

ALGUNOS ASPECTOS DE LA RELACION ADRENO-TESTICULAR EN LA COSTA Y EN LA ALTURA Y EFECTO DEL TRATAMIENTO CON GONADOTROPINA SERICA

RUTH ALIAGA MERINO NACARINO

INTRODUCCION (*)

Los trabajos que han servido para estructurar la presente tesis, se han efectuado en el Laboratorio Cooperativo de Genética y Reproducción del Instituto de Biología Andina y de la Facultad de Medicina Veterinaria, por un equipo conformado por cuatro alumnos: uno de la Facultad de Medicina, otro de la Facultad de Farmacia, y dos de la Facultad de Veterinaria.

Estos trabajos que constituyen un ensayo preliminar, forman parte a su vez, de un plan de investigación más amplio sobre la Biología de altura que está desarrollando el Instituto de Biología Andina. (*)

El objeto de nuestro trabajo es analizar las variaciones orgánicas y funcionales, que en relación a la actividad reproductiva, sufre el organismo animal sometido a hipoxia continua y estudiar, la participación

(*) La realización de estos trabajos ha sido posible gracias a la ayuda económica otorgada por el Dr. Alberto Hurtado de los fondos provenientes de la División de Donaciones del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos.

La autora expresa su agradecimiento al Instituto de Biología Andina por la colaboración prestada; a los Drs. César Merino; Mauricio San Martín, Alberto Cuba, Marcos Copaira y Elmo de la Vega, del Depto. de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria; a Yolanda Prato, Javier Correa y Luis Fernández, a Cecilia Silva y César Castillo, y al Dpto. de Investigaciones de N. V. ORGANON por las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

que en estas variaciones pueden desempeñar el ACTH y las Gonadotropinas.

Por otra parte, dentro de las finalidades del plan que acabamos de bosquejar, está el verificar la hipótesis sobre la posibilidad que la hipertrofia de la corteza adrenal sea la responsable de la esterilidad que se observa en la altura. Esta hipótesis está basada en trabajos previos realizados en el Instituto de Biología Andina y en el Laboratorio Cooperativo de Genética (1—2—3—4—5—6—7—8—9—10) y parcialmente comprobada por los ensayos preliminares, realizados durante el año 1953.

Con este objeto hemos utilizado conejos aparentemente normales, de los cuales, un grupo fue sometido a la acción simultánea de la altura y tratamiento hormonal. Unos con ACTH. y otros con Gonadotropina Sérica. En igual forma, se procedió con otros grupos de animales que permanecieron en Lima para los efectos del control.

Los trabajos en la altura se pudieron realizar gracias a la colaboración del Instituto de Biología Andina que nos dieron facilidades en los laboratorios de Morococha situados a 4,540 metros sobre el nivel del mar.

Con el fin de cumplir los requisitos para optar el grado de Bachiller; el trabajo se ha dividido en cuatro capítulos, correspondiéndome el que se refiere a las variaciones en la excreción de 17-cetoesteroides y variaciones orgánicas de la suprarrenal, bazo y testículo, producidas por la Gonadotropina Sérica.

Confiamos de este modo, que nuestra modesta contribución sirva para el mejor conocimiento de los mecanismos de adaptación a la altura, así como de la influencia de ciertas hormonas que puedan tener sobre éstos, particularmente tratándose de un país como el nuestro, cuyos dos tercios de población viven por encima de los 2500 metros de altura sobre el nivel del mar.

MATERIAL Y METODOS

1.—*MATERIAL.*

A. *ANIMAL DE EXPERIMENTACION.*— En este trabajo se ha estudiado cada animal, desde el punto de vista bioquímico y orgánico.

Se inició en Enero de 1954, adoptándose un plan en dos etapas: una en la costa y otra en la altura, como sigue:

27 conejos machos de 6 a 12 meses de edad, rigurosamente seleccionados y con las condiciones de sanidad pertinentes, fueron distribuidos en tres grupos:

- Primer Grupo.- Testigos (costa y altura) 12 conejos
 Segundo Grupo.- Inyect. (costa + gonadotropina) 9 conejos
 Tercer Grupo.- Inyect. (altura + gonadotropina) 9 conejos

Primer Grupo.— En este grupo se hicieron en orina de 24 horas, dos determinaciones de 17-cetoesteroides por cada animal, con intervalos de dos días entre las determinaciones.

Una vez ejecutado este control, 9 animales fueron llevados a Morococha (4540 metros de altitud); donde el grupo fue subdividido en tres subgrupos de 3 conejos cada uno, a fin de ser sacrificados así:

- PRIMER SUBGRUPO a los 3 días
 SEGUNDO SUBGRUPO a los 12 días
 TERCER SUBGRUPO a los 20 días

Antes de ser sacrificados los animales, se colectó orina de 24 horas y se hizo dosaje de 17-cetoesteroides.

Segundo Grupo.— En este grupo se controló la excreción de 17-cetoesteroides en la misma forma que en el grupo anterior; luego se dividió en tres subgrupos de 3 conejos cada uno y se les inyectó gonadotropina sérica (2 unidades diarias por kilo de peso), en la forma siguiente:

- PRIMER SUBGRUPO durante 3 días
 SEGUNDO SUBGRUPO durante 12 días
 TERCER SUBGRUPO durante 20 días

Una vez terminado el tratamiento, todos los animales fueron sacrificados, previo control de la excreción de 17-cetoesteroides.

En todos los animales sacrificados se pesaron los órganos, utilizándose una balanza de torsión para los de menos de 500 miligramos de peso, y una balanza de aproximación de 0.1 gramo, para los órganos de peso mayor a los 500 miligramos.

B. *Hormonas.*— Se utilizan preparados standard de gonadotropina sérica de origen equino, que fueron proporcionadas por el Departamento de Investigación de N. V. Organon OSS (Holanda).

2. METODOS.

A. *Recolección de Orina.*— Se verificó colocando a los conejos en jaulas metabólicas durante 24 horas, tiempo en cuyo transcurso se les proporcionó el alimento habitual, sin provisión de agua.

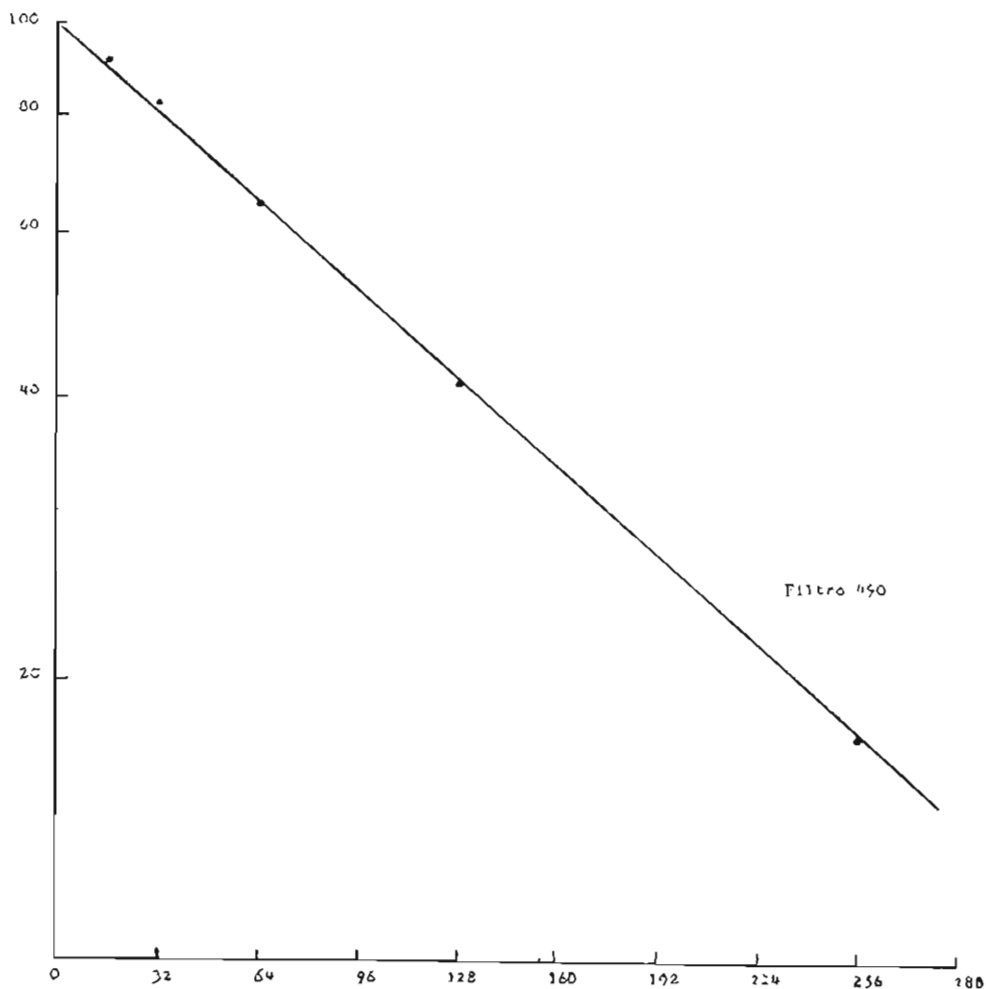
B. *Dosaje de 17-Cetoesteroides.*— Se ha dosificado los 17-cetoesteroides neutros totales, según el método de extracción de Venning (11) y el fotocolorimétrico de Zimmerman modificado por Holtorf y Koch (12).

