

## MODIFICACIONES HEMATOLÓGICAS INDUCIDAS POR ERITROPOYETINA FRENTE A HIPOXIA NORMOBÁRICA INTERMITENTE

Sanchis-Gomar, F. <sup>1</sup>; Martínez-Bello, V. E. <sup>1</sup>; Martínez-Bello, D. A. <sup>2</sup>;  
Nascimento, A. L. <sup>1</sup>; García-Vallés, R. <sup>1</sup>; Briocche, T. <sup>1</sup>; Ferrando, B. <sup>1</sup>;  
Ibáñez-Sania, S. <sup>1</sup>; Pareja-Galeano, H. <sup>1</sup>; Gómez-Cabrera, M.C. <sup>1</sup>;  
Viña, J.<sup>1</sup>

1. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia
2. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Cooperativa de Colombia

---

### RESUMEN

Publicaciones recientes reflejan la preocupación de las autoridades antidopaje por el uso de sistemas simuladores de altitud y la posibilidad de considerarlos métodos dopantes. El objetivo de nuestro estudio fue el de comparar las modificaciones hematológicas inducidas por dos tratamientos con eritropoyetina recombinante humana (rHuEpo) a diferentes dosis, frente a un protocolo de hipoxia normobárica intermitente (HNI) en un modelo animal.

Veinticuatro ratas Wistar macho jóvenes fueron divididas en 3 grupos experimentales: grupo sometido a HNI (12h pO<sub>2</sub> 12% /12h pO<sub>2</sub> 21%) (n=8); grupo tratado con una dosis de 300 UI de rHuEpo (n=8) y grupo tratado con 500 UI de rHuEpo (n=8). Se extrajeron dos muestras de sangre a cada uno de los grupos experimentales (antes y después de los tratamientos). Nuestros resultados muestran incrementos muy similares, y estadísticamente significativos, en los valores de hemoglobina, de hematocrito y de reticulocitos, tanto en el grupo HNI como en el grupo tratado con 300 UI de rHuEpo tras los 15 días de tratamiento. El tratamiento con 500 UI de rHuEpo produjo un incremento significativamente mayor.

La principal conclusión de nuestro estudio es que las modificaciones de los parámetros hematológicos obtenidas mediante un protocolo de HNI son similares a las obtenidas con un tratamiento con 300 UI de rHuEpo.

**Palabras clave:** Hemoglobina, hematocrito, reticulocitos, dopaje

### ABSTRACT

Recent publications reflect the anti-doping authorities' concern about the use of altitude simulator systems, since these technologies could be considered as doping methods. The major aim of our study was to compare the effect of two different rHuEpo treatments with a normobaric intermittent hypoxic (NIH) protocol regarding the hematologic modifications in an animal model.

Twenty-four young male Wistar rats were randomly divided in 3 experimental groups: NIH group (12h pO<sub>2</sub> 12% /12h pO<sub>2</sub> 21%) (n=8); the group treated with 300 UI of rHuEpo (n=8) and the group treated with 500 UI of rHuEpo (n=8). Two blood samples were obtained in every experimental group (before and after the treatment).

Our results show similar and statistically significant increments in the hemoglobin, hematocrit and reticulocytes values after 15 days of treatment with 300 UI of rHuEpo or NIH. The treatment with 500 UI of rHuEpo induced a higher increase in the hematological parameters.

The main conclusion of our study is that the hematological modifications achieved with a NIH protocol were comparable with those that imply a treatment with 300 UI of rHuEpo.

**Key Words:** Hemoglobin, hematocrit, reticulocytes, doping

---

### Correspondencia:

Fabián Sanchis Gomar  
Departamento de Fisiología  
Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. Blasco Ibáñez, 15. 46010 Valencia  
fabian.sanchis@uv.es

Fecha de recepción: 03/06/2010

Fecha de aceptación: 27/11/2010

## INTRODUCCIÓN

La capacidad de transporte de O<sub>2</sub> en sangre se mantiene por la producción de eritrocitos. Este proceso está regulado por la hormona eritropoyetina (Epo), que estimula la proliferación y la diferenciación de células progenitoras (Lasne and de Ceaurriz 2000). La concentración de hemoglobina es un factor importante que determina el aporte de oxígeno a los tejidos y la capacidad aeróbica. Este efecto se acentúa con una hipoxia moderada (Calbet, Lundby et al. 2006; Robach, Calbet et al. 2008) ya que del gen de la Epo se induce en condiciones de hipoxia (Semenza and Wang 1992). En humanos los aumentos en la concentración de hemoglobina se han relacionado con mejoras en el rendimiento de entre un 5-10% (Birkeland, Stray-Gundersen et al. 2000; Wilber 2002) debido a un aumento de la capacidad de transporte y de utilización del oxígeno (Kanstrup and Ekblom 1984; Ekblom 1996; Ashenden, Hahn et al. 2001). De hecho el dopaje sanguíneo se justifica por la relación que se estableció en 1996 entre los incrementos en los niveles de hemoglobina y el rendimiento físico (Ekblom 1996). El Comité Olímpico Internacional prohibió el uso de eritropoyetina recombinante humana (rHuEpo) en 1990. Su detección es complicada debido a que la síntesis de Epo se produce en el cuerpo de forma natural.

En la actualidad, la Unión Ciclista Internacional (UCI), la Agencia Mundial Antidopaje (AMA) y algunas federaciones deportivas internacionales, utilizan dos métodos para la detección de rHuEpo en atletas. Un método directo basado en su detección en muestras de orina (Lasne and de Ceaurriz 2000) y un método indirecto basado en un modelo estadístico (Parisotto, Gore et al. 2000; Parisotto, Wu et al. 2001; Sharpe, Hopkins et al. 2002; Gore, Parisotto et al. 2003; Parisotto, Ashenden et al. 2003; Sharpe, Ashenden et al. 2006; Gilbert 2010; Sottas, Robinson et al. 2010; Wozny 2010).

Según el artículo 4.3.1.3. del Código Mundial Antidopaje, para que una sustancia o método sea incluida en dicha lista, debe cumplir al menos dos de los siguientes requisitos: 1. Que tenga el potencial de mejorar el rendimiento deportivo; 2. Que plantee un riesgo real o potencial para la salud del deportista; 3. Que vulnere el espíritu del deporte. A su vez, el artículo 4.3.2. estipula que una sustancia o método será igualmente incluido en la lista si se determina su potencial para enmascarar el uso de otras sustancias o métodos prohibidos.

Un método aceptado para incrementar la concentración de hemoglobina y el rendimiento es el entrenamiento en altitud. Durante años, el sometimiento a hipoxia por medio de cámaras hipóxicas normobáricas ha sido utilizado como método para incrementar la producción endógena de Epo con la intención de incrementar el rendimiento físico (Nummela and Rusko 2000; Bonetti, Hopkins et al. 2006; Levine

2006; Neya, Enoki et al. 2007). Este hecho ha generado mucha polémica (Levine and Stray-Gundersen 1997; Wilber 2007) y existe un gran debate acerca de si estos sistemas podrían considerarse como un método de dopaje o simplemente como una ayuda ergogénica (Levine 2006; Sanchis-Gomar, Martínez-Bello et al. 2009; Boning 2010; Ferretti 2010; Hinghofer-Szalkay 2010; Lippi and Franchini 2010; Lippi, Franchini et al. 2010; Sanchis-Gomar, Martínez-Bello et al. 2010). Los beneficios del entrenamiento en altura son conocidos, sin embargo, este tipo de prácticas no están exentas de riesgos o efectos secundarios (Lippi, Franchini et al. 2007; Lippi and Franchini 2010). La hipoxia normobárica puede producir una disminución en la capacidad antioxidante y un incremento en la peroxidación lipídica (Lippi, Franchini et al. 2010). Además, puede afectar a la reología y presión sanguínea, exponiendo a los atletas a un riesgo importante de hemoconcentración y trombosis (Lippi, Franchini et al. 2007; Lippi and Franchini 2010).

El beneficio obtenido por el incremento de la concentración de hemoglobina parece ser similar, independientemente de que éste se produzca por transfusión o por administración de rHuEpo (Buick, Gledhill et al. 1980; Ekblom 1996; Birkeland, Stray-Gundersen et al. 2000). Algunas investigaciones han demostrado un aumento significativo en los niveles de Epo y mejoras en el rendimiento utilizando diversos protocolos de HNI (Laitinen H 1995; Rusko HK 1999; Bonetti, Hopkins et al. 2006). Sin embargo, otros autores, han sido incapaces de reproducir estos resultados (Julian, Gore et al. 2004; Roels, Millet et al. 2005). Por tanto, el efecto de la aplicación de los distintos simuladores de altitud sobre el rendimiento o sobre la estimulación de Epo son muy controvertidos (Wilber 2007; Wilber 2007). El objetivo de este estudio fue determinar si un protocolo de HNI podría inducir una modificación, en diversos parámetros hematológicos, similar a la obtenida con el tratamiento con rHuEpo.

Todos nuestros experimentos se han llevado a cabo en ratas, porque es un modelo animal ampliamente utilizado en estudios de rendimiento y entrenamientos en altura, teniendo características similares a las humanas en relación a la aclimatación a la hipoxia y al entrenamiento (Gonzalez, Clancy et al. 1993; Gonzalez, Perry et al. 1994; Reboul, Tanguy et al. 2005; Sanchis-Gomar, Martínez-Bello et al. 2009).

## MÉTODO

### *Participantes*

Veinticuatro ratas Wistar macho jóvenes (3 meses de edad y ~300g de peso) fueron divididas en 3 grupos experimentales: grupo sometido a HNI (12 h, 9:00-21:00, 21% de O<sub>2</sub>; 12 h, 21:00-9:00, 12% de O<sub>2</sub>). Este porcentaje de O<sub>2</sub> equivale a una altura aproximada de 4100m (n=8); grupo tratado con una dosis de 300 UI de

rHuEpo (n=8) y grupo tratado con 500 UI de rHuEpo (n=8). Los tratamientos con rHuEpo (rHuEpo-alfa; ProSpec-TanyTechnoGene) se realizaron 3 veces a la semana por vía subcutánea. El protocolo de HNI se llevó a cabo mediante una cámara hipóxica «Colorado» (modelo: CAT- 430™ Walk-In Tent). Los tratamientos con rHuEpo, así como el protocolo de HNI, tuvieron una duración de 15 días. Se extrajeron dos muestras de sangre a cada uno de los grupos experimentales, la primera antes de iniciar los tratamientos con rHuEpo y el protocolo de HNI y, la segunda una vez transcurridos los 15 días. Este protocolo de experimentación fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina, de la Universidad de Valencia.

#### *Procedimiento*

La determinación inicial (día 0), se realizó a partir de muestras extraídas de la cola del animal (0,4 ml) que se introdujeron en tubos con EDTA. La sangre fue recogida por la mañana a la misma hora para evitar variaciones diurnas. La determinación final (día 15) se obtuvo por punción venosa durante el sacrificio del animal. Las ratas fueron anestesiadas con 50 mg.kg<sup>-1</sup> de pentobarbital sódico y se sacrificaron utilizando una sobredosis del anestésico. Nuestros animales fueron alimentados con una dieta de roedor (2014 HarlanTeklad Global diet ®). El contenido en hierro fue de 200mg/kg en la dieta.

#### *Determinaciones*

En sangre total: hematocrito, hemoglobina y porcentaje de reticulocitos. Estos parámetros se analizaron a las 3 horas de la extracción de sangre usando el analizador hematológico SYSMEX XT 2000i (Roche Diagnostics).

Análisis sérico: el suero fue almacenado a -20°C. El kit de inmunoensayo para Epo «Quantikine Mouse/Rat» fue usado para medir los niveles de Epo en nuestras muestras.

#### *Análisis estadístico*

Se llevó a cabo un análisis lineal mixto para determinar las diferencias entre el tiempo 0 y el tiempo 15 para cada una de los tres parámetros hematológicos (hemoglobina, hematocrito y reticulocitos). Se generó un modelo inicial de análisis univariable para cada determinación con un modelo posterior de reducción para obtener inferencias y predicciones. El modelo inicial fue reducido con la aplicación de técnicas estadísticas descritas por West et al. (West 2007). El nivel de alfa para determinar diferencia estadísticas fue siempre  $p < 0.05$ . El análisis estadístico fue realizado mediante el «R statistical software» (Team ; 2006).

## RESULTADOS

*Efecto del protocolo de HNI y de dos tratamientos con rHuEpo (Epo300 UI y Epo500 UI) en la concentración de hemoglobina*

En la figura 1 se muestran los perfiles individuales y la media de la concentración de hemoglobina de los distintos grupos experimentales. Los animales mostraron un aumento, en función del tiempo, en la concentración de hemoglobina. En relación a este parámetro, vimos un incremento similar a los 15 días en el grupo Epo300 y en el grupo hipoxia. El grupo Epo500, sin embargo, presenta un mayor incremento en la concentración de hemoglobina cuando se compara con los otros dos tratamientos. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

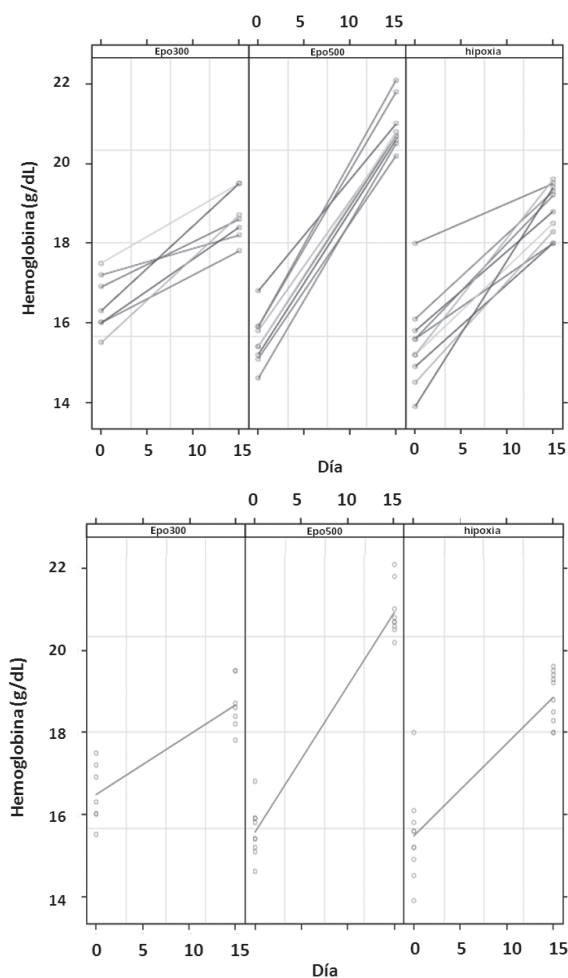


FIGURA 1. Perfiles individuales y media de la concentración de hemoglobina en animales tratados con 300 UI de rHuEpo, 500 UI de rHuEpo o sometidos a HNI durante 15 días

*Efecto del protocolo de HNI y de dos tratamientos con rHuEpo (Epo300 UI y Epo500 UI) en el hematocrito*

En la figura 2, se muestran los perfiles individuales y la media del hematocrito de los distintos grupos experimentales. Los animales mostraron un aumento, en función del tiempo, en el hematocrito. En relación a este parámetro, se observa un incremento a los 15 días en el grupo Epo300 y en el grupo hipoxia, comportándose de manera similar entre ellos. Sin embargo, el grupo Epo500 presenta un mayor incremento en relación a los otros dos grupos, siendo este incremento estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ).

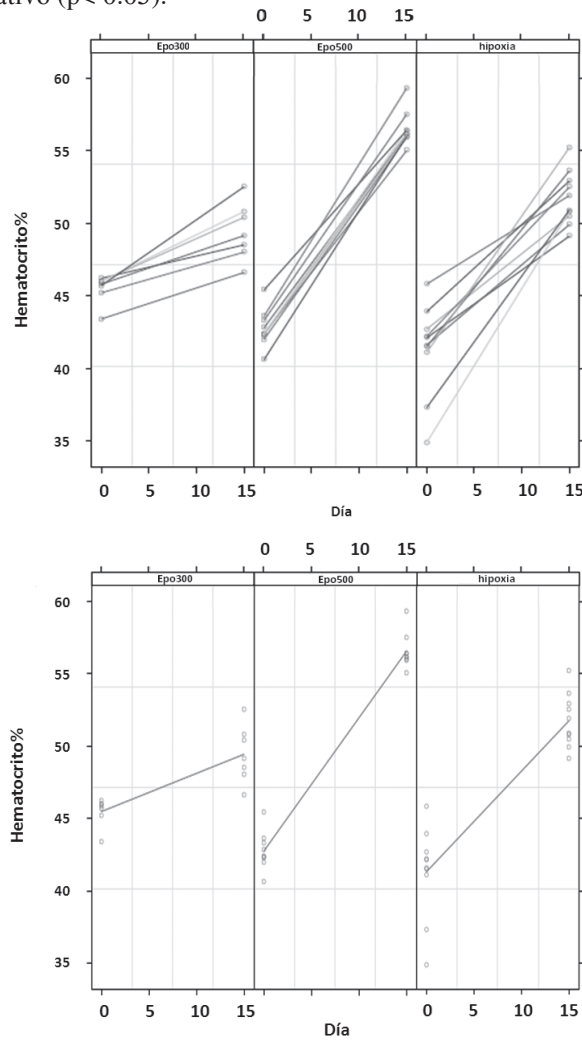


FIGURA 2. Perfiles individuales y media del hematocrito en animales tratados con 300 UI de rHuEpo, 500 UI de rHuEpo o sometidos a HNI durante 15 días

*Efecto del protocolo de HNI y de dos tratamientos con rHuEpo (Epo300 UI y Epo500 UI) en el porcentaje reticulocitos*

En relación al porcentaje de reticulocitos, en la figura 3 se observa un incremento de los reticulocitos en todos los grupos. El grupo hipoxia y el grupo Epo300 se comportan de manera similar entre ellos. En el caso del grupo Epo500, al igual que con el resto de parámetros, el incremento de los reticulocitos fue mayor que en el resto de los grupos ( $p < 0.05$ ).

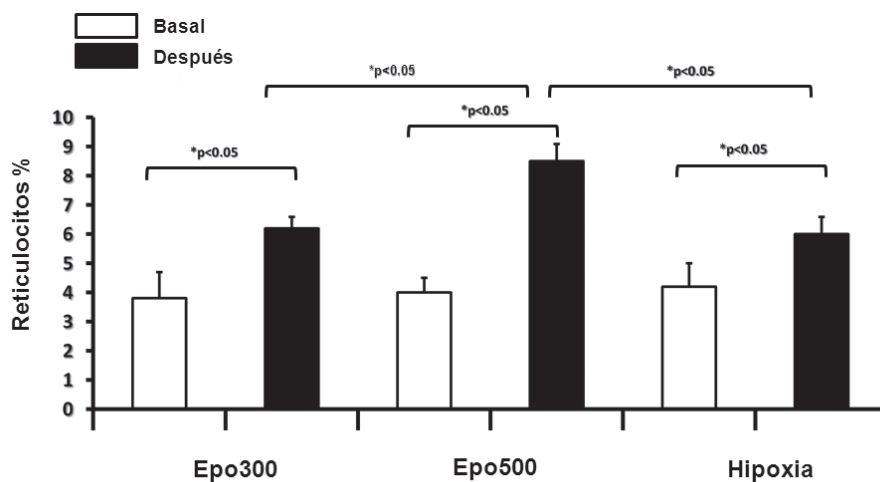


FIGURA 3. Porcentaje de reticulocitos en animales tratados con 300 UI de rHuEpo, 500 UI de rHuEpo o sometidos a HNI durante 15 días.

*Representación de la media de hemoglobina y hematocrito*

En la figura 4, representamos las medias comparadas tanto de la hemoglobina como del hematocrito en los distintos grupos experimentales. La línea azul representa al grupo Epo500, la línea negra al grupo Epo300 y la línea roja corresponde al grupo hipoxia.

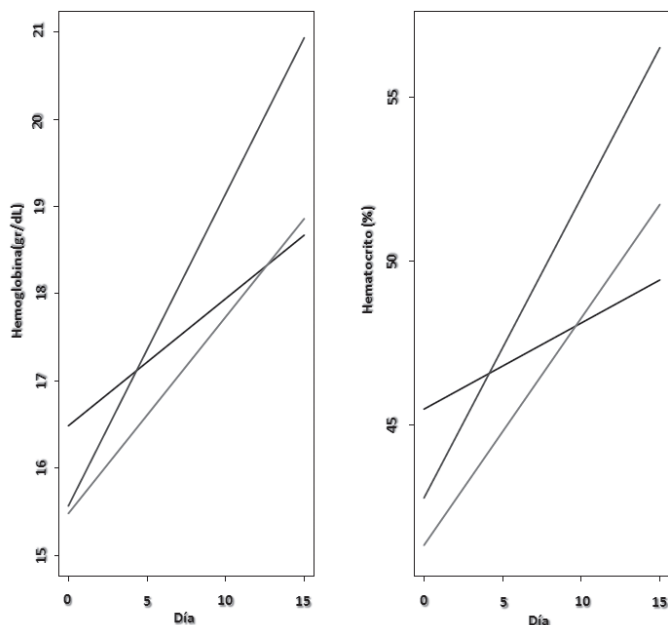


FIGURA 4. Medias comparadas de hemoglobina y hematocrito en los distintos grupos experimentales. La línea azul representa al grupo Epo500, la línea negra al grupo Epo300 y la línea roja corresponde al grupo hipoxia.

#### *Efecto del protocolo de HNI sobre la concentración de eritropoyetina en suero*

En la figura 5, se muestran los valores de las concentraciones de Epo en suero del grupo hipoxia al inicio y tras los 15 días del protocolo de HNI. Al inicio, la concentración de Epo endógena fue de  $18.4 \pm 2.1$  mU/mL. Al finalizar el periodo experimental los niveles de Epo endógena incrementaron hasta alcanzar valores de  $58.2 \pm 17.2$  mU/mL. Estos valores fueron significativamente más elevados que los valores iniciales y demuestran que el protocolo de HNI induce un aumento en la producción endógena de Epo.

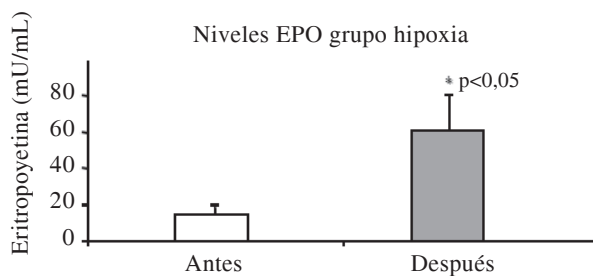


FIGURA 5. Concentraciones de Epo en suero al inicio y tras los 15 días del protocolo de HNI.



## DISCUSIÓN

El uso de cámaras hipóxicas para mejorar el rendimiento ha generado un importante debate acerca de la conveniencia de considerar estos sistemas como métodos de dopaje o simplemente como ayudas ergogénicas (Levine 2006; Malloy, Kell et al. 2007; Sanchis-Gomar, Martínez-Bello et al. 2009; Boning 2010; Ferretti 2010; Hinghofer-Szalkay 2010; Lippi and Franchini 2010; Lippi, Franchini et al. 2010; Sanchis-Gomar, Martínez-Bello et al. 2010).

La exposición a hipoxia se relaciona con un incremento en la concentración de Epo en plasma con el concomitante incremento en los parámetros hematológicos (Abbrecht and Littell 1972; Ou, Chen y cols., 1992). Este efecto está mediado principalmente por la cantidad y frecuencia del estímulo hipóxico, tal y como ha sido observado en roedores y sujetos entrenados (Mylrea and Abbrecht 1970; Abellan, Remacha et al. 2005). Un aumento de la Epo en suero del 62-770% produce un incremento en parámetros hematológicos similar al que se obtiene al exponerse a una altitud de entre 2500 y 8500m (Savourey, Garcia et al. 1994; Savourey, Garcia et al. 1996; Stray-Gundersen, Chapman et al. 2001; Heinicke, Prommer et al. 2003; Savourey, Launay et al. 2004). Existen pruebas sólidas en la literatura que muestran que el método más eficaz para estimular la eritropoyesis y mejorar el rendimiento físico en atletas sobre el nivel del mar (la llamada estrategia «Living High-Training Low») requiere lo siguiente: 2500m de altitud y 22horas al día de exposición durante al menos 28 días. Esto debe ir acompañado de entrenamientos diarios a una altitud de 1250m (Wilber, Stray-Gundersen et al. 2007). Por otra parte, respecto al efecto del tratamiento con rHuEpo, Verbrugge y cols., demostraron en roedores que inyecciones de rHuEpo (600 UI) cada 3 días durante 3 semanas ejercían un efecto importante en el hematocrito (Verbrugge and Goodnough 1994). El marcado incremento en las variables hematológicas después de un tratamiento con rHuEpo también ha sido reportado en humanos (Lundby, Thomsen et al. 2007).

A pesar de los similares efectos hematológicos generados por estos dos métodos, la literatura es escasa en presentar una comparación de los efectos sobre la capacidad de transporte de oxígeno de estas dos alternativas. Nuestros resultados demuestran que la concentración de hemoglobina y el hematocrito de los dos grupos tratados con rHuEpo (300 UI y 500 UI) y del grupo hipoxia se encuentran significativamente aumentados al final del periodo experimental (Figuras 1 y 2). Sin embargo, el incremento en la concentración de hemoglobina es significativamente mayor en el grupo Epo500 cuando se compara con Epo300 e hipoxia. Respecto al hematocrito, al finalizar los tratamientos, los tres grupos mostraron valores significativamente mayores cuando se comparan con sus valores basales. Además, en el caso del grupo Epo500 estos incrementos estuvieron por encima del resto de

grupos experimentales. Respecto al porcentaje de reticulocitos los tres grupos mostraron un aumento significativo en sus valores tras los tratamientos y el protocolo de HNI. Sin embargo, de nuevo en el grupo Epo500 es en el que observamos un incremento mayor (Figura 3). Woo y cols., demostraron que distintas dosis de rHuEpo (10, 100, 450, 1350 y 4050 UI/kg) aumentaban el porcentaje de reticulocitos y la concentración de hemoglobina de forma escalonada (Woo, Krzyzanski et al. 2006; Woo, Krzyzanski et al. 2007). De igual forma, Abbrecht y cols., demostraron que ratones sometidos a distintas concentraciones decrecientes de O<sub>2</sub> generaban una mayor respuesta hematológica a medida que el estímulo hipóxico se hacía más agresivo (Mylrea and Abbrecht 1970). En uno de los pocos estudios acerca de los efectos de un tratamiento con rHuEpo e hipoxia, Carraway y cols., encontraron que roedores sometidos a hipoxia continua durante 14 días aumentaron la concentración de hemoglobina de 14.3±0.2 a 19.7±0.3 (g/dL) mientras que roedores tratados con una dosis de 4000 UI/kg durante tres días consecutivos sólo aumentaron los niveles de hemoglobina de 14.3±0.2 a 17.0±1.4 (g/dL) (Carraway, Suliman et al.). En este caso, el efecto policitémico fue mayor como consecuencia de la hipoxia, seguramente por la intensidad y frecuencia del estímulo (7 días a 5500 m). En nuestro modelo demostramos, en primer lugar que la policitemia es dependiente de la dosis empleada y, en segundo lugar, que una menor dosis de rHuEpo (Epo300) provoca un aumento similar en la hemoglobina al obtenido con el protocolo de HNI.

Recientemente se ha demostrado que la masa de hemoglobina total determina, en parte, el VO<sub>2max</sub> al aumentar la diferencia arterio-venosa de oxígeno. En este estudio se observó que este efecto se puede conseguir bien a través de la adaptación a la altura o bien a través de la manipulación sanguínea. Esta última mimetiza los efectos de la altitud, aunque excediendo su magnitud (Schmidt and Prommer 2010). Las manipulaciones sanguíneas están prohibidas por la AMA, mientras que los protocolos de hipoxia se encuentra bajo revisión (Sanchis-Gomar, Martínez-Bello et al. 2009). En nuestro estudio hemos demostrado que los protocolos de hipoxia tienen unos efectos similares a los tratamientos con rHuEpo (en mayor o menor dosis) o a los que podría tener cualquier otra sustancia análoga prohibida por la AMA como la darbepoietina o el CERA (Continuous Erythropoietic Receptor Activator), entre otros.

La principal conclusión que podemos obtener de nuestro trabajo es que un protocolo de HNI y, la administración de una dosis concreta de rHuEpo, pueden modificar de forma similar los parámetros hematológicos analizados por las autoridades antidopaje.

#### FINANCIACIÓN

El trabajo de los autores ha sido financiado por las ayudas DPS2008-06968 a J.V y ISCIII2006-RED13-027 de la «Red Temática de Investigación Cooperativa

en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF), Instituto de Salud Carlos III» y COST B35 Acción. Martínez-Bello VE es beneficiario de una beca de formación del personal investigador de la Universidad de Valencia, España, dentro del Programa V Siglos - Empresa, y EPICA (Empresa de Productos de Investigación y Ciencias Aplicadas, España).

#### REFERENCIAS

- (2006). «R Development Core Team A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing.» Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.
- Boning, D. (2010). «Hypoxia application in athletes is not doping.» *Eur J Appl Physiol* 108(2): 415.
- Carraway, M. S., H. B. Suliman, et al. «Erythropoietin activates mitochondrial biogenesis and couples red cell mass to mitochondrial mass in the heart.» *Circ Res* 106(11): 1722-1730.
- Ferretti, G. (2010). «Of intermittent hypoxia and doping.» *Eur J Appl Physiol* 108(2): 413-414.
- Gilbert, S. (2010). «The biological passport.» *Hastings Cent Rep* 40(2): 18-19.
- Gore, C. J., R. Parisotto, et al. (2003). «Second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes.» *Haematologica* 88(3): 333-344.
- Hinghofer-Szalkay, H. (2010). «Intermittent hypoxic training: risks versus benefits.» *Eur J Appl Physiol* 108(2): 417.
- Levine, B. D. (2006). «Should «artificial» high altitude environments be considered doping?» *Scand J Med Sci Sports* 16(5): 297-301.
- Lippi, G. and M. Franchini (2010). «Intermittent hypoxic training: doping or what?» *Eur J Appl Physiol* 108(2): 411-412.
- Lippi, G., M. Franchini, et al. (2010). «Normobaric hypoxia and sports: the debate continues.» *Eur J Appl Physiol*.
- Lundby, C., J. J. Thomsen, et al. (2007). «Erythropoietin treatment elevates haemoglobin concentration by increasing red cell volume and depressing plasma volume.» *J Physiol* 578(Pt 1): 309-314.
- Malloy, D. C., R. Kell, et al. (2007). «The spirit of sport, morality, and hypoxic tents: logic and authenticity.» *Appl Physiol Nutr Metab* 32(2): 289-296.
- Parisotto, R., M. J. Ashenden, et al. (2003). «The effect of common hematologic abnormalities on the ability of blood models to detect erythropoietin abuse by athletes.» *Haematologica* 88(8): 931-940.
- Parisotto, R., C. J. Gore, et al. (2000). «A novel method utilising markers of altered erythropoiesis for the detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes.» *Haematologica* 85(6): 564-572.
- Parisotto, R., M. Wu, et al. (2001). «Detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes utilizing markers of altered erythropoiesis.» *Haematologica* 86(2): 128-137.

- Sanchis-Gomar, F., V. E. Martinez-Bello, et al. (2009). «Effect of intermittent hypoxia on hematological parameters after recombinant human erythropoietin administration.» *Eur J Appl Physiol* 107(4): 429-436.
- Sanchis-Gomar, F., V. E. Martinez-Bello, et al. (2010). «It is not hypoxia itself, but how you use it.» *Eur J Appl Physiol* 109(2): 355-356.
- Schmidt, W. and N. Prommer (2010). «Impact of alterations in total hemoglobin mass on VO<sub>2</sub>max.» *Exerc Sport Sci Rev* 38(2): 68-75.
- Sharpe, K., M. J. Ashenden, et al. (2006). «A third generation approach to detect erythropoietin abuse in athletes.» *Haematologica* 91(3): 356-363.
- Sharpe, K., W. Hopkins, et al. (2002). «Development of reference ranges in elite athletes for markers of altered erythropoiesis.» *Haematologica* 87(12): 1248-1257.
- Sottas, P. E., N. Robinson, et al. (2010). «The athlete's biological passport and indirect markers of blood doping.» *Handb Exp Pharmacol*(195): 305-326.
- Team, R. D. C. «A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.» ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.
- Verbrugge, D. J. and L. T. Goodnough (1994). «The effect of recombinant human erythropoietin treatment on the endurance performance of Sprague-Dawley rats.» *Scand J Clin Lab Invest* 54(1): 55-59.
- Woo, S., W. Krzyzanski, et al. (2006). «Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of recombinant human erythropoietin after intravenous and subcutaneous administration in rats.» *J Pharmacol Exp Ther* 319(3): 1297-1306.
- Woo, S., W. Krzyzanski, et al. (2007). «Target-mediated pharmacokinetic and pharmacodynamic model of recombinant human erythropoietin (rHuEPO).» *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 34(6): 849-868.
- Wozny, M. (2010). «The biological passport and doping in athletics.» *Lancet* 376(9735): 79.