

# Efectos del danazol y hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión y resistencia vascular

## *Effects of danazol and danazol hemisuccinate on perfusion pressure and vascular resistance*

► Lauro Figueroa-Valverde<sup>1\*</sup>, Eliseo Diaz-Ku<sup>2\*</sup>, Francisco Díaz-Cedillo<sup>3\*\*</sup>, Ana Cristina Baqueiro-Bricaire<sup>4\*</sup>, Abelardo Camacho-Luis<sup>5\*\*\*</sup>

---

\* Universidad Autónoma de Campeche, Av. Agustín Melgar, Col Buenavista C.P. 24030 Campeche Cam., México.

\*\* Escuela de Ciencias Biológicas del IPN. Plan de San Luís y Díaz Mirón s/n Col. Santo Tomas, México, D.F. C.P. 11340.

\*\*\* Facultad de Medicina de la Universidad Juárez del Estado de Durango, es Av. Fanny Anitua s/n Esq. Av. Universidad. C.P. 34000, Durango, Dgo., México.

1. Doctor en Ciencias Biológicas
2. QFB
3. Doctor en Ciencias Químicas
4. Maestro en Ciencias en Nutrición
5. Doctor en Ciencias Médicas

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

---

### Resumen

Estudios clínicos y epidemiológicos sugieren que el danazol ha sido considerado como un factor de riesgo para desarrollar hipertensión. Para proporcionar información adicional acerca de este fenómeno, en este trabajo fue caracterizado el efecto inducido por el danazol y el hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión y la resistencia vascular en corazón aislado de rata a flujo constante (modelo de Langendorff). Los resultados, mostraron que; 1) el hemisuccinato de danazol [ $10^{-9}$  M] incrementa la presión de perfusión en comparación con el danazol [ $10^{-9}$  M]; 2) los efectos del derivado de danazol [ $10^{-9}$  M -  $10^{-4}$  M] sobre la presión de perfusión fueron inhibidos por flutamida [ $10^{-6}$  M]; 3) la nifedipina [ $10^{-6}$  M], bloqueó los efectos ejercidos por el hemisuccinato de danazol [ $10^{-9}$  M -  $10^{-4}$  M] sobre la presión de perfusión y 4) el efecto del derivado de danazol [ $10^{-9}$  M -  $10^{-4}$  M] sobre la presión de perfusión en presencia del montelukast [ $10^{-6}$  M] fue inhibido significativamente ( $p=0,008$ ). En conclusión, los efectos inducidos por el danazol y hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión y la resistencia vascular podrían depender de su estructura química. Este fenómeno podría involucrar la interacción del receptor de andrógenos e indirectamente la activación de la síntesis de leucotrienos D4 (LTD4) y consecuentemente inducir variaciones en la presión de perfusión.

**Palabras clave:** danazol \* modelo de Langendorff \* presión de perfusión

### Summary

Epidemiological and clinical studies suggest that danazol has been considered a risk factor for hypertension development. In order to provide additional information about this phenomenon, the effect induced by both danazol and hemisuccinate of danazol on perfusion pressure and vascular resistance was characterized in isolated rat heart at constant flow (Langendorff model) and it was evaluated in this work. The results showed that; 1) hemisuccinate of danazol [ $10^{-9}$  M] increases perfusion pressure and vascular resistance in comparison with danazol [ $10^{-9}$  M]; 2) the effects

of danazol-derivative [ $10^{-9}$  M -  $10^{-4}$  M] on perfusion pressure were inhibited by flutamide [ $10^{-6}$  M]; 3) nifedipine [ $10^{-6}$  M] blocked the effects exerted by hemisuccinate of danazol [ $10^{-9}$  M -  $10^{-4}$  M] on perfusion pressure; and 4) the effect of danazol-derivative [ $10^{-9}$  M -  $10^{-4}$  M] on perfusion pressure in presence of montelukast [ $10^{-6}$  M] was significantly inhibited ( $p=0.008$ ). In conclusion, the effects induced by both danazol and hemisuccinate of danazol on perfusion pressure and vascular resistance could depend on their chemical structure. This phenomenon could involve the interaction of androgene steroid-receptor and indirect activation of leukotriene D4 (LTD4) synthesis and consequently, induce variations in the perfusion pressure.

**Keywords:** danazol \* Langendorff model \* perfusion pressure

## Introducción

La hipertensión (HTA) es uno de los principales factores de riesgo involucrados en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (1-3). Existen varios factores de riesgo como: tabaquismo, alcoholismo, diabetes y altas concentraciones de lípidos entre otros, que incrementan la progresión de esta patología clínica(4). Además, estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado que las hormonas sexuales están involucradas en la variación de la presión sanguínea(5-8). En el caso de los varones se ha señalado que los andrógenos en general juegan un papel muy importante en la regulación de la presión sanguínea(9-10) y en particular se ha encontrado que el danazol (derivado andrógeno), puede afectar indirectamente los niveles de la presión sanguínea(11). Ejemplos de esto son los estudios realizados por Wu *et al* quienes sugieren que existe una relación entre el danazol y un efecto hipertenso (12). Estos datos son avalados por los trabajos de investigación realizados por Bretza *et al* (13), donde se señala que la administración de danazol puede inducir hipertensión por incrementos en la retención de sodio, lo que trae como consecuencia aumentos en el estado presor. Sin embargo, es importante señalar que existen datos que sugieren que la terapia farmacológica con danazol puede ser un factor de riesgo independiente del efecto hipertenso, lo que podría inducir una trombosis arterial(14).

Todos estos estudios enfocados a analizar los efectos del danazol sobre la presión sanguínea, que es uno de sus blancos de acción (12)(14), no solamente son escasos sino que han arrojado hasta la fecha resultados frecuentemente difíciles de interpretar y a menudo contradictorios. Parte de la dificultad en la interpretación puede ser el abordaje que cada investigador realiza o porque el danazol induce su efecto a través de interferir con diferentes mecanismos de acción (15)(16). Por lo tanto, el presente trabajo tuvo el propósito de evaluar el efecto que ejerce el danazol y el hemisuccinato de danazol sobre la capacidad de los vasos coronarios y sobre la resistencia vascular, tradu-

cido por cambios en la presión de perfusión en corazón aislado de rata (Modelo de Langendorff) (17).

Además, se usaron como herramientas farmacológicas varias sustancias como: flutamida (antagonista de receptores de andrógenos)(18), nifedipina (antagonista de canales de calcio tipo-L)(19) y montelukast (inhibidor de receptores de leucotrienos LTD4) (20) para tratar de caracterizar el posible mecanismo involucrado en el efecto ejercido por el hemisuccinato de danazol, tal como lo hacen otro tipo de conjugados de andrógenos que involucran indirectamente la síntesis y liberación de algunas sustancias vasoactivas y que ejercen indirectamente efectos sobre el tono vascular (21)(22).

## Materiales y Métodos

El hemisuccinato de danazol (Figura 1) fue sintetizado usando técnicas descritas por Figueroa *et al.* (23). El danazol y los otros reactivos fueron obtenidos de Sigma-Aldrich Chemical Co.

Todos los protocolos fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad Autónoma de Campeche; su aprobación se basó en la Guía para Cuidados y Uso de Animales de Laboratorio, publicada por la Academia Nacional de Ciencias (Washington D.C., 1996) (24). Se utilizaron ratas *Wistar* (con un peso de 220-250 g), que antes de la experiencia fueron mantenidas a una temperatura de 22 °C y se alimentaron con una dieta balanceada (purina) y agua para garantizar condiciones deseables.

### DISEÑO EXPERIMENTAL

La población de estudio consistió en 54 ratas íntegras (machos, no castradas), de las cuales se formaron 6 grupos para evaluar el efecto inducido por danazol y el hemisuccinato de danazol en un modelo de corazón aislado y perfundido a flujo constante (10 mL/min). Cada corazón fue su propio control (para cada serie de experimentos, n=9).

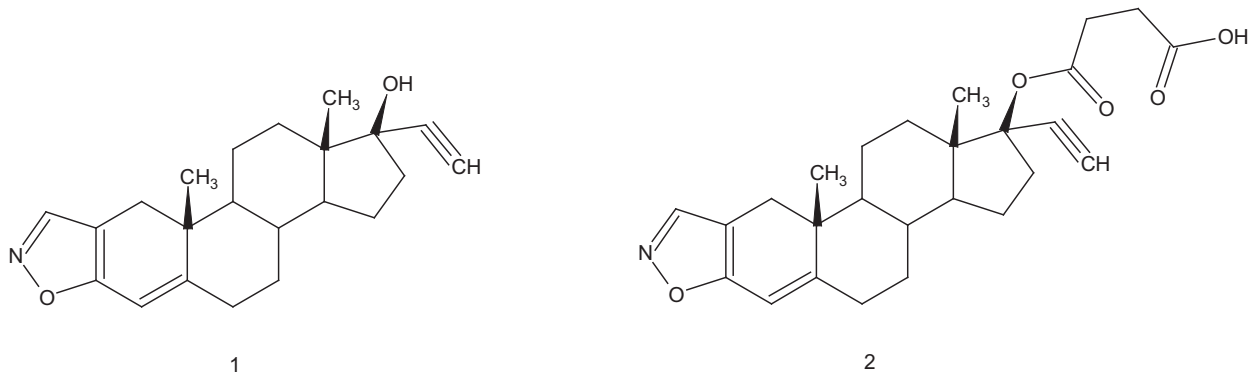


Figura 1. Estructura química del danazol (1) y del hemisuccinato de danazol (2)

**Método de Langerdoff.** Los animales fueron anestesiados con pentobarbital por vía intraperitoneal (50 mg/kg de peso). Después de la inducción de anestesia, el corazón se extrajo del animal, por medio de una laparotomía toraco-abdominal, y se depositó en un vaso de precipitado que contenía solución de Krebs-Henseleit (H-K), la cual estaba compuesta de: NaCl [127 mM], KCl [6 mM], CaCl<sub>2</sub> [1,8 mM], NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> [1,2 mM], MgSO<sub>4</sub> [1,2 mM], NaHCO<sub>3</sub> [25 mM], dextrosa [5 mM], ácido pirúvico [2 mM]. Esta solución se ajustó a un pH de 7,4 (con NaHCO<sub>3</sub>), y se burbujeó con una mezcla de gases (5% CO<sub>2</sub> y 95% O<sub>2</sub>), a una temperatura de 35-36 °C, regulada por un termostato. En este método el corazón fue perfundido con la solución de H-K retrogradamente a través de una cánula insertada en la aorta. El tiempo de recuperación del corazón fluctuó entre 10 y 15 min. Después de este lapso se realizó la evaluación farmacológica en tiempos no mayores de una hora.

**Presión de perfusión.** Los cambios en la presión de perfusión inducidos por la aplicación de danazol y hemisuccinato de danazol en ausencia y en presencia de las sustancias involucradas en este estudio, fueron cuantificados mediante una derivación de la cánula (la cual estaba insertada en cada corazón) conectada a un transductor de presión (Statham, Biopac Systems Inc; EE.UU.), que a su vez estaba acoplado a un sistema de captura de datos computarizado (MP100, Biopac Systems Inc; EE.UU.).

#### EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS FARMACOLÓGICOS

*Evaluación del efecto inducido por el danazol y el hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión.*

Se registró el efecto ejercido por la administración de danazol y hemisuccinato de danazol a dosis de 10<sup>-9</sup> M. El efecto del danazol y su análogo fueron evaluados en tiempos de 3 a 18 min. El danazol y el hemisuccinato de danazol se disolvieron en metanol 1 mg/mL y

las diferentes concentraciones de trabajo se obtuvieron diluyendo esta solución concentrada con solución de K-H (0,01% v/v).

#### *Determinación del efecto ejercido por danazol y hemisuccinato de danazol sobre la resistencia vascular*

Se obtuvo el registro del efecto sobre la resistencia vascular en condiciones control, en presencia de danazol y de hemisuccinato de danazol a una concentración de 10<sup>-9</sup> M. El danazol y el derivado de danazol fueron perfundidos en lapsos no mayores de 18 min. La resistencia vascular se calculó dividiendo la presión de perfusión inducida por el flujo coronario por el valor de flujo que la indujo (mm Hg/mL/min).

#### *Cuantificación del efecto inducido por el hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión en ausencia y en presencia de flutamida*

Se administraron diferentes dosis [10<sup>-9</sup> a 10<sup>-4</sup> M] del análogo de danazol y se registró la presión de perfusión. La curva dosis-respuesta registrada (control), fue repetida bajo perfusión continua de flutamida [10<sup>-6</sup> M]. La preincubación con flutamida fue realizada por 10 min.

#### *Efecto del hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión mediado a través de canales de calcio.*

Fueron administradas diferentes dosis [10<sup>-9</sup> a 10<sup>-4</sup> M] del análogo de danazol y se registró la presión de perfusión. La curva dosis-respuesta (control) fue repetida bajo perfusión continua de nifedipina [10<sup>-6</sup> M]. La duración de la preincubación con nifedipina fue de 10 min.

#### *Evaluación del efecto ejercido por el hemisuccinato de danazol sobre la síntesis de receptores de leucotrienos (LTD<sub>4</sub>).*

Se administraron diferentes dosis [10<sup>-9</sup> a 10<sup>-4</sup> M] del derivado de danazol y se registró la presión de perfusión. La curva dosis-respuesta registrada (control), fue repetida bajo perfusión continua de montelukast [10<sup>-6</sup> M]. La duración de preincubación con montelukast fue de 10 min.

Es importante mencionar que la dosis [10<sup>-6</sup> M] administrada de los compuestos como son montelukast, nifedipina y flutamida usados en este estudio se determinó en base a estudios realizados anteriormente para otros esteroides (25) (26) y a las curvas dosis-respuesta (no mostradas) de cada uno de ellos en presencia del hemisuccinato de danazol.

*Análisis estadístico*

Los valores obtenidos se expresan como media ± E.E.M.; cada corazón fue su propio testigo (n=9). Los datos obtenidos fueron sometidos a una prueba *t* de Student y análisis de varianza (ANOVA) con factor de corrección de Bonferroni (27). Las diferencias se consideraron significativas con *p* ≤ a 0,05.

**Resultados**

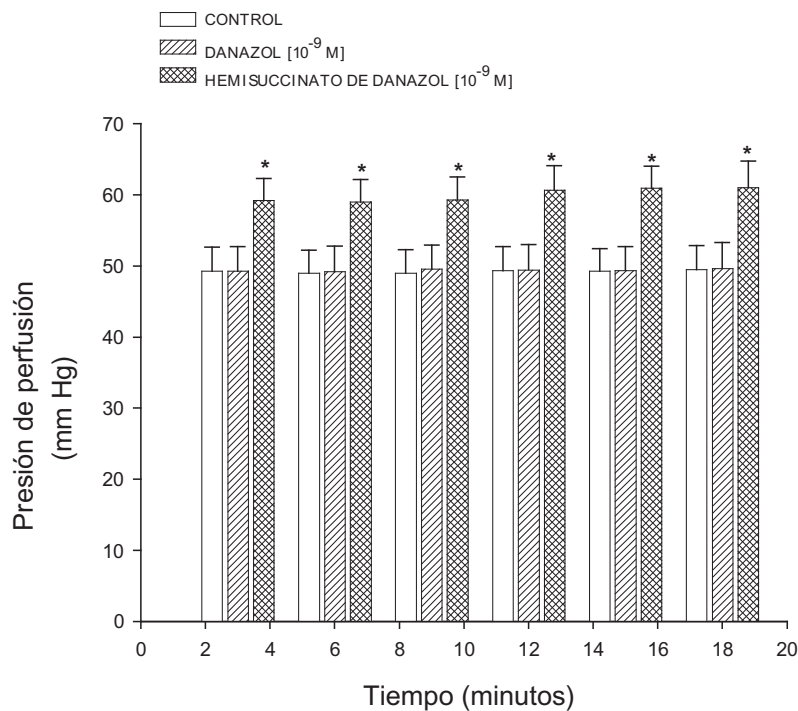
En este estudio se evaluó, en primer lugar, el efecto que inducen el danazol y su derivado (hemisuccinato de danazol) sobre la presión de perfusión y la resistencia vascular. Los resultados señalan que en ausencia (control) o en presencia del danazol [10<sup>-9</sup> M], la presión de perfusión no varía significativamente con respecto al tiempo (Figura 2). Sin embargo, la administración continua de hemisuccinato de danazol [10<sup>-9</sup> M] induce incrementos significativos (*p*=0,005) sobre la presión

de perfusión. Además, los datos registrados de la evaluación del efecto del flujo coronario sobre la resistencia vascular (Figura 3) en ausencia, así como en presencia de danazol y de hemisuccinato de danazol a una concentración de 10<sup>-9</sup> M, muestran que el análogo de danazol aumenta significativamente (*p*=0,006) la resistencia vascular en comparación con el danazol y las condiciones control.

Los resultados de la evaluación del efecto inducido por el hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión en ausencia y en presencia de flutamida [10<sup>-6</sup> M], mostraron que el derivado de danazol incrementa la presión de perfusión (Figura 4) en una manera dosis-dependiente [10<sup>-9</sup> M a 10<sup>-4</sup> M], sin embargo en presencia del antagonista de receptores andrógenicos este efecto disminuye (*p*=0,005).

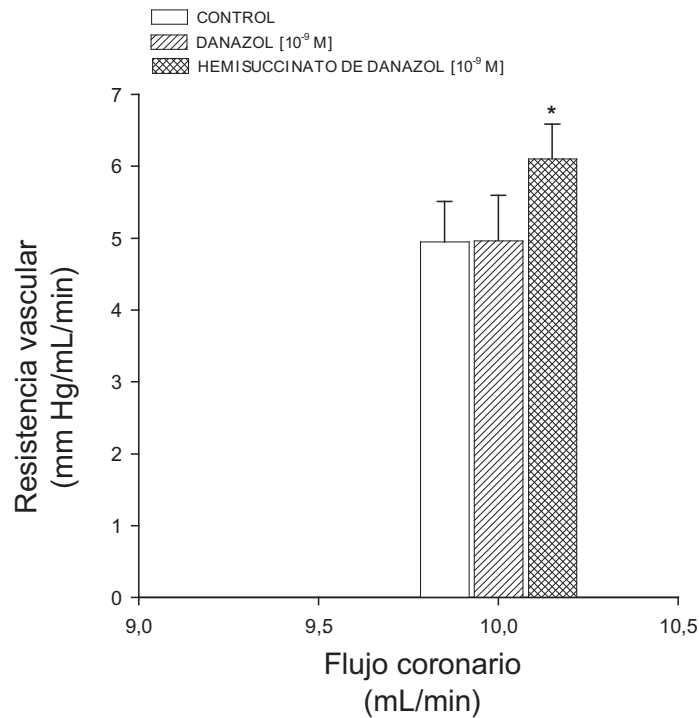
Por otro lado, los resultados donde se evaluó el efecto del hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión en ausencia y en presencia de nifedipina [10<sup>-6</sup> M] señalan que el efecto inducido por el hemisuccinato de danazol [10<sup>-9</sup> M a 10<sup>-4</sup> M] sobre la presión de perfusión fue bloqueado (*p*=0,005) por el antagonista del calcio (Figura 5).

Por último, los datos obtenidos de la evaluación del efecto del hemisuccinato de danazol en presencia y en ausencia de montelukast [10<sup>-6</sup> M], señalan que el aumento en la concentración 10<sup>-9</sup> M a 10<sup>-4</sup> M del análogo de danazol trae como consecuencia incrementos en la pre-



\* diferencia significativa (*p* ≤ 0,005)

Figura 2. Efecto ejercido por el danazol y el hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión en un modelo de rata aislada y perfundido a flujo constante (Langendorff). Los efectos se observan en cada barra que expresa la media ± EEM de 9 experimentos



\* diferencia significativa ( $p \leq 0,005$ )

Figura 3. Registro del efecto ejercido por danazol y hemisuccinato de danazol sobre la resistencia vascular. Los efectos se expresan en cada barra como la media  $\pm$  E.E.M., de 9 experimentos

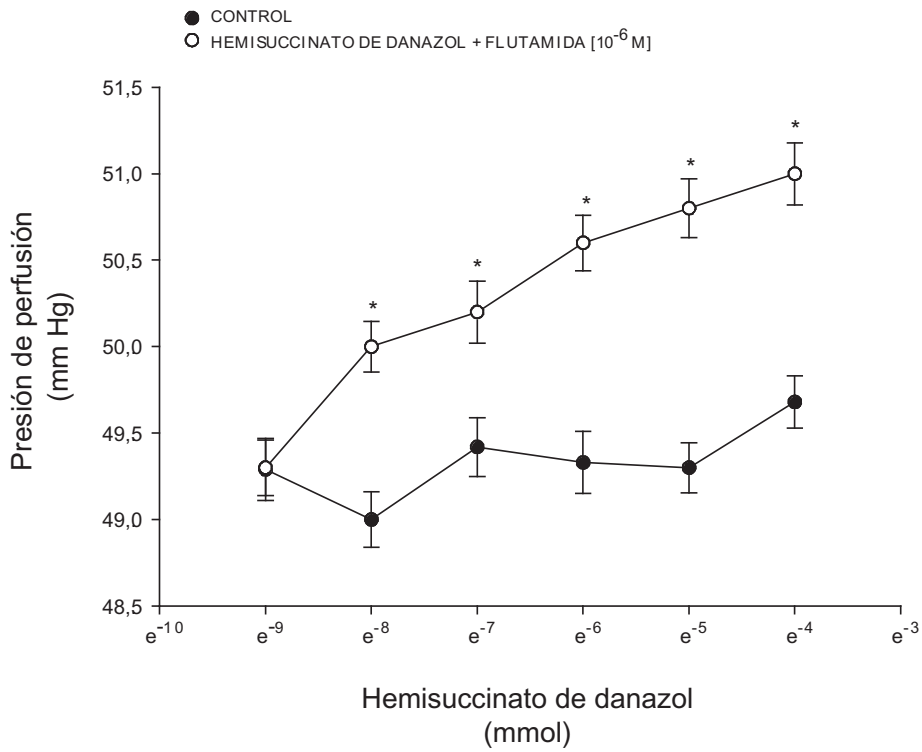
sión de perfusión (Figura 6). Sin embargo, este efecto en presencia del antagonista de receptores de leucotrienos disminuye significativamente ( $p=0,008$ ).

## Discusión

En este trabajo fue evaluado el efecto inducido por el danazol y el hemisuccinato de danazol sobre la capacidad de los vasos coronarios y sobre la resistencia vascular, traducido por cambios en la presión de perfusión en corazón aislado de rata (Modelo de Langendorff) (21). Los resultados obtenidos mostraron que la presión de perfusión en condiciones control (Figura 2) y en presencia de danazol [ $10^{-9}$  M] no varió con el tiempo (1-18 min); sin embargo, en presencia del análogo de danazol [ $10^{-9}$  M] se incrementó significativamente ( $p=0,005$ ). Estos datos indican que el hemisuccinato de danazol induce mayor efecto sobre la presión de perfusión que el danazol, lo que podría traer como consecuencia modificaciones en el tono vascular y subsecuentemente sobre la resistencia vascular. Para comprobar esta premisa, se determinó el efecto inducido por este andrógeno y su análogo sobre la resistencia vascular (a un flujo coronario de 10 mL/min), lo cual se traduce en cambios en la presión de perfusión. Los datos obtenidos indican que la resistencia vascular aumenta significativamente

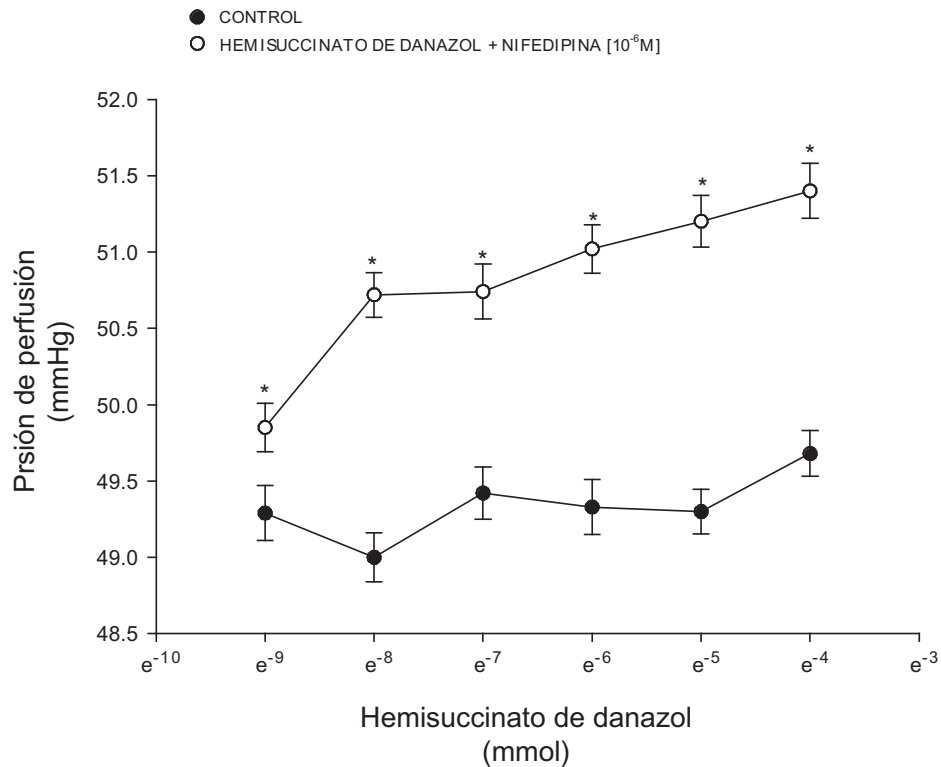
( $p=0,006$ ) en presencia del hemisuccinato de danazol (Figura 3) en comparación con las condiciones control y el danazol. Por lo tanto, estos datos sugieren que el hecho de cambiar la funcionalidad estructural del danazol en el anillo D (ciclopentano) para producir el hemisuccinato de danazol (Figura 1) trae como consecuencia directa que este andrógeno ejerza un mayor efecto sobre el tono vascular.

Es importante mencionar que este fenómeno indirectamente podría estar condicionado por la activación del receptor de andrógenos, como sucede en otro tipo de hormonas androgénicas (28). En este sentido, dicha activación involucra la interacción del receptor con el esteroide androgénico. Este fenómeno depende de los grupos funcionales de su estructura química, así como del acoplamiento del sistema anular (ciclopentanoperhidrofenantreno) del esteroide con su receptor (29), lo que puede traer como consecuencia un efecto específico. Analizando estos datos y los informes de otros investigadores (30), los cuales sugieren que los andrógenos pueden inducir su efecto sobre la presión sanguínea a través de un mecanismo genómico, en este trabajo se evaluó la posibilidad de que el hemisuccinato de danazol ejerciera su efecto sobre la presión de perfusión mediante este mecanismo molecular, usando como herramienta farmacológica a la flutamida que es un potente antagonista de receptores de andrógenos (31).



\* diferencia significativa (p ≤ 0,005)

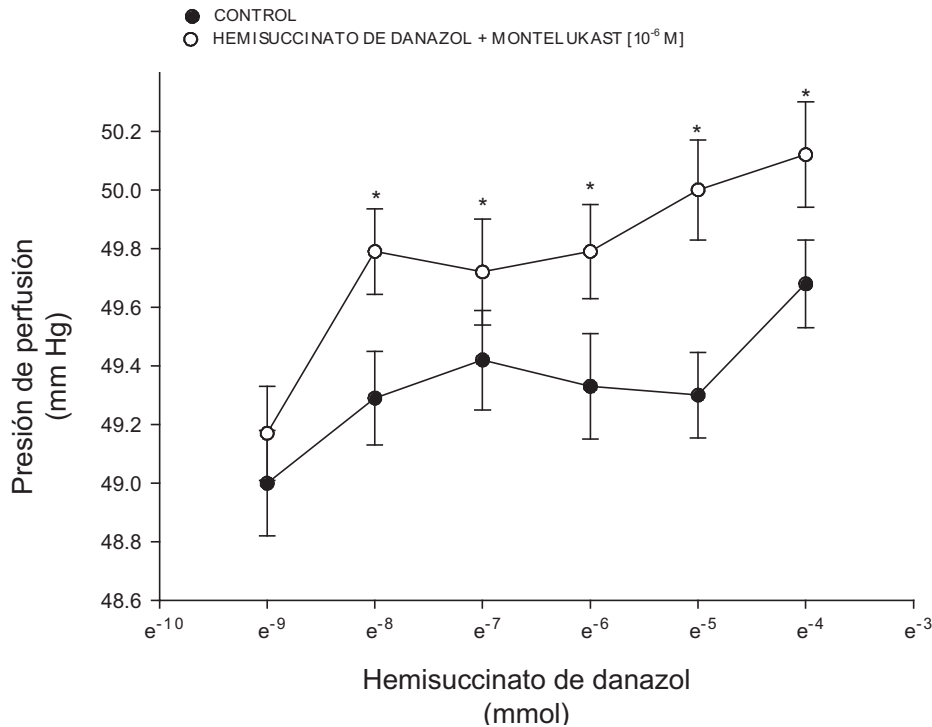
Figura 4. Evaluación del efecto del hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión en ausencia y en presencia de flutamida. Los efectos se observan en cada punto que expresa la media ± E.E.M. de 9 experimentos.



\* diferencia significativa (p ≤ 0,005)

Figura 5. Efecto del hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión mediado a través de canales de calcio. Los efectos se observan en cada punto que expresa la media ± E.E.M. de 9 experimentos.





\* diferencia significativa ( $p \leq 0,005$ )

Figura 6. Evaluación del efecto del hemisuccinato de danazol sobre la síntesis de receptores de LTD4. Los efectos se observan en cada punto que expresa la media  $\pm$  E.E.M., de 9 experimentos.

En este sentido, los resultados obtenidos por la aplicación de hemisuccinato de danazol a dosis de  $10^{-9}$  M a  $10^{-4}$  M (Figura 4), mostraron incrementos en la presión de perfusión, sin embargo en presencia de flutamida este efecto se vio parcialmente disminuido.

Estos datos sugirieron que el efecto inducido por el derivado de danazol sobre la presión de perfusión y la resistencia vascular, podría estar condicionado por otros mecanismos diferentes que no involucran receptores androgénicos. En este sentido, cabe mencionar que existen datos de los efectos que inducen algunos andrógenos sobre la presión de perfusión y que involucran a los canales de calcio (32) y consecuentemente ejercen su efecto sobre la presión sanguínea. Ante la posibilidad de que el hemisuccinato de danazol estuviera ejerciendo su efecto sobre la presión de perfusión a través de la activación de canales de calcio, en este trabajo fue evaluado el efecto del hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión en ausencia y en presencia de nifedipina [ $10^{-6}$  M] (antagonista de canales de calcio) (19). Los resultados mostraron que el efecto ejercido por el hemisuccinato de danazol en dosis de  $10^{-9}$  M a  $10^{-4}$  M sobre la presión de perfusión es inhibido parcialmente por la presencia de nifedipina. Estos datos indican que el análogo de danazol podría indirectamente tener influencia sobre los canales de calcio, lo que traería como consecuencia incrementos en el calcio intracelular y subsecuentemente

en el estado presor inducido por este derivado hormonal. Sin embargo, es importante señalar que el efecto inducido por el hemisuccinato de danazol no es inhibido totalmente por el antagonista del calcio, lo que supone que el efecto vasoconstrictor inducido por este análogo androgénico puede estar condicionado por la síntesis y/o liberación de alguna sustancia vasoconstrictora involucrada en la regulación del tono vascular (33). Para probar esto, en este trabajo se evaluó el efecto ejercido por el hemisuccinato de danazol en presencia y en ausencia del montelukast, un antagonista de receptores de LTD4 (20) sobre la presión de perfusión, para saber si este derivado androgénico pudiera tener influencia sobre la liberación y/o síntesis de LTD4. Los resultados indican que en presencia de montelukast, el efecto ejercido por el hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión disminuye significativamente ( $p=0,008$ ). Estos datos sugieren que el mecanismo molecular por el cual el hemisuccinato de danazol induce su efecto sobre la presión de perfusión podría ser a través de la activación de la vía de la síntesis de LTD4. Aquí cabe señalar que LTD4 ha sido asociado a efectos vasoconstrictores y a cambios en la presión sanguínea (34-36). Por lo tanto, los datos encontrados en este trabajo sugieren que el hemisuccinato de danazol podría condicionar variaciones en los niveles de LTD4 y, consecuentemente, cambios en la presión de perfusión.

## Conclusiones

Los resultados hallados en este trabajo hacen pensar que los efectos inducidos por el danazol y el hemisuccinato de danazol sobre la presión de perfusión y la resistencia vascular podrían depender de su estructura química. Este fenómeno podría involucrar la interacción del receptor de andrógenos e indirectamente la activación de la síntesis de LTD4 y, consecuentemente, inducir variaciones en la presión de perfusión.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Angélica León García por su valiosa colaboración.

### CORRESPONDENCIA

LAURO FIGUEROA V. PHD  
 Universidad Autónoma de Campeche  
 Av. Agustín Melgar, Col Buenavista  
 C.P.24030 CAMPECHE CAM., México  
*E-mail:* lauro\_1999@yahoo.com  
 Teléfono: (981) 8119800 Ext. 73006  
 Fax: (981) 8119800 Ext. 73002

## Referencias bibliográficas

- Oparil S, Zaman A, Calhoun A. Pathogenesis of hypertension. *Ann Intern Med* 2003; 139: 761-6.
- Mahoney L, Burns T, Stanford W. Coronary risk factors measured in childhood and young adult life are associated with coronary artery calcification in young adults. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 277-4.
- Sary HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arterioscler* 1989; 9: 119-32.
- Freeman D, O'Brien T, Flanders W, Destefano F, Barboriak J. Relation of serum testosterone levels to high density lipoprotein cholesterol and other characteristics in men. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 307-15.
- Khoury S, Yarows S, O'Brien T, Sowers R. Ambulatory blood pressure monitoring in a nonacademic setting: effects of age and sex. *Am J Hypertens* 1992; 5: 616-23.
- Barrett C, Khaw K. Endogenous sex hormones and cardiovascular disease in men. A prospective population-based study. *Circulation* 1988; 78: 539-45.
- Gray A, Berlin J, Mckinlay J, Longcope C. An examination of research design effects on the association of testosterone and male aging: results of a meta-analysis. *J Clin Epidemiol* 1991; 44: 671-84.
- Gray A, Feldman H, Mckinlay J, Longcope C. Age, disease, and changing sex hormone levels in middle-aged men: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 1016-25.
- Khaw K, Barrett C. Blood pressure and endogenous testosterone in men: an inverse relationship. *J Hypertens* 1988; 6: 329-32.
- Svartberg J, Muhlen D, Schirmer H, Barrett C, Sundfjord J, Jorde R. Association of endogenous testosterone with blood pressure and left ventricular mass in men. The Tromsø Study. *Eur J Endocrinol* 2004; 150: 65-71.
- Pears J, Sandercock P. Benign intracranial hypertension associated with danazol. *Scott Med J* 1990; 35: 49.
- Wu Y, Chen S, Li T, Liu J, Lan M, Chang Y. Intracranial hypertension associated with danazol withdrawal: a case report. *Acta Neurol Taiwan* 2007; 16: 173-6.
- Bretza J, Novey H, Vaziri N. Hypertension: a complication of danazol therapy. *Arch Intern Med* 1980; 140: 1379-80.
- Alvarado R, Liu J, Zwolak R. Danazol and limb-threatening arterial thrombosis: two case reports. *J Vasc Surg* 2001; 34: 1123-6.
- Ahn Y, Fernandez L, Kim C, Mylvaganam R. Danazol therapy renders red cells resistant to osmotic lysis. *FASEB J* 1989; 3: 157-62.
- Barbieri RL, Lee H, Ryan KJ. Danazol binding to rat androgen, glucocorticoid, progesterone, and estrogen receptors: correlation with biologic activity. *Fertil Steril* 1979; 31: 182-6.
- Kontula K, Seppanen P, Duyne P, Bardin C, Janne O. Effect of a nonsteroidal antiandrogen, flutamide, on androgen receptor dynamics and ornithine decarboxylase gene expression in mouse kidney. *Endocrinology* 1985; 116: 226-33.
- Henry PD. Comparative pharmacology of calcium antagonists: nifedipine, verapamil and diltiazem. *Am J Cardiol* 1980; 46: 1047-58.
- De Lepeleire I, Reiss T, Rochette F, Botto A, Zhang J. Montelukast causes prolonged, potent leukotriene D<sub>4</sub>-receptor antagonism in the airways of patients with asthma. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 61: 83-92.
- Figueroa-Valverde L, Luna H, Castillo-Henkel C, Muñoz-García O, Morato-Cartagena T, Ceballos-Reyes G. Synthesis and evaluation of the cardiovascular effects of two, membrane impermeant, macromolecular complexes of dextran-testosterone. *Steroids* 2002; 67: 611-9.
- Figueroa-Valverde L, Díaz-Cedillo F, Díaz-Ku E, Camacho-Luis A. Effect induced by hemisuccinate of pregnenolone on perfusion pressure and vascular resistance in isolated rat heart. *African J Pharm Pharmacol* 2009; 3: 234-41.
- Figueroa-Valverde L, Díaz-Cedillo F, López-Ramos M, Díaz-Ku E. Synthesis, characterization and anti-bacterial activity of danazol-pregnenolone conjugate. *Asian J Chem* 2009; 21: 6209-20.
- Jayo M, Cisneros F. Guide for the Care and Use of laboratory animals, Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C.: National Academy Press; 1996.



25. Ceballos G, Figueroa L, Rubio I, Gallo G, Garcia A, Martinez A, et al. Acute and nongenomic effects of testosterone on isolated and perfused rat heart. *J Cardio Pharmacol* 1999; 33: 691-97.
26. Figueroa L, Díaz F, Camacho A, Díaz E, Marín R. Actividad inducida por androsterona y hemisuccinato de androsterona sobre la presión de perfusión y la resistencia vascular. *Biomédica* 2009; 29(4). In press.
27. Hocht C, Opezzo J, Gorzalczy S, Bramuglia G, Tiara C. Una aproximación cinética y dinámica de metildopa en ratas con coartación aórtica mediante microdiálisis. *Rev Argent Cardiol* 1999; 67: 769-73.
28. Ely D, Salisbury R, Hadi D, Turner M, Johnson M. Androgen receptor and the testes influence hypertension in a hybrid rat model. *Hypertension* 1991; 17: 1104-10.
29. Wolff E, Ho W, Kwok R. The steroid-receptor complex. Some considerations based on sp<sup>2</sup>-hybridized systems. *J Med Chem* 1964; 7: 77-89.
30. Reckelhoff J, Zhang H, Srivastava K, Granger J. Gender differences in hypertension in spontaneously hypertensive rats. Role of androgens and androgen receptor. *Hypertension* 1999;34: 920-23.
31. Simard J, Luthy I, Guay J, Bélanger A, Labrie F. Characteristics of interaction of the antiandrogen flutamide with the androgen receptor in various target tissues. *Mol Cell Endocrinol* 1986; 44: 261-70.
32. Pugh P, Hugh J, Channer K. Acute haemodynamic effects of testosterone in men with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2003; 24: 909-15.
33. Vanhoutte P, Rubanyi G, Miller V, Houston D. Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Ann Rev Physiol* 1986; 48: 307-20.
34. Weichman B, Muccitelli R, Tucker S, Wasserman M. Effect of calcium antagonists on leukotriene D<sub>4</sub>-induced contractions of the guinea-pig trachea and lung parenchyma. *Pharmacol Exp Ther* 1983; 225: 310-5.
35. Berkowitz B, Zabko-Potapovich B, Valocik R, Gleason J. Effects of the leukotrienes on the vasculature and blood pressure of different species. *Pharmacol Exp Ther* 1984; 229: 105-12.
36. Michelassi M, Landa L, Hill R, Lowenstein E. Leukotriene D<sub>4</sub>: a potent coronary artery vasoconstrictor associated with impaired ventricular contraction. *Science* 1982; 217: 841-3.

**Aceptado para su publicación el 18 de agosto de 2009**