Hidrólisis.—El volumen total de la orina recolectada, se hidroliza en caliente utilizando HCL. químicamente puro en proporción de 4%, inmediatamente después se procedió a la refrigeración del hidrolizado y a su extracción.

Extracción.—Se realizó con un volumen de benceno fraccionando en tres partes y que en total era igual al 30% del volumen de la orina. El hidrolizado se extrajo con cada una de estas partes, reuniendo luego las tres fracciones bencénicas y descartando la fracción acuosa. Hecho lo cual se procedió, en embudo de decantación, a 7 lavados alcalinos: los 2 primeros con 25 cc. de solución saturada de NaHCO_3 y los restantes con 20 cc. de una solución 2 N. de NaOH . Después de los cuales se hizo un último lavado con 20 cc. de agua destilada, evaporando el benceno al vacío para obtener el extracto de esteroides.

Colorimetría.—(Reacción de Zimmerman modificada por Holtorf y Koch). Se empleó como reactivos, una solución alcohólica al 2% de metadinitrobenceno y una solución acuosa de 2.5 N. de KOH .

En los tubos problema se colocó 0.2 cc. de esteroides disueltos en alcohol absoluto, 0.2 de la solución de KOH y 0.2 cc. de la solución de metadinitrobenceno. Los blancos de reactivos llevaron 0.2 cc de alcohol absoluto en lugar de los esteroides, los tubos se colocaron en baño María a 25 grados y oscuridad por 45 minutos, transcurridos los cuales, se completó el volumen de cada tubo con 50 cc de alcohol de 85%. Inmediatamente después se procedió a la lectura en fotocolorímetro, con un filtro 490 y apertura 10 y recarsinado a una curva de calibración en la que se utilizó isoandrosteroina químicamente pura. (Cuadro 1).



CUADRO I

INTERPRETACION

Si analizamos desde el punto de vista de la reproducción, los resultados que hemos obtenido, se apreciará que los animales sometidos a tratamiento gonodotrópico en la altura, presentan menor alteración testicular que la observada en los animales sobre los cuales sólo actuó el factor altura, hecho que se comprueba tanto por el estudio biológico como por el anatomopatológico.

		EXCRECION URINARIA DE 17 - CETOESTEROIDES (Mgrr. en 24 horas)										
TRATAMIENTO	DIAS DE TRATAMIENTO	DETERMINACIONES										VARIACION PROMEDIO
		ANTES					DESPUES					
		VARIACION		Promedio	VARIACION		Promedio	VARIACION		Promedio		
		Mínima	Máxima		Mínima	Máxima		Mínima	Máxima			
COSTA Y GONADOTROPINA	3	0.300	1.817	0.901	0.476	0.875	0.662	0.476	0.875	0.662	0.662	36.1 %
	12	0.757	1.860	1.146	0.757	1.097	2.778	1.690	1.097	2.778	2.778	154.1 %
	20	0.832	1.793	1.338	0.832	0.805	0.749	0.669	0.805	0.749	0.749	-37.1 %
ALTURA	3	0.476	0.845	0.635	0.476	2.370	1.233	0.460	2.370	1.233	1.233	76.0 %
	12	0.352	1.500	0.882	0.352	2.600	1.506	0.860	2.600	1.506	1.506	128.5 %
	20	0.458	1.832	1.116	0.458	1.300	0.746	0.300	1.300	0.746	0.746	-17.7 %
ALTURA Y GONADOTROPINA	3	0.753	1.810	1.137	0.753	1.076	0.866	0.700	1.076	0.866	0.866	-15.3 %
	12	0.646	1.409	1.032	0.646	2.260	1.626	1.200	2.260	1.626	1.626	84.4 %
	20	0.347	0.608	0.453	0.347	3.300	1.893	0.680	3.300	1.893	1.893	373.3 %

CUADRO 2

TRATAMIENTO	PESO CORPORAL (gr) Y PESO DE ORGÁNOS (mg)	3 DÍAS			12 DÍAS			20 DÍAS		
		VARIACIONES			VARIACIONES			VARIACIONES		
		Mínima	Máxima	Promedio	Mínima	Máxima	Promedio	Mínima	Máxima	Promedio
COSTA Y CONADO- TROPICAL	Peso Vivo	2020.00	2450.00	2190.00	2180.00	2330.00	2210.00	1940.00	200.00	2200.00
	Bazo	200.00	322.00	251.00	201.00	301.00	232.00	180.00	250.00	209.00
	Testículo Derecho	—	—	—	820.00	1224.00	1093.00	704.00	983.00	843.00
	Testículo Izquierdo	—	—	—	640.00	1422.00	1207.00	710.00	1082.00	940.00
	Testículo Total	1531.00	2227.00	2015.00	1030.00	2705.00	2300.00	1418.00	2067.00	1903.00
	Adrenal Derecha	61.90	92.20	74.00	60.10	113.30	91.80	57.20	74.20	65.00
	Adrenal Izquierda	73.80	93.80	81.20	61.70	115.60	96.40	65.40	76.60	70.50
	Adrenal Total	135.70	186.00	155.20	121.80	228.90	188.20	122.60	150.80	135.70
ALTURA	Peso Vivo	2011.00	2200.00	2150.00	2000.00	2250.00	2100.00	1900.00	2250.00	2080.00
	Bazo	—	—	—	270.00	250.00	307.00	107.00	421.00	356.00
	Testículo Derecho	770.00	1128.00	917.00	1000.00	1331.00	1194.00	615.00	1191.00	899.00
	Testículo Izquierdo	877.00	1506.00	1040.00	1045.00	2285.00	1193.00	844.00	1282.00	1107.00
	Testículo Total	1650.00	2634.00	1960.00	2045.00	3616.00	2387.00	1460.00	2477.00	2006.00
	Adrenal Derecha	73.20	74.60	73.60	60.25	61.45	75.46	66.82	70.44	72.40
	Adrenal Izquierda	68.60	83.60	76.10	64.76	157.80	99.61	71.33	95.61	92.12
	Adrenal Total	141.80	158.20	149.70	125.01	219.25	175.07	138.15	172.05	164.52
ALTURA Y CONADO- TROPICAL	Peso Vivo	1600.00	2200.00	1920.00	1930.00	2300.00	2077.00	1900.00	2400.00	2130.00
	Bazo	—	—	—	170.00	363.00	281.00	285.00	441.00	246.60
	Testículo Derecho	1100.00	1237.00	1145.00	1100.00	1304.00	1181.40	894.70	979.00	930.10
	Testículo Izquierdo	1043.00	1201.00	1150.00	1050.00	1304.00	1165.00	857.70	991.00	934.50
	Testículo Total	2143.00	2438.00	2295.00	2150.00	2608.00	2346.40	1752.40	1970.00	1864.60
	Adrenal Derecha	71.80	110.00	86.50	60.37	63.26	75.79	63.75	73.15	79.44
	Adrenal Izquierda	71.20	114.20	92.40	50.26	65.70	78.68	65.80	70.00	57.38
	Adrenal Total	143.00	224.20	178.90	110.63	128.96	154.47	129.55	143.15	136.82

CUADRO 3

Efectivamente se observó que en los animales sometidos sólo a cambios de altura, la concentración absoluta de espermatozoides disminuye notablemente y aumentan las formas patológicas (13). Por otra parte el estudio anatomopatológico de los testículos muestra, como se aprecia en las microfotografías N° 1, 2, 3, que a los tres días de permanencia en la altura ya existen lesiones en la estructura del túbulo seminífero, las cuales se acentúan a medida que avanzan los días de estada en la altura y es así como a los 20 días se observan modificaciones intensas que se caracterizan, por dilatación tubular, restos celulares en la luz de los túbulos y en un caso, atrofia muy marcada

del epitelio germinal. Estas reacciones del epitelio germinal ante cambios de altitud ya habían sido descritas por Monge y Mori Chávez, Walton y Uruski (1,14).

En cambio los animales tratados en la altura con gonadotropina sérica, presentan una estructura testicular mejor conservada y no se observan lesiones tan acentuadas como en el grupo anterior. Estos resultados indican que la gonadotropina sérica ejerce un efecto protector sobre el epitelio germinal, lo cual estaría de acuerdo con lo planteado por Schlechter (15). Además la concentración absoluta de espermatozoides y el porcentaje de formas patológicas mostraron tendencia a sufrir menos variación (13).

Estos mismos animales en los que se observa un epitelio germinal protegido por la gonadotropina sérica y una menor variabilidad en la concentración espermática absoluta, muestran, sin embargo, una tendencia a disminuir la relación peso testicular / peso corporal, lo cual hace sospechar que esta disminución de peso, sea a expensas del tejido intersticial, de manera que el alza de excreción de 17-cetoesteroides, observada en estos animales, no tendría origen testicular, hecho constatado por Schlechter (15). El mecanismo íntimo que produciría esta disminución de peso testicular estaría basado en el tratamiento hormonal, que por un lado, inhibe las funciones gonadotrópicas de la anterchipófisis y del otro que solo protege la función citogenética del testículo. Además, esta función inhibitoria, estaría reforzada por la hipersecreción de hormonas sexoides de la adrenal (16).

Con relación a la función de la corteza adrenal, es interesante anotar que durante el tratamiento gonadotrópico en la altura, se observa un aumento considerable en la excreción de 17-cetoesteroides. Al comparar esta excreción con el peso de la glándula se ve, que en el inicio del tratamiento, el peso glandular aumenta, lo cual indicaría la existencia de una hipertrofia e hiperactividad, posteriormente tiende a disminuir y al finalizar los 20 días de tratamiento, se encuentra una glándula de peso más o menos normal y con signos de hiperactividad, signos que se verifican por el citoplasma espumoso de las células corticales, por la excreción aumentada de 17-cetoesteroides y por la reducción del tejido linfático del bazo que se observa durante todo el tratamiento. Por otra parte el estudio anatomopatológico de la adrenal muestra una estructura glandular mejor conservada que en los animales controles. Microfotografías (5-11).

La hiperfunción de la corteza suprarrenal observada en el tratamiento con gonadotropina podría ser consecuencia de una acción directa sobre la corteza suprarrenal como han observado Zuckerman (18)



Fig. 1.—Testículo (3 días) Moderada cantidad de restos celulares en la luz de los túbulos. Ya se visualiza lesión.

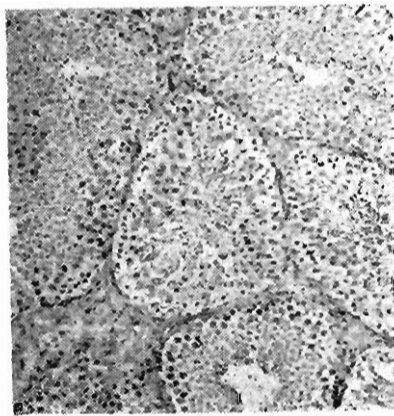


Fig. 2.—Testículo (12 días) Vacuolización de espermatogonias en algunos túbulos; abundantes restos nucleares y focos de necrosis. Llama la atención el gran número de espermatogonias en mitosis.

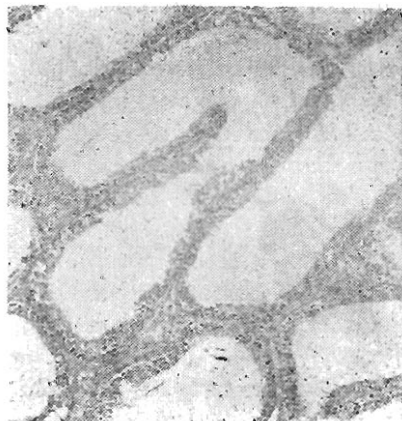


Fig. 3.—Testículo (20 días) Gran número de restos celulares en la luz de los túbulos. En zona, los túbulos muestran una luz dilatada con pocos elementos celulares en la pared; en otras zonas la luz es más estrecha y la pared de aspecto normal. Hay algunas células gigantes multinucleadas situadas en la luz del túbulo.

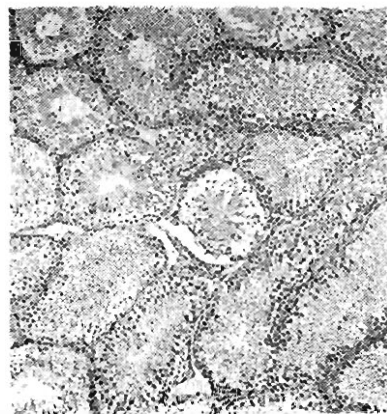


Fig. 4.—Testículo (3 días). Moderada cantidad de restos nucleares y abundantes espermatozoides en la luz de los túbulos.

Los testículos de 12 y 20 días muestran imágenes semejantes a las descritas en la Fig. 4.

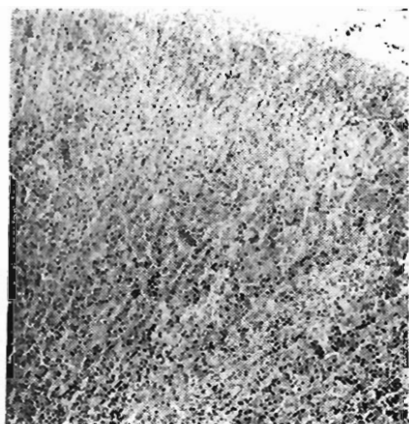


Fig. 5.—Suprarrenal (5 días). Sinusoides dilatados con células pequeñas y otras de aspecto normal.

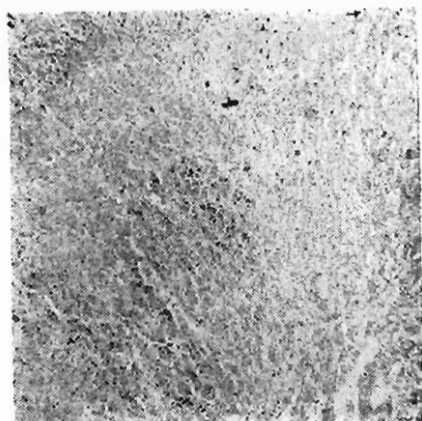


Fig. 6.—Suprarrenal (12 días) Focos hemorrágicos en la zona reticular. Al parecer ligero aumento de la zona glomerular. Se visualizan sinusoides y ligera disminución del aspecto espumoso de las células.

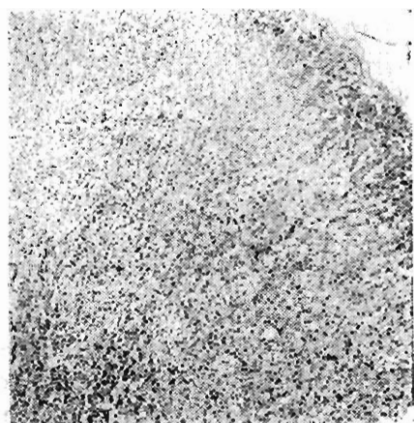


Fig. 7.—Suprarrenal (20 días). Corteza hiperplásico gruesa, células ligeramente compactas.



Fig. 8.—Suprarrenal (3 días). Hipertrofia con hiperplasia, citoplasma claro bien vacuolado.

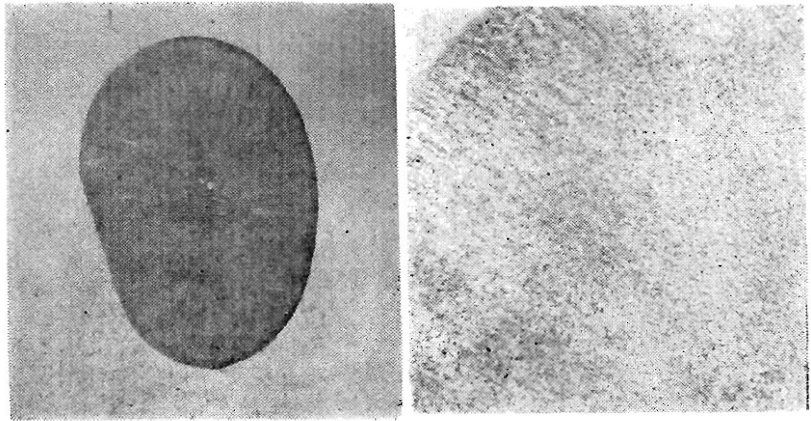


Fig. 9.— Fig. 10.—Suprarrenal(12 días). Zonas de células de citoplasma compacto predominandolas células de cito plasma espumoso. Engrosamiento de la corteza.

y Temple (19). Con relación a los estudios hechos por este último investigador, encontramos aumento del peso de la suprarrenal hasta un cierto período del tratamiento, pero al prolongar éste, el peso glandular disminuye.

En cambio en los animales sometidos scio al cambio de altitud se observa una hipertrofia de la glándula suprarrenal que se asocia a un aumento en la excreción de 17-cetoesteroides, pero después de 20 días de permanencia en la altura, la glándula disminuye de peso y la excreción de 17-cetoesteroides también disminuye. Si se relacionan, estas observaciones con el estudio anatomopatológico, se encuentra una correlación muy estrecha, ya que al final del tratamiento se ven imágenes de agotamiento glandular. Microfotografías (Nº 5, 6, 7)

En la bibliografía de estudios en la altura hemos encontrado algunos trabajos en los que se coincide con ciertos aspectos de nuestras observaciones, como es la hiperactividad cortical, expresada en aumento de excreción de 17-cetoesteroides. (20-25)

También, se podría pensar que la relación gonadotropina sérica-cortesa suprarrenal, fuera consecuencia de un Síndrome General de Adaptación. Sin embargo al comportarse ésta gonadotropina como proteína extraña, no debería mostrar el efecto protector sobre el túbulo seminífero, ya que éste tendría que estar inhibido por las reacciones antígeno anticuerpo que lógicamente se presentarían (26).



Fig. 12.—Suprarrenal (20 días). Hemorragia extensa que bordea la medular comprometiendo la reticular y fascicular. Células de citoplasma compacta, sinusoides dilatados.

Dentro de las anotaciones hechas sobre la adrenal, existe un punto que escapa a toda interpretación y es la alta frecuencia de hemorragia corticales que se observa en los animales tratados en la altura con gonadotropina sérica, sobre todo si se tiene en cuenta que la glándula muestra una imagen de hiperactividad, a no ser que nuestra experiencia la hayamos suspendido justo en el momento en que los animales iniciaban una fase de agotamiento.

Al comparar los resultados que se obtienen al tratar animales en la costa con gonadotropina sérica y los que se obtiene en la altura con igual tratamiento hormonal, se observa una respuesta similar en la relación peso adrenal / peso corporal, peso testicular / peso corporal y la excreción de 17-cetoesteroides. Cuadros N° 2, 3, 4. Esto hace pensar que el tratamiento gonadotrópico por sí sólo explica muchas de las modificaciones observadas en los animales tratados en la altura. El único punto en que se encuentra una diferencia apreciable es con relación al efecto protector sobre la concentración espermática (13), lo cual es fácil de explicar ya que en la costa, la acción hormonal se efectuó sobre un epitelio sano y en la altura sobre uno con tendencia a cambios degenerativos.

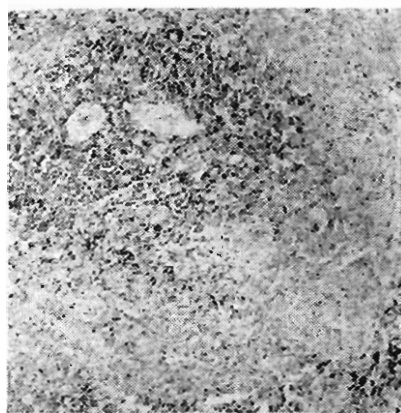


Fig. 13.—Bazo (20 días). Nódulos linfáticos con pequeñas porciones de sustancia hialina. En muchos de ellos se aprecian células de núcleo voluminoso de escasa cromatina.

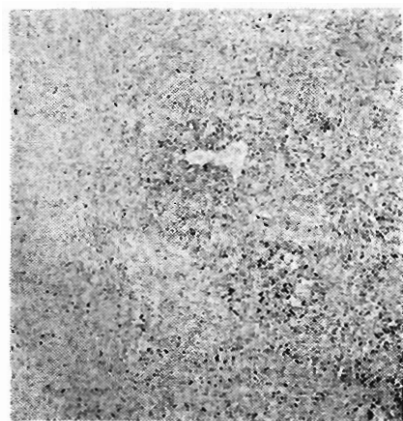


Fig. 14.—Bazo (12 días). Nódulos con pequeña cantidad de tejido linfoido.

CONCLUSIONES

Hasta donde permite el número reducido de animales se puede concluir que:

- 1º—La altura produce cambios degenerativos en el epitelio germinal.
- 2º—La altura produce signos de hiperactividad cortical y posteriormente signos de agotamiento glandular.
- 3º—El tratamiento con gonadotropina sérica en la altura muestra una acción protectora sobre el epitelio germinal.
- 4º—El tratamiento gonadotrópico en la altura retarda el agotamiento de la corteza suprarrenal.
- 5º—El tratamiento a nivel del mar con gonadotropina sérica produce en la relación peso testicular / peso corporal, peso adrenal / peso corporal y en la excreción de 17-cetoesteroides variaciones similares a las observadas en la altura con el mismo tratamiento hormonal.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—MONGE C. y MORI CHAVEZ P.: La espermatogénesis en la altura. Anales Fac. C. Med. Lima. Vol. 25:34-40, 1942.
- 2.—MONGE C.: Fisiología de la reproducción en la altura. Anales Fac. C. Med. Lima. Vol. 25: 19-33, 1942.
- 3.—MONGE C., SAN MARTIN M., ATKINS J., CASTAÑON J.: Fertilidad e infertilidad reversible durante la fase adaptativa. Anales Fac. Med. Lima. Vol. 28: 15-31, 1945.
- 4.—SAN MARTIN M., ATKINS J., CASTAÑON J.: Aspectos de la fisiología experimental de la reproducción en la altura. Anales Fac. Med. Lima. Vol. 28: 32-64, 1945.
- 5.—SAN MARTIN M. y ATKINS J.: Estudios sobre la fertilidad del ganado lanar en la altura. Anales Fac. C. Med. Lima. Vol. 25: 41-54, 1942.
- 6.—MONGE C. y SAN MARTIN M.: Nota sobre azoospermia de carneros llegados de la altura. Anales Fac. C. Med. Lima. Vol. 25: 58-62, 1942.
- 7.—APAZA F.: Excreción de 17-cetoesteroides neutros en conejos adultos. Tesis. Fac. Med. Vet. Lima. 1954.
- 8.—CERF C.: Diuresis y peso de hipófisis, testículos y suprarrenales en conejos tratados con ACTH y en conejos tratados con Gonadotropina Sérica. Tesis. Fac. Med. Vet. Lima 1954.
- 9.—MEZA F.: Algunas características del semen en conejos normales. en tratados con ACTH y en tratados con Gestyl. Tesis. Fac. Med. Vet. Lima 1954.
- 10.—PASCO P.: Excreción de 17-cetoesteroides en conejos tratados con ACTH y en conejos tratados con Gonadotropina Sérica. Tesis. Fac. Med. Vet. Lima 1954.
- 11.—VENNING E. H. y BROWNE J. S. L.: Journal of Clinical Endocrinology. Vol. 7: 79, 1947.
- 12.—HOLTORFFF A. F. y KOCH F. C.: Journal of Biological Chemistry. Vol. 135: 377, 1940.
- 13.—ANDRESEN SUCHIER H.: Algunas variaciones funcionales y orgánicas en conejos aparentemente normales y en tratados con Gonadotropina Sérica a nivel del mar y en la altura. Tesis. Fac. Med. Vet. Lima 1954.
- 14.—WALTON A. y URUSKI W. The effects of low atmospheric pressure on the fertility of male rabbit. The Jour. Exp. Biol. Vol. 23: 71-76, 1946.
- 15.—SCHLECHTER P.: Endocrino activity of the espermatogenic tissue demonstrated in the rat by means of the administration of large quantities of gonadotropins. Experientia. 7 (3): 106-108. Biol. Abs. Feb. 1952.
- 16.—SAN MARTIN M.: Esterilidad en la altura. Conferencia. Hosp. Arzb. Loayza. Mayo 18. 1955.
- 17.—SAN MARTIN M.: La reproducción en la altura. Rev. Fac. Med. Vet. Vol. 5: 140-147. Lima 1950.

- 18.—ZUCKERMAN S.: The suprarenal Cortex. Pág. 74-76. New York. 1953.
- 19.—TEMPLE H. G.: El efecto del suero de yegua sobre la glándula suprarenal de rata albina Biol. Abs. Vol. 18: 1124 N° 10302. 1944.
- 20.—LI HAO CHOH y HERRING V. V.: Effects of adrenocorticotropic hormone on the survival of normal rats during anoxia Am. Jour. of Physiol. Vol. 143: 548:551. 1945.
- 21.—DOHAN F. C.: Effects of low atmospheric pressure on the Adrenals. Thymus and Testis of rats. Proc. Sec. Exp. and Med. Vol. 49: 404-408, 1939.
- 22.—GOODMAN I.: some effects of steroids and diestilbesterols on the resistance to anoxia in the white rat. Univ. Colorado Stud. Ser. A 27 (3): 45-46, 1945.
- 23.—PINCUS G., HOAGLAND H.: Steroid excretion and the atress of flying. Jour. of Aviat. Med. Vol. 14: 173-193. 1943.
- 24.—CUBA CAPARO A.: Policitemia y "mal de Montaña" en corderos. Rev. Fac. Med. Vol. 6: 5-95, Lima. 1951.
- 25.—SAN MARTIN M. PRATO Y., FERNANDEZ CANO L.: Excreción Urinaria de esteroides en la adaptación a la altura. Rev. San Pol. Vol. 75: 110-116. Lima. 1953.