

Efecto del montelukast sobre la concentración de mediadores inflamatorios en el modelo de artritis gotosa murina.

Effect of montelukast on the concentration of inflammatory mediators in the murine gouty arthritis model.

Loida Ponce, Mariangélica Bermúdez, Jorgelin Miranda, Julie Verzura, Robert Tovar, José Corado

RESUMEN

El tratamiento de la artritis gotosa controla parcialmente la enfermedad con efectos secundarios importantes. El montelukast es un antagonista selectivo de los receptores de leucotrienos LTD₄, útil en el tratamiento de rinitis alérgica y asma bronquial. Investigaciones previas han reportado un potente efecto antiinflamatorio de montelukast en el modelo de artritis gotosa murina. Este estudio investigó el efecto de montelukast sobre la concentración de leucotrienos cisteinil y LTB₄, interleucina 6 (IL-6) e interleucina 12 (IL-12) en el exudado inflamatorio inducido por monourato sódico (MUS) en el modelo de la bolsa de aire. Veintiún ratones BALB/c fueron distribuidos en tres grupos (n: 7), control negativo de inflamación (A), control positivo de inflamación (B) y experimental (C). Antes de la inyección de MUS (5 mg/mL), en la bolsa de aire, los grupos C y B recibieron por vía oral 1mg/kg de montelukast y solución fisiológica respectivamente, el grupo A fue tratado con solución fisiológica por vía oral y en la bolsa de aire. A las 12 horas de haber inducido el proceso inflamatorio se determinó, por ELISA, la concentración de CistLT, LTB₄, IL-6 e IL-12 en el exudado obtenido de las bolsas de aire. Los resultados muestran que el montelukast disminuye significativamente ($p < 0,05$) las concentraciones de LTB₄, IL-6 e IL-12 en el exudado inflamatorio inducido por MUS, y aumenta significativamente ($p < 0,05$) las concentraciones de CistLT. Esto sugiere que la dosis empleada de montelukast posee un poderoso efecto antiinflamatorