por actuar como una molécula importante de señalización en una variedad de condiciones fisiológicas y patofisiológicas como un microambiente hipóxico. Para responder adecuadamente a hipoxia, se requiere de una rápida maquinaria de respuesta que puede ser fuertemente controlada entre un amplio rango de baja tensión de oxígeno. Además es necesario mantener el balance entre los sistemas pro-oxidantes y antioxidantes, es así que frente a un estado prolongado de hipoxia se perdería este equilibrio generando un aumento en las ROS, especialmente en órganos tan susceptibles como el testículo y el epidídimo. Por esta razón el objetivo consiste en dar a conocer los efectos de sustancias que presentan actividad antioxidante y que podrían activar los mecanismos moleculares antioxidantes que son deprimidos frente a un estado de hipoxia hipobárica.

**Palabras Claves:** ROS, Melatonina, Ascorbato, Berries.

Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile

### INTRODUCCIÓN

La hipoxia se define como la condición de baja presión de oxígeno o bajo contenido de oxígeno en el medioambiente, organismo o tejido, que puede resultar de una presión de oxígeno atmosférica baja (hipoxia hipobárica), bajo contenido de oxígeno en medioambientes acuáticos, o, en el caso de organismos o tejidos, a la disminución del intercambio del oxígeno molecular ( $O_2$ ) con el medioambiente o a la disminución del suplemento del  $O_2$  por el lecho vascular (Reyes y col., 2012).

Se sabe que la vida celular en la tierra está adaptada a los ambientes hipóxicos desde muchos años antes de que surgieran los organismos dependientes de oxígeno (Wayne, 1985). Los procesos que requieren de oxígeno como aceptor final de electrones han sido seleccionados por la evolución como un mecanismo altamente eficiente

para los procesos oxidativo en las células. Estos procesos inevitablemente producen especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden conducir a la formación de especies reactivas de nitrógeno (NRS). Tanto ROS como NRS pueden modificar las biomoléculas y afectar los lípidos, proteínas, y ácidos nucleicos (D'Autreaux y Toledano, 2007). Las especies reactivas de oxígeno se caracterizan por ser altamente reactivas y por su capacidad oxidativa, genera que junto a los radicales libres produzcan un daño total que afecta los principales componentes celulares y tejidos (Blokhina y col., 2003; Radak y col., 1997). Ha sido reportado el uso de antioxidantes en concentraciones farmacológicas para reducir los efectos de la hipoxia hipobárica intermitente por estrés oxidativo (Vargas y col., 2011, Farias y col., 2010).

**Correspondencia a:** Dr. Jorge G. Farías, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química, Ciencias y Administración, Universidad de La Frontera, Chile. Teléfono: 56-45-325472/592189, Fax: 56-45-325053, Correo Electrónico: [jorge.farias@ufrontera.cl](mailto:jorge.farias@ufrontera.cl)

La melatonina es un antioxidante altamente efectivo, donde su mecanismo de acción consiste en atrapar los radicales e inhibe la producción de óxido nítrico (Gitto y col., 2011; Serel y col., 2004) tal como otros antioxidantes como las vitaminas E y C (Kücükakin y col., 2009). Por esta razón es de gran importancia conocer los aportes entregados por sustancias con propiedades antioxidantes frente al estrés oxidativo producido en testículos y epidídimos bajo una condición de hipoxia hipobárica.

## HIPOXIA

Hipoxia se define como el umbral donde la concentración de oxígeno es limitante para los procesos celulares normales, esto es debido a que el oxígeno es un factor esencial requerido para procesos metabólicos incluyendo la producción de ATP (energía). El inadecuado suplemento de oxígeno, denominado hipoxia, cambiaría el estado metabólico, así bien como también muchas otras funciones importantes en células afectadas (Nilsson, 2006), gatillando una serie de respuestas fisiológicas (Cummins y Taylor, 2005). Se debe tener en cuenta que la atmósfera consiste de 20,9% (normoxia) de oxígeno, pero las células en tejidos normalmente experimentan concentraciones mucho más bajas, típicamente alrededor del 5%. En este aspecto, el 3-5% de oxígeno aún representa un medio ambiente apropiado para las células aunque estén cercanas a un rango hipóxico. En este estado, el oxígeno aún no es limitante para la célula, pero disminuir más los niveles de oxígeno gatillarían las respuestas inducidas por hipoxia (Nilsson, 2006).

La hipoxia es un prototipo considerablemente bien estudiado y un paradigma de respuestas que involucran al organismo en su conjunto y pueden tener consecuencias diferentes en la salud y en la enfermedad (Caramelo y col., 2006). Es así como el nivel de oxígeno es completamente monitoreado por mecanismos intracelulares y constituye un factor complicado en muchos estados de enfermedades modernas, tales como infarto al corazón, cáncer, retinopatía diabética y artritis reumatoide debido a que promueve la formación patológica de vasos sanguíneos (Nilsson, 2006), también existe hipoxia transitoria durante el ejercicio, en sepsis o en tejidos traumatizados e hipoxia crónica en la altura o en zonas tisulares menos oxigenadas, como por ejemplo la médula renal (Caramelo y col., 2006). El principal efecto de la hipoxia en el sistema metabólico consiste en una depresión general del metabolismo, especialmente en las vías de producción del ATP dependiente de  $O_2$  y, adicionalmente, en las vías implicadas en el consumo de ATP (Wu, 2002; Richards, 2009).

Estudios realizados en ratas bajo hipoxia hipobárica crónica (HHC) e hipoxia hipobárica intermitente (HHI) han demostrado que estas condiciones generan cambios en la

morfología testicular, además de pérdida de células espermatogénicas en todos los estados del ciclo espermatogénico (Zepeda y col., 2012b); mientras que la hipoxia intermitente induce una serie de respuestas celulares, moleculares, y patofisiológicas que resultan en adaptación y sobrevivencia o injuria y muerte celular, esto es debido a que conduce a estrés oxidativo e induce peroxidación lipídica, aumento en la producción de proteínas de respuesta al estrés, y apoptosis neuronal (Douglas y col., 2010). La exposición a hipoxia también puede inducir modificaciones en los niveles de especies reactivas de oxígeno en el organismo. Aunque en hipoxia disminuye la actividad de la cadena transportadora de electrones, la cual es la principal fuente de ROS, algunos estudios indican un aumento de estos peligrosos agentes oxidativos (Chandel y col., 2000; Bickler y Buck, 2007).

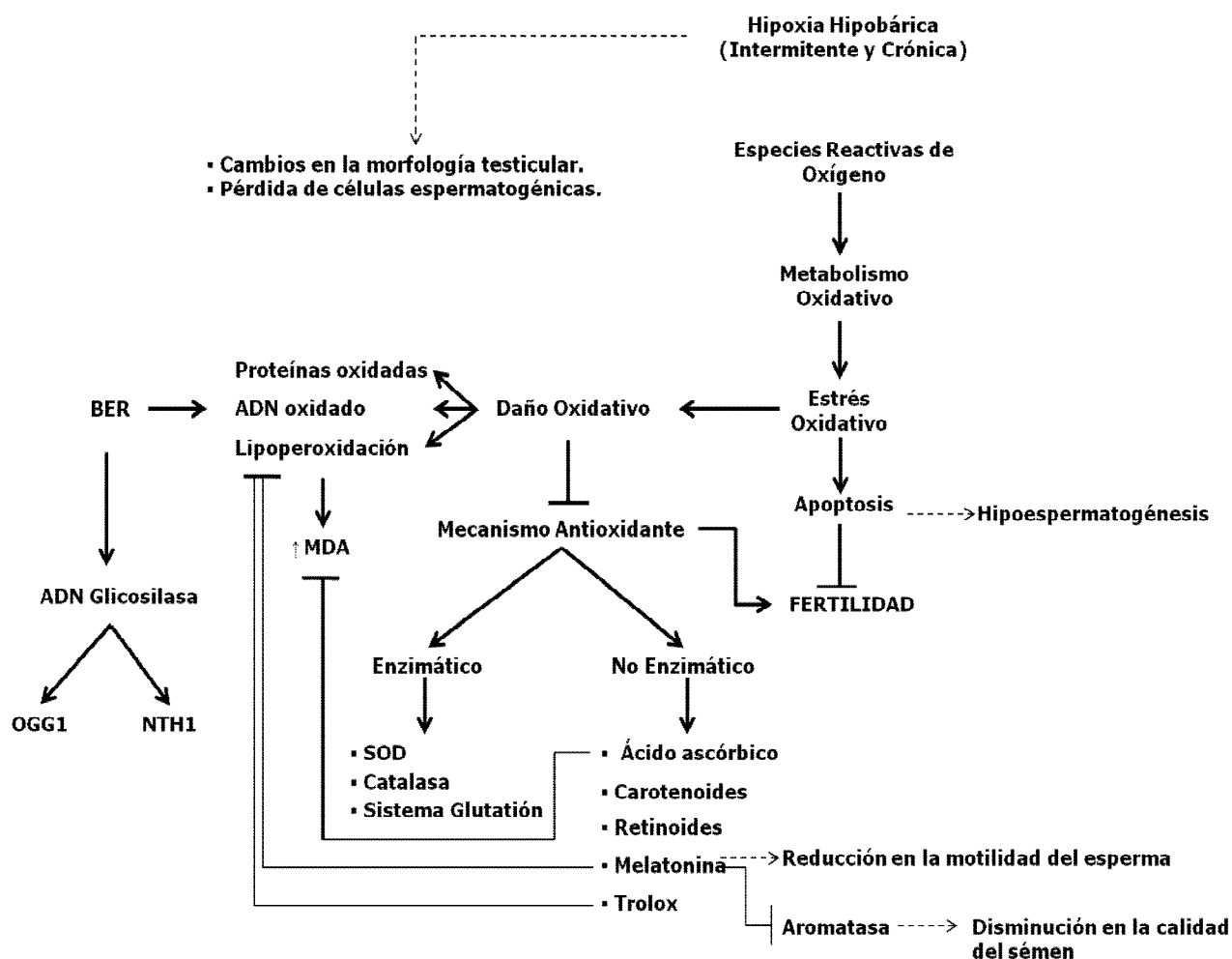
## GENERACIÓN Y SIGNIFICANCIA BIOLÓGICA DE ROS

El estrés oxidativo ha sido definido como un desequilibrio entre fuerzas pro-oxidantes y antioxidantes en el cuerpo. Los pro-oxidantes incluyen radicales de oxígeno o especies reactivas de oxígeno, los cuales pueden ser citotóxicos debido a su capacidad para alterar los componentes celulares y su función (Walsh y col., 2009). Cada átomo de oxígeno contiene dos electrones inapareados en su capa externa. El oxígeno molecular,  $O_2$ , es caracterizado como diradical, una propiedad que dicta que la reducción completa de oxígeno a agua como un evento terminal en la cadena transportadora de electrones requiere de cuatro electrones. La donación secuencial de electrones al oxígeno durante este proceso puede generar ROS como intermediario, y la "fuga de electrones" puede también contribuir a la formación de ROS. La donación de un único electrón al  $O_2$  resulta en la formación del radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ). La donación de un segundo electrón produce peróxido, el cual luego experimenta una protonación para producir peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). La donación de un tercer electrón, como ocurre en la reacción de Fenton ( $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \cdot OH + OH^-$ ), resulta en la producción del altamente reactivo radical hidroxil ( $\cdot OH$ ). Finalmente, la donación de un cuarto electrón produce agua. El oxígeno Singlet ( $^1O_2$ ), una forma reactiva de oxígeno molecular de muy corta vida, en donde los electrones externos son elevados a un estado de energía muy alto, puede ser formado por una variedad de mecanismos, incluyendo la reacción Haber-Weiss ( $H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \rightarrow \cdot OH + OH^- + ^1O_2$ ). Tanto el superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) cumplen un papel modulador importante en la actividad de HIF-1. Este papel se ejerce de dos maneras distintas. En un caso, la enzima NADPH oxidasa ( $O_2 \rightarrow O_2^{\cdot-}$ ) es la responsable de la producción de ROS, que en condiciones de normoxia inducen la degradación de HIF-1 $\alpha$ . Una segunda situación señala que la producción de ROS en la mitocondria (cyt c1

→  $O_2^- \rightarrow H_2O_2$ ) en condiciones de hipoxia induce la estabilización de HIF-1 $\alpha$  (Caramelo y col., 2006), comprobándose a través de la inhibición genética y farmacológica del transporte de electrones impidiendo la formación de ROS, consecuentemente dañando la inducción de HIF por hipoxia, sugiriendo que el ROS producido por la mitocondria altera la forma de la curva de respuesta de las prolin hidrogenasas (PHD). Además el efecto de la oxidación de Fe(II), ROS tal como  $O_2^-$  o  $H_2O_2$  podría positivamente modular la regulación transcripcional de HIF-1 $\alpha$  y aumentar la cantidad de su proteína (Brüne y

Zhou, 2007). Es posible que la hipoxia conduzca a un aumento de ROS desde diferentes fuentes, como NADPH oxidasa, transporte mitocondrial de electrones, xantina oxidasa y eNOS, aún así es necesario identificar las fuentes de  $H_2O_2$  en hipoxia y permitir unir esta fuente directamente con la estabilización de HIF-1 $\alpha$  (Irwin y col., 2009). Los niveles moderados de ROS, especialmente de anión superóxido y peróxido de hidrógeno, han mostrado activar cascadas de señales que median respuestas de distintos factores (Bonello y col., 2007).

Figura 1.



Modelo que estudia el efecto de la exposición a hipoxia hipobárica en epidídimo y testículo. Las líneas punteadas indican cambios celulares; las flechas indican la inducción de las reacciones; y las líneas con barra final indican la inhibición de las reacciones. BER: Reparación por Escisión de Bases; OGG1: 8-oxoguanina-ADN glicosilasa 1; NTH1: endonucleasa 1; MDA: malonaldehído; SOD: superóxido dismutasa (Zepeda y col., 2012b).

Las especies reactivas de oxígeno son generadas como resultado de respiración mitocondrial normal, pero también durante la fase de reperfusión de daño en tejido hipóxico, como la exposición a alturas superiores a los 3.000 msnm, y en asociación con infección e inflamación, generando variadas respuestas fisiológicas (Walsh y col., 2009; Farias et al., 2005a), dentro de las cuales se encuentran las observadas en diversos estudios donde se ha demostrado la existencia de un metabolismo oxidativo en epidídimo de ratas expuestas a hipoxia hipobárica debido al aumento en la expresión de enzimas reguladoras de ROS. Este aumento en la producción de ROS induce un aumento en la apoptosis de células germinales, conduciendo a un estado de hipo-espermatogénesis que podría estar afectando la fertilidad masculina (Zepeda y col., 2012b). También se sabe que ROS participa en la regulación de la proliferación vascular, migración, apoptosis, modificación de la matriz extracelular, y actividad pro-coagulante, además de participar en la angiogénesis a través de la regulación del factor de transcripción HIF-1 $\alpha$  encargado de inducir la transcripción de VEGF (Bonello y col., 2007). De este modo, en presencia de una variedad de moléculas y especies reactivas que son normalmente producidas en sistemas biológicos aeróbicos, se inducen mecanismos endógenos de protección contra la agresión oxidativa, dentro de los cuales se encuentran los mecanismos enzimáticos tales como la dismutasa superóxido, catalasa y el sistema del glutatión, así como mecanismos no enzimáticos, donde se consideran moléculas con propiedades antioxidantes tal como el ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides y retinoides (vitamina A), entre otros (Figura 1) (Zepeda y col., 2012b; Mathews y col., 2004).

## SUSTANCIAS CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Los glóbulos rojos requieren de un sistema antioxidante robusto para enfrentar la gran carga oxidativa encontrada durante el tránsito circulatorio, especialmente durante los procesos de estrés fisiológico (Balagopalakrishna y col., 1996). La limitada disponibilidad de oxígeno molecular genera la producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (ROS y NRS) en los tejidos (Droque, 2002). Es así que una sostenida exposición a hipoxia activaría la cascada de ROS que excede la capacidad antioxidante (Kemp y col., 2008), razón por la cual es importante conocer el beneficio del consumo o tratamiento con sustancias con propiedades antioxidantes. Esto se vuelve más importante al saber que los antioxidantes arrestan los procesos de lipoperoxidación y sus efectos, y previene la oxidación debido a la inactivación de los radicales libres o ROS (Gilgun-Sherki y col., 2002)

## SUPLEMENTACIÓN CON MELATONINA

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es un aminoácido que contiene sulfuro y es indispensable para la síntesis de proteínas en todas las especies animales (Li y col., 2007), y es el principal producto secretado de la glándula pineal en todos los mamíferos, incluyendo humanos; sin embargo, la melatonina también es producida en otros órganos (Okutan y col., 2004).

La capacidad de la melatonina de contrarrestar la formación de ROS es debido a que se caracteriza por ser una sustancia capaz de cruzar las barreras morfológicas y fisiológicas de los tejidos, células y compartimentos sub-celulares debido a sus propiedades físicas y químicas (Costa y col., 1995; Tomás-Zapico y col., 2005). En consecuencia, la también llamada "hormona de la oscuridad" y mensajero del fotoperiodo también es conocida por exhibir una fuerte actividad antioxidante directa e indirecta, dentro de la cual está la captación de ROS directamente, y por otro lado la estimulación de la expresión de genes y la actividad de algunas enzimas que pueden activar antioxidantes enzimáticos (Kücükakin y col., 2009). Esto demuestra que la remoción quirúrgica de la glándula pineal exacerba el daño tisular causado por los radicales libres (Reiter y col., 2001). A pesar de que la melatonina ejerce un efecto protector contra la lipoperoxidación bajo estrés oxidativo, se ha demostrado que induce una marcada reducción de la motilidad espermática (Serel y col., 2004; Oosthuizen y col., 1986), además de no prevenir la reducción en la concentración del espermatozoide bajo una condición de isquemia/reperfusión (Kurcer y col., 2010). El efecto protector de la melatonina sobre el daño oxidativo bajo una condición de HHI es órgano-dependiente y no tiene efecto protector en el daño producido en testículos y epidídimo (Farias y col., 2012).

## TRATAMIENTO CON EXTRACTOS DE BLUEBERRIES

Los berries son una conocida fuente de antioxidantes al contener fitoquímicos, factores no enzimáticos presentes en las plantas que presentan un amplio beneficio para la salud (Giampieri y col., 2012; Bland, 1996). Dentro de las diferentes especies, hay un grupo clasificado como blueberries, los cuales poseen un color oscuro debido a que sus pigmentos de más importancia corresponden a las antiocianinas y polifenoles que presentan actividad antioxidante (Kong y col., 2003). Los fitoquímicos han demostrado ser inhibidores poderosos de lipoperoxidación comparada a otros antioxidantes (Duthie y col., 2006), donde el efecto protector de los polifenoles contra el daño oxidativo parece ser a través del sistema glutatión (Figura 1) (Moskaug y col., 2005). Los extractos de blueberry

presentan un efecto protector contra el estrés oxidativo inducido por hipoxia hipobárica al recuperar la actividad de la glutatión reductasa y de la superóxido dismutasa (Zepeda y col., 2012a).

## TRATAMIENTO CON ASCORBATO

El ácido ascórbico (AA) o vitamina C es un antioxidante no enzimático hidrosoluble capaz de reaccionar con radicales libres en el medio acuoso, ROS y especies reactivas de nitrógeno (NRS), y tiene el potencial de proteger tanto los componentes citosólicos como membranales de células con daño oxidativo (Devi y col., 2007). En estos procesos, el ácido ascórbico es reducido a ácido dehidroascórbico a través de un intermediario llamado radical ascorbil. La deficiencia en ácido ascórbico se caracteriza por un aumento del estrés oxidativo y daño tisular (Barja y col., 1994; Maeda y col., 2000). Cabe destacar que el ácido ascórbico realza la biodisponibilidad del hierro no hemo, conduciendo a un mayor almacenaje del hierro en el cuerpo (Podmore y col., 1998).

Como se ha descrito previamente, la exposición a hipoxia hipobárica induce daño oxidativo, disminuye la actividad de la glutatión reductasa, reducida espermatogénesis acompañada de un aumento en la vascularización y ROS en los testículos. Estos cambios vasculares son inducidos vía ROS a través de la inhibición del dominio de las proteínas proil hidroxilasas (PHD). Esta actividad se ha visto restaurada frente al suplemento con ácido ascórbico lo que ha facilitado la búsqueda de nuevas estrategias para la administración de antioxidantes que prevengan los efectos generados por HH (Farias y col., 2012; Farias y col., 2010). De este modo es que se ha demostrado que ratas tratadas con dosis de 10 mg kg<sup>-1</sup> de peso corporal y que han sido expuestas a HHI, tienen la capacidad de disminuir el estrés oxidativo en testículos y epidídimo, conduciendo a una disminución en la lipoperoxidación y estableciendo un recuento de esperma epididimal a niveles similares de los observados en condición de normoxia, lo cual puede ser explicado en parte por la preservación de la actividad de la glutatión reductasa en estos órganos (Farias y col., 2010).

## CONCLUSIÓN

En esta revisión queda de manifiesto los claros efectos adversos producidos frente a la exposición de hipoxia. Cabe destacar que los efectos observados frente a una condición de hipoxia producida por la presión atmosférica o una condición de hipoxia producida por una enfermedad han demostrado gatillar los mismos daños morfológicos y fisiológicos en testículos y epidídimo, lo que puede afectar directamente la fertilidad masculina.

Por esta razón, es de importancia no sólo tener en conocimiento los mecanismos antioxidantes que rodean la posibilidad de un tratamiento a estos efectos, sino que reconocer las sustancias que contengan en ellos alguna molécula con capacidad antioxidante, de manera de facilitar la incorporación de éstos a través de medicamentos o alimentos que permitan prevenir estos acontecimientos.

## BIBLIOGRAFÍA:

- Balagopalakrishna C., Manoharan P. T., Abugo O. O., Rifkind J. M. (1996) Production of superoxide from hemoglobin-bound oxygen under hypoxic conditions. *Biochemistry*. 35,6393-6398.
- Barja G., Lopez-Torres M., Perez-Campo R., Rojas C., Cadenas S., Prat J., Pamplona R. (1994) Dietary vitamin C decreases endogenous protein oxidative damage, malondialdehyde, and lipid peroxidation and maintains fatty acid unsaturation in the guinea pig liver. *Free Radic. Biol. Med.* 17, 105-115.
- Bickler P. E., Buck L. T. (2007) Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: Life with variable oxygen availability. *Annu. Rev. Physiol.* 69, 145-170.
- Bland J. S. (1996) Phytonutrition, phytotherapy, and phytopharmacology. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2(6), 73-76.
- Bonello S., Zähringer C., BelAiba R. S., Djordjevic T., Hess J., Michiels C., Kietzmann T., Görlach A. (2007) Reactive oxygen species activate the HIF-1alpha promoter via a functional NFkappaB site. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27, 755-761.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K. V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* 91, 179-194.
- Bristow R. G., Hill R. P. (2008) Hypoxia and metabolism: Hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Nat. Rev. Cancer.* 8: 180-192.
- Brüne B., Zhou J. (2007) Nitric oxide and superoxide: interference with hypoxic signaling. *Cardiovasc. Res.* 75, 275-282.
- Caramelo C., Peña J. J., Castilla A., Justo S., De Solís A. J., Neria F., Peñate S., González-Pacheco F. R. (2006) Respuesta a la hipoxia: Un mecanismo sistémico basado en el control de la expresión génica. *Medicina.* 66, 155-164.
- Chandel N. S., McClintock D. S., Feliciano C. E., Wood T. M., Melendez J. A., Rodríguez A. M., Schumacker P. T. (2000) Reactive oxygen species generated at mitochondrial Complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1a during hypoxia. *J. Biol. Chem.* 275, 25130-25138.
- Costa E. J., Lopes R. H., Lamy-Freund M.T. (1995) Permeability of pure lipid bilayers to melatonin. *J. Pineal Res.* 19, 123-126.
- Cummins E. P., Taylor C. T. (2005) Hypoxia-responsive transcription factors. *Pflugers Arch.* 450, 363-371.
- D'Autréaux B., Toledano M. B. (2007) ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 8(10), 813-824.
- Devi S. A., Vani R., Subramanyam M. V., Reddy S. S., Jeevaratnam K. (2007) Intermittent hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in rat erythrocytes: protective effects of vitamin E, vitamin C, and carnitine. *Cell Biochem. Funct.* 25(2), 221-231.
- Douglas R. M., Ryu J., Kanaan A., Del Carmen Rivero M., Dugan L. L., Haddad G. G., Ali S.S. (2010) Neuronal death during combined intermittent hypoxia/hypercapnia is due to mitochondrial dysfunction. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 298, C1594-602.

- Droge W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 82, 47-95.
- Duthie S. J., Jenkinson A. M., Crozier A., Mullen W., Pirie L., Kyle J., Yap L. S., Christen P., Duthie G. G. (2006) The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers, *Eur. J. Nutr.* 45(2), 113-122.
- Farias J. G., Bustos-Obregon E., Orellana R., Bucarey J. L., Quiroz E., Reyes J. (2005a) Effects of chronic hypobaric hypoxia on testis histology and round spermatid oxidative metabolism. *Andrologia.* 37, 47-52.
- Farias J. G., Puebla M., Acevedo A., Tapia P., Gutiérrez E., Zepeda A., Juantok C., Calaf G., Reyes J. (2010) Oxidative Stress in Testis and Epididymis Under Intermittent Hypobaric Hypoxia in Rats: Protective Role of Antioxidant Supplementation. *J. Androl.* 31(3), 314-321.
- Farias J. G., Zepeda A. B., Calaf G. (2012) Melatonin protects heart, lung and kidneys from oxidative stress under intermittent hypobaric hypoxia in rats. *Biol. Res.* 45, 81-85.
- Giampieri F., Tulipani S., Alvarez-Suarez J. M., Quiles J. L., Mezzetti B., Battino M. (2012) The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition.* 28(1), 9-19.
- Gilgun-Sherki Y., Rosenbaum Z., Melamed E., Offen D. (2002) Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacol. Rev.* 54(2), 271-284.
- Gitto E., Aversa S., Reiter R. J., Barberi I., Pellegrin S. (2011) Update on the use of melatonin in pediatrics. *J. Pineal Res.* 50, 21-28.
- Irwin D. C., McCord J. M., Nozik-Grayck E., Beckly G., Foreman B., Sullivan T., White M., Crossno J. Jr., Bailey D., Flores S. C., Majka S., Klemm D., van Patot M.C. (2009) A potential role for reactive oxygen species and the HIF-1 $\alpha$ -VEGF pathway in hypoxia-induced pulmonary vascular leak. *Free Radic. Biol. Med.* 47, 55-61.
- Kemp M., Go Y. M., Jones D. P. (2008) Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: a perspective on redox systems biology. *Free Rad. Biol. Med.* 44, 921-937.
- Kong J. M., Chia L. S., Goh N. K., Chia T. F., Brouillard R. (2003) Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry.* 64(5), 923-933.
- Kücükakin B., Gögenur I., Reiter R. J., Rosenberg J. (2009) Oxidative Stress in Relation to Surgery: Is There a Role for the Antioxidant Melatonin?. *J. Surg. Res.* 152, 338-347.
- Kurcer Z., Hekimoglu A., Aral F., Baba F., Sahna E. (2010) Effect of melatonin on epididymal sperm quality after testicular ischemia/reperfusion in rats. *Fertil. Steril.* 93, 1545-1549.
- Li P., Yin Y. L., Li D., Woo Kim S., Wu G. (2007) Amino acids and immune function. *Br. J. Nutr.* 98, 237-252.
- Maeda N., Hagihara H., Nakata Y., Hiller S., Wilder J., Reddick R. (2000) Aortic wall damage in mice unable to synthesize ascorbic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 841-846.
- Mathews C. K., VanHolde K. E., Ahern K. G. (2004) *Biochemistry.* Pearson Addison Wesley, Spain, p. 1335.
- Moskang J. O., Carlsen H., Myhrstad M. C., Blomhoff R. (2005) Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am. J. Clin. Nutr.* 81(1), 277S-283S.
- Nilsson I. (2006) Hypoxia, PDGF and VEGF in vascular development. Uppsala, Suecia: Universidad Uppsala.
- Okutan H., Savas C., Delibas N. (2004) The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact. CardioVasc. Thorac. Surg.* 3, 519-522.
- Oosthuizen J. M., Bornman M. S., Schulenburg G. W. (1986) Melatonin impairs sperm motility - a novel finding. *S. Afr. Med. J.* 70, 566.
- Podmore I. D., Griffiths H. R., Herbert K. E., Mistry N., Mistry P., Lunec J. (1998) Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature (Lond.)* 392, 559.
- Radak Z., Asano K., Lee K. C., Ohno H., Nakamura A., Nakamoto H., Goto S. (1997) High altitude training increases reactive carbonyl derivatives but not lipid peroxidation in skeletal muscle of rats. *Free Radic. Biol. Med.* 22(6), 1109-1114.
- Reiter R. J., Tan D., Manchester L. C., Qi W. (2001) Biochemical Reactivity of Melatonin with Reactive Oxygen and Nitrogen Species. *Cell Biochem. Biophys.* 34, 237-256.
- Reyes J. G., Farias J. G., Henriquez-Olavarrieta S., Madrid E., Parraga M., Zepeda A. B., Moreno R. D. (2012) The Hypoxic Testicle: Physiology and Pathophysiology. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2012, 929285. doi:10.1155/2012/929285
- Richards J. G. (2009) Metabolic and molecular responses of fish to hypoxia, in: Richards J. G., Farrell A. P., Brauner C. J. (Eds.), *Fish Physiology*, Academic Press, 27, 443-485.
- Serel T. A., Özgüner F., Soyupek S. (2004) Prevention of shock wave-induced renal oxidative stress by melatonin: an experimental study. *Urol. Res.* 32, 69-71.
- Tomás-Zapico C., Coto-Montes A. (2005) A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes. *J. Pineal Res.* 39, 99-104.
- Vargas A., Bustos-Obregón E., Hartley R. (2011) Effects of hypoxia on epididymal sperm parameters and protective role of ibuprofen and melatonin. *Biol. Res.* 44, 161-167.
- Walsh B. K., Brooks T. M., Grenier B. M. (2009) Oxygen therapy in the neonatal care environment. *Respir. Care.* 54(9), 1193-1202.
- Wayne R. (1985) *Chemistry of Atmospheres*, Oxford Science Publication, Clarendon Press, Oxford, UK.
- Wu R. S. S. (2002) Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. *Mar. Pollut. Bull.* 45, 35-45.
- Zepeda A. B., Aguayo L. G., Fuentealba J., Figueroa C., Acevedo A., Salgado P., Calaf G. M., Farias J. (2012a) Blueberry extracts protect testis from hypobaric hypoxia induced oxidative stress in rats. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2012:975870. doi: 10.1155/2012/975870.
- Zepeda A. B., Figueroa C. A., Calaf G. M., Farias J.G. (2012b) Male reproductive system and antioxidants in oxidative stress induced by hypobaric hypoxia. *Andrologia.* doi: 10.1111/and.12039. [Epub ahead of print]