

Espermatograma y bioquímica seminal de nativos de altura y pacientes con mal de montaña crónica

Spermatogram and Seminal Biochemistry of High Altitude Natives and Patients with Chronic Mountain Sickness

MARCO A. GARCIA-HJARLES

Instituto de Investigaciones de la Altura, Universidad Peruana
Cayetano Heredia, Apartado 6083, Lima 100-Perú

Semen analysis has been studied in 9 healthy adult males from sea level (150 m), age 19-32 years old and 15 healthy males from high altitude (NA), 9 from Cerro de Pasco (4,300 m) and 6 from Morococha (4,540 m), ages 19-45 years old. Five patients with chronic mountain sickness (MMC), whose ages ranged from 23 to 52 years old were also studied.

The volume and motility were similar in NA and MMC, however both were below than in sea level subjects, but still in the normal range; the number of spermatozoa per 1 ml was lower at sea level than in NA and MMC, although the total number was higher at sea level due to the higher semen volume.

Fructose at sea level was 356 ± 53 mg/100 ml ($\bar{X} \pm S.E.$) which is similar to NA 327 ± 45 whereas a MMC was significantly lower, 142 ± 60 .

Citric acid was lower at sea level than in NA and MMC. Na, K and Cl, were similar among the three groups.

The lower concentration of fructose in MMC parallels the decreased testicular function already found in these groups.

However it is worthy to point out that the fertility is preserved in all the groups. The normal reproductive function in MMC is against the concept that this process occurs as a consequence of environmental disadaptation.

INTRODUCCION

Las primeras observaciones en el área de la fisiología de la reproducción en diferentes especies animales en la altura fueron hechas por Monge y Mori-Chávez (1942) y Monge y col. (1945).

La función reproductiva a través del espermatograma y bioquímica seminal en humanos ha sido poco estudiada en nuestro país y menos en habitantes de la altura. Gurmendi (1946) publicó un estudio de espermatograma y bioquímica seminal en residentes de nivel del mar (NNM); Sobrevilla y col. (1963) reportaron estudios del espermatograma de sujetos de altura (NA) con hallazgos dentro de los rangos de normalidad. Donayre y col. (1968), midieron fructosa y ácido cítrico en nativos de costa a nivel del mar y después de ser expuestos a hipoxia aguda en Cerro de Pasco (4.300 m).

El mal de montaña crónico (MMC) o enfermedad de Monge ha sido estudiada

adecuadamente en sus aspectos generales (Monge, 1943), hematológico (Hurtado, 1942), cardiovascular y respiratorio (Peñaloza, 1969), endocrinológicos (Guerra-García y col., 1973), Llerena y col. (1973), Pretell y col. (1973), sin embargo, poco se conoce acerca de la repercusión que esta situación produce en el sistema reproductor, lo que nos ha motivado a estudiar el problema.

El objetivo principal de este trabajo es el evaluar la función reproductora en el nativo de altura y en pacientes con MMC por medio del estudio del espermatograma y bioquímica seminal.

MATERIAL Y METODOS

Lugares de estudios

El estudio se llevó a cabo en los Laboratorios de Endocrinología del Instituto de Investigaciones de la Altura, en Lima (150 msnm) y en Cerro de Pasco (4.300 msnm) y en el laboratorio del Instituto de

Biología Andina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en Morococha (4.540 msnm).

Características generales

El grupo control de nativos de nivel del mar tuvo un promedio de $26 \pm 1,37$ años de edad ($\bar{X} \pm E.S.$); el de nativos de altura $27,07 \pm 2,59$ años y el grupo de pacientes con Mal de Montaña Crónico $34,60 \pm 5,45$. Los tres grupos son de edad comparable y no presentaron diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

Sujetos y pacientes

El grupo de NNM, en Lima, fueron estudiantes de Medicina y sujetos sanos entre 19 y 32 años de edad. Los integrantes de este grupo eran solteros en su mayoría, dos casados, uno con 2 hijos, el último de 2 años y el otro con un hijo de un mes de edad.

Las observaciones en NA se realizó en 9 residentes de Cerro de Pasco, estudiantes universitarios y voluntarios sanos y 6 residentes de Morococha, estudiantes y voluntarios sanos. Con excepción de un sujeto casado, con un hijo de 14 años, del grupo de Morococha, el resto eran solteros. En el grupo de Cerro de Pasco había 3 casados, el primero tenía 6 hijos, el último de 4 meses, el segundo con un hijo de 16 años y el tercero con 10 hijos, 4 vivos, el último de 4 meses de edad.

Los estudios en los pacientes con MMC se hicieron en 4 residentes de Cerro de Pasco y en 1 de Morococha; los criterios han sido señalados por el grupo de cardiólogos del Instituto de Investigaciones de la Altura Peñaloza (1969). Dos pacientes, casados, uno con nueve hijos, cuatro de ellos vivos, el último de 3 años; el otro paciente con cuatro hijos, el menor de 8 meses; dos pacientes solteros sin hijos y el paciente residente de Morococha era casado con 11 hijos, 8 vivos, el último de 10 meses de edad.

Métodos y procedimientos

Para la realización del presente trabajo se siguieron las directivas para la investigación del semen humano fijadas por Eliasson (1971). Un período de continencia de 4 a 6 días y en caso extremo de 3 a 7 días. Las muestras fueron colectadas por masturbación.

Espermatograma

La muestra de semen era recibida por el sujeto o paciente en un tubo de centrífuga de boca ancha graduado, de 50 ml de capacidad, lo cual nos daba directamente la medición de volumen en mililitros.

El pH, la motilidad, el número y las formas anormales eran determinados entre la primera y segunda hora; después de la eyaculación es importante dejar transcurrir por lo menos 30 minutos, ya que el semen recién eyaculado se coagula y

a los 15 ó 20 minutos se ha licuado alcanzando el espermatozoide su máxima motilidad después de estos dos fenómenos (Macleod (1954); Simmons (1954)).

El pH se midió con cinta (Merck) de rango entre 6,5 y 10,0 y divisiones de 0,2-0,3 unidades de pH.

La motilidad se informó como porcentaje y se realizó en semen sin diluir a temperatura ambiente ($20-22^{\circ}\text{C}$ en Lima y $12-15^{\circ}\text{C}$ en Cerro de Pasco y Morococha), observación microscópica a 450 X. Las formas anormales eran determinadas en un frotis del líquido seminal secado al aire, coloreado con Wright o con una variante de Papanicolau (1942).

El número de espermatozoides fue contado en cámara de Neubauer en diluciones de 1/20, 1/100 ó 1/200, de acuerdo a la concentración de la muestra; como diluyente se usó C1Na al 4% con gotas de formol. Se realizó el conteo de los 25 cuadraditos centrales y el número contado se multiplicó por dos y se obtuvo millones de espermatozoides por centímetro cúbico.

Bioquímica seminal

Para la determinación bioquímica el semen se centrifugó a 2,800 g por 20 minutos a 4°C y el plasma seminal se congeló. Los análisis de ácido cítrico (Saffran y Denstedt (1948)) y fructosa (Bacon y Bell (1948)) se realizaron por espectrofotometría; electrolitos tales como sodio y potasio (Monge y col. (1964)) en fotómetro de llama y el cloro (Cotlove y col. (1958)) por titulación potenciométrica.

Estadística

El análisis estadístico que se realizó fue de dos tratamientos con variantes no pareadas, utilizando la prueba de Student o "t" de dos colas para fines comparativos (Calzada (1964)).

RESULTADOS

Espermatograma en nativos del nivel del mar y nativos de altura

La comparación de estos grupos se presenta en la Tabla I.

El volumen del eyaculado del grupo de altura tuvo un promedio de $2,55 \pm 0,35$ centímetros cúbicos, menor al registrado en el grupo control de Lima, que fue de $4,19 \pm 0,37$ con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$).

La motilidad en el grupo de altura tuvo un promedio de $54,25 \pm 3,05$, menor que el grupo control de Lima, que fue de $68,89 \pm 2,81$ con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,005$).

TABLA I

Comparación de promedios.
Espermatograma de nativos normales de nivel del mar
y de nativos de altura

	Nivel del mar ⁺		Altura ⁺⁺		p
Edad, años	26,00 ±	1,37*	27,07 ±	2,59	N.S.
Vol., cc.	4,19 ±	0,37	2,55 ±	0,35	0,010
Mot., %	68,89 ±	2,81	54,25 ±	3,05	0,005
Nº mill./cc.	117,11 ±	29,82	150,67 ±	16,88	N.S.
Total esper.	444,10 ±	95,33	397,83 ±	75,52	N.S.
F. Anor., %	9,94 ±	0,58	14,61 ±	1,27	0,020

⁺ 9 sujetos de nivel del mar.

⁺⁺ 15 sujetos de la altura.

* $\bar{X} \pm E.S.$

El número de espermatozoides expresado en millones por centímetro cúbico fue similar en ambos grupos, $117,11 \pm 29,82$ para los de nivel del mar y $150,67 \pm 16,88$ para los nativos de altura, sin significación estadística.

El porcentaje de formas anormales en el grupo de altura fue de $14,61 \pm 1,27\%$, mayor al registrado en el grupo control de nivel del mar que tuvo $9,94 \pm 0,58$ con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,02$).

Espermatograma de nativos de altura y de pacientes con mal de montaña crónico

Ambos grupos se presentan en la Tabla II.

El volumen del eyaculado en el grupo de altura fue de $2,55 \pm 0,35$ centímetros cúbicos, ligeramente mayor al del grupo de pacientes con mal de montaña crónico que fue de $2,36 \pm 0,53$ centímetros cúbicos, sin diferencia estadística significativa.

El porcentaje de motilidad de los espermatozoides del grupo de altura fue de $54,25 \pm 3,05\%$, mayor que en el grupo de pacientes con mal de montaña crónico que tuvo $52,84 \pm 10,26\%$, sin diferencia estadísticamente significativa.

El número de espermatozoides expresado en millones por centímetro cúbico fue de $150,67 \pm 16,88$ en el grupo de altura, menor que el de pacientes con mal de montaña crónico, que fue de $165,00 \pm$

TABLA II

Comparación de promedios.
Espermatograma de nativos normales de la altura
y pacientes con mal de montaña crónico

	Normales altura ⁺		Mal de montaña crónico ⁺⁺		p <
Edad, años	27,07 ±	2,59*	34,60 ±	5,45	N.S.
Vol., cc.	2,55 ±	0,35	2,36 ±	0,53	N.S.
Mot., %	54,25 ±	3,05	51,84 ±	10,26	N.S.
Nº mill./cc.	150,67 ±	16,88	165,00 ±	23,04	N.S.
Total esper.	397,83 ±	75,52	391,36 ±	104,60	N.S.
Anor., %	14,60 ±	1,27	13,66 ±	2,11	N.S.

⁺ 15 sujetos de la altura.

⁺⁺ 5 pacientes con mal de montaña crónico.

* $\bar{X} \pm E.S.$

$23,04$, pero sin que la diferencia fuese estadísticamente significativa.

El número de formas anormales fue de $14,61 \pm 1,27\%$ en el grupo de altura y $13,66 \pm 2,11\%$ en el grupo de pacientes con mal de montaña crónico, igualmente sin mostrar diferencia estadísticamente significativa.

Bioquímica seminal de nativos de nivel del mar y de altura

Estos resultados son presentados en la Tabla III. El pH en el grupo de altura dio un promedio de $7,25 \pm 0,06$, menor que el grupo control de Lima de $7,60 \pm 0,05$ con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

La determinación del ácido cítrico en el grupo de altura indicó un promedio de $363,07 \pm 41,77$ mg/100 ml, ligeramente mayor al registrado en el grupo control de nivel del mar, que fue de $234,44 \pm 39,92$ mg/100 ml; esta diferencia se halla al borde de la significación estadística ($p < 0,05$).

La concentración de fructosa igualmente expresada en mg/100 ml fue similar en ambos grupos: $356,33 \pm 53,82$ para el grupo control y $327,30 \pm 45,16$ para los nativos de altura, sin diferencia estadísticamente significativa.

Los electrolitos tampoco demostraron diferencias con significado estadístico y se expresan también en mg/100 ml; en el

TABLA III

Comparación de promedios de los datos de bioquímica seminal de nativos normales de nivel del mar y de nativos normales de altura

	n	Nivel del mar	n	Altura	p
pH	(9)	7,60 ± 0,05*	(15)	7,25 ± 0,06	0,001
Acido cítrico mg/100 ml	(9)	234,44 ± 39,92	(14)	363,07 ± 41,77	0,050
Fructosa mg/100 ml	(9)	356,33 ± 53,82	(13)	327,30 ± 45,16	N.S.
Electrólitos:					
Sodio mg/100 ml	(8)	346,25 ± 24,05	(4)	303,00 ± 12,99	N.S.
Potasio mg/100 ml	(8)	98,62 ± 8,20	(4)	105,75 ± 4,09	N.S.
Cloro mg/100 ml	(8)	140,50 ± 15,27	(5)	135,80 ± 15,90	N.S.

* $\bar{X} \pm E.S.$

grupo de altura el sodio se encontró en una concentración de $303 \pm 12,99$, menor al grupo control que tuvo $346 \pm 24,05$; el potasio del nativo de altura tuvo $105,75 \pm 4,09$, mayor al grupo control que tuvo $98,62 \pm 8,20$ y el cloro del nativo de altura tuvo $135,80 \pm 15,90$, menor al grupo control que tuvo $140,50 \pm 15,27$.

Bioquímica seminal de nativos de altura y de pacientes con mal de montaña crónica

La comparación de ambos grupos se presenta en la Tabla IV. El pH del grupo de

altura fue de $7,25 \pm 0,06$, ligeramente menor que el de pacientes con mal de montaña crónico que fue de $7,32 \pm 0,19$, sin diferencia estadísticamente significativa.

La concentración de ácido cítrico en el grupo de altura fue de $363,07 \pm 41,77$ mg/100 ml, ligeramente menor que la concentración del grupo de pacientes con mal de montaña crónico que fue de $378,00 \pm 75,92$ mg/100 ml, pero igualmente sin diferencia significativa.

La concentración de fructosa fue de $327,31 \pm 45,16$ mg/100 ml en el grupo de altura, mayor que $141,60 \pm 59,91$ mg/100

TABLA IV

Comparación de promedios de los datos de bioquímica seminal de nativos normales de altura y pacientes con mal de montaña crónico

	n	Normales altura	n	Mal de montaña crónico	p
pH	(15)	7,25 ± 0,06	(5)	7,32 ± 0,19	N.S.
Acido cítrico mg/100 ml	(14)	363,07 ± 41,77	(5)	378,00 ± 75,92	N.S.
Fructosa mg/100 ml	(13)	327,30 ± 45,16	(5)	141,60 ± 59,91	0,05
Electrólitos:					
Sodio mg/100 ml	(4)	303,00 ± 12,99	(3)	309,67 ± 29,28	N.S.
Potasio mg/100 ml	(4)	105,75 ± 4,09	(3)	142,00 ± 19,86	N.S.
Cloro mg/100 ml	(5)	135,80 ± 15,90	(3)	126,67 ± 13,30	N.S.

ml del grupo de pacientes con mal de montaña crónico, con una diferencia estadística al borde de la significación ($p < 0,05$).

Los electrólitos no mostraron diferencia estadísticamente significativa y se expresan en mg/100 ml. El promedio del sodio en el grupo de altura fue de $303,00 \pm 12,09$, menor al del grupo de pacientes con mal de montaña crónico que fue de $309,67 \pm 28,28$; el potasio tuvo $105,75 \pm 4,09$ en el grupo de altura, menor al del grupo de pacientes con mal de montaña crónico, que tuvo $142,00 \pm 19,86$ y el cloro tuvo $135,80 \pm 14,5$ en el grupo de altura, mayor al del grupo de pacientes con mal de montaña crónico, que tuvo $126,67 \pm 13,30$.

DISCUSION

En general, los resultados obtenidos en espermatoograma y bioquímica seminal, tanto en el grupo control de Lima, como en el de nativos de altura y el de pacientes con mal de montaña crónico, son comparables a los de otros autores que han utilizado los mismos métodos Gurmendi (1946), Donayre y col. (1968), Eliasson (1971), Mann y Lutwak-Mann (1981); sin embargo se observan algunas diferencias entre grupos que comentaremos a continuación.

Es importante señalar que a pesar de que los sujetos de altura tienen un menor volumen de eyaculado que el grupo control de nivel del mar, el número total de espermatozoides es similar en ambos grupos, ya que el grupo control de nivel del mar tiene menor número de espermatozoides por centímetro cúbico.

La menor motilidad en el grupo de altura, en comparación con el grupo de nivel del mar, podría estar afectada por la menor pO_2 en la altura, además, de la menor temperatura ($9-11^{\circ}C$) como ha sido demostrado por Barnes (1962).

A pesar del mayor número de formas anormales en el grupo de altura, el porcentaje está aún dentro de lo aceptado como normal; así por ejemplo Gurmendi (1946) señala 2-15%, Page y Houlding (1951) indican de 10-25% y Eliasson (1971) halla hasta 30% de formas anormales. La exposición de animales domésticos a la altura

por largo tiempo produce daño testicular con disminución de espermatozoides, en algunos casos azoospermia además de un incremento del número de formas anormales Monge y col. (1945), San Martín y col. (1945) y San Martín (1950).

Donayre y col. (1968) señalan que el incremento de formas anormales a nivel de cabeza y cuello y presentación de células inmaduras sería producido por daño en los últimos estadios de la espermiogénesis.

Si bien es cierto que estos resultados señalan algunas diferencias entre el grupo control de nivel del mar y los sujetos de la altura, a pesar de eso, el sujeto nativo de la altura presenta función reproductiva normal.

La comparación del grupo de pacientes de mal de montaña crónico con el grupo de nativos de altura, de similar edad, no muestra diferencias estadísticamente significativas en los datos de espermatoograma.

Este es un hallazgo interesante que demuestra cómo el testículo humano puede comprometerse en sólo una de sus funciones, dado que en este mismo grupo de pacientes Guerra-García y col. (1973) han demostrado una hipofunción endocrina primaria del testículo, la cual se evidencia por una menor excreción de testosterona, y pobre o ningún incremento después de la inyección de 5.000 UI de HCG.

La mejor expresión de la preservación de la función reproductiva es el número de hijos de los pacientes casados, con mal de montaña crónico.

La normal función reproductiva que hemos demostrado en los pacientes con mal de montaña crónico cuestiona el concepto original dado por Monge (1943, 1943a) de que esta enfermedad es la expresión de la pérdida de la adaptación al ambiente hipóxico, dado que uno de los criterios importantes para que cualquier animal sea calificado como adaptado a un ambiente dado es su capacidad normal de reproducción, la cual, como repetimos, está preservada.

El pH del semen del nativo de altura es menor que el del grupo del nivel del mar, pero dentro del rango normal; Donayre y col. (1968) señalan 7,4-7,8, mientras que Hotchkiss (1944) 7,2-7,4.

La concentración del ácido cítrico del grupo de altura es ligeramente mayor que el del grupo control del nivel del mar, al borde de la significación estadística, pero dentro del rango de normalidad, que varía de 100-1.400 mg/100 ml señalado por Mann (1964) y Mann y Lutwak-Mann (1981).

La concentración de fructosa del nativo de altura y el del nivel del mar fueron similares, ambos dentro de valores normales indicados por Mann (1964), Eliasson (1971) y Mann y Lutwak-Mann (1981). Esto concuerda con lo demostrado por Guerra-García (1973), en el sentido de que el nativo de altura presenta una función endocrina hipofisotesticular preservada.

A pesar de la diferencia significativa del nativo de altura y el control del nivel del mar, ambos grupos se hallan dentro del rango de normalidad señaladas por Gurmendi (1946), Mann (1964), Eliasson (1971) y Mann y Lutwak-Mann (1981) y no comprometen la fecundidad de los sujetos de la altura, la cual está acreditada con una fertilidad normal en los casados y con una tasa normal del crecimiento poblacional para Cerro de Pasco (1968).

Los parámetros bioquímicos no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de pacientes con mal de montaña crónico y el de nativos de la altura, salvo la disminución de la concentración de fructosa en el caso de pacientes con mal de montaña crónico ($p < 0,05$); esta menor concentración de fructosa armoniza bien con la disminuida función endocrina testicular, encontrada en el mismo grupo por Guerra-García y col. (1973); si bien el promedio de LH de ambos grupos (control y MMC) no fue diferente, algunos de los casos de MMC tenían franca elevación de LH. El hecho de que el ácido cítrico no varía significativamente entre MMC y NA, podría deberse al mayor rango de variación de sus valores en relación a los de fructosa.

Recavarren (1972), en observaciones al microscopio electrónico del pulmón de uno de los casos de mal de montaña crónico, señala la existencia de un engrosamiento del septo alveolar lo cual podría explicar la mayor hipoxemia de estos pacientes, y

como consecuencia la policitemia, hipertensión pulmonar y demás síntomas de ellos derivados. En todo caso se puede afirmar que ello no compromete significativamente la función reproductiva de estos pacientes.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roger Guerra-García quien orientó este trabajo.

A la Srta. Cecilia García por el buen trabajo mecanográfico y a todos y cada una de las personas que en una u otra forma hayan colaborado a la realización del presente trabajo.

Parte del trabajo fue realizado gracias a la ayuda económica parcial del Centro Multinacional de Adiestramiento en Fisiología y Patología de la Altura (CEMUAL).

REFERENCIAS

- BACON, J.S.D. y D.J. BELL (1948) Fructose and glucose in the blood of the fetal sheep. *Bioch. J.* 42: 397-405.
- BARNES, H. (1962) In: MANN, T. (1964) The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. Methuen London, Wiley New York, 1^{ra}. ed. pág. 273.
- CALZADA, B.J. (1964) Métodos estadísticos para la investigación. Impresión del autor. 2^a ed. Lima, pág. 494.
- COTLOVE, E., U.V. TRANTHAN y R.L. MAN (1958) An instrument for a method for automatic, rapid, accurate and sensitivity titration of chloride in biological samples. *J. Lab. Clin. Med.* 50: 358.
- DONAYRE, J., R. GUERRA-GARCIA, F. MONCLOA y L.A. SOBREVILLA (1968) Endocrine studies at high altitude. IV Changes in the semen of men. *J. Reprod. Fert.* 16: 55-58.
- ELIASSON, R. (1971) Standards for investigation of human semen. *Andrologie* 3: 49-64.
- Encuesta de Fecundidad en la Ciudad de Cerro de Pasco (1968) Centro de Investigaciones Sociales por Muestreo. Ministerio de Trabajo y Comunidades. Lima, pág. 139.
- GUERRA-GARCIA, R. (1971) Dinámica de la androgénesis en las grandes alturas. Tesis Doctoral. Instituto de Investigaciones de la Altura. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima.
- GUERRA-GARCIA, R., L.A. LLERENA, D. GARAYAR y R. AMES (1973) Función hipófiso testicular en nativos de altura y en pacientes con mal de montaña crónico. V Jornadas Peruanas de Endocrinología. Abril 27-Mayo 1^o. Cusco, Abstracto N° 22.
- GURMENDI, R.E. (1946) Estudio del líquido espermático. Valores normales, su empleo en algunos casos clínicos. Tesis de Bachiller. Fac. de Med. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- HOTCHKISS, R.S. (1944) Fertility in Men. 3^a ed. J.B. Lippincott Co. Philadelphia, pág. 216.
- HURTADO, A. (1942) Chronic mountain sickness. *J. Am. Med. Ass.* 120: 1278-1282.
- MACLEOD, J. In: MANN, T. (1954) The biochemistry of semen. 1^a. ed. Methuen London, Wiley New York, pág. 28.

- MANN, T. (1954) The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. 1ª. ed. Methuen London, Wiley New York, pág. 493.
- MANN, T., and LUTWAK-MANN, C. (1981) Male reproductive function and semen. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, pág. 495.
- MONGE, M.C. (1943) El mal de montaña crónico. *An. Fac. Med. Lima*. 26: 117-148.
- MONGE, M.C. (1943a) Chronic mountain sickness. *Physiol. Rev.* 23: 166-184.
- MONGE, M.C. y P. MORI-CHAVEZ (1942) Fisiología de la reproducción en la altura. *An. Fac. Med. Lima*. 25: 34-40.
- MONGE, M.C., M. SAN MARTIN, J. ATKINS y J. CASTAÑON (1945) Aclimatación del ganado ovino en las grandes alturas. *An. Fac. Med. Lima*. 28: 15-31.
- MONGE, M.C., R. LOZANO y A. CARCELEN (1964) Renal excretion of bicarbonate in high altitude natives and in natives with chronic mountain sickness. *J. Clin. Investig.* 43: 2303-2309.
- PAGE, E.W. y F. HOULDING (1951) The clinical interpretation of 1,000 semen analysis among applicants for sterility studies. *Fert. Ster.* 2: 140-151.
- PAPANICOLAOU, G.N. (1942) A new procedure for staining vaginal smears. *Science* 95: 438-439.
- PEÑALOZA, D. (1969) Corazón pulmonar crónico por desadaptación a la altura (Mal de Montaña Crónico). Tesis Doctoral. Instituto de Investigaciones de la Altura. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima.
- RECAVARREN, S. (1972) Estudios ultraestructurales del pulmón del mal de montaña crónico. Reunión científica en el Instituto de Investigaciones de la Altura. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima.
- SAFFRAN, M. y O.F. DENSTEDT (1948) Rapid method for determination of citric acid. *J. Biol. Chem.* 175: 849.
- SAN MARTIN, M. (1950) La reproducción en la altura. *Rev. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos*, 5: 140-147.
- SIMMONS, F.A. In: MANN, T. (1954) The biochemistry of semen. 1ª. ed. Methuen London. Wiley New York, pág. 28.
- SOBREVILLA, L.A., I. ROMERO, F. MONCLOA, J. DONAYRE y R. GUERRA-GARCIA (1967) Endocrine studies at high altitude III. Urinary gonadotrophins in subjects native to and living at 14,000 feet and during acute exposure of men living at sea level to high altitudes. *Acta Endocrinol.* 56: 369-375.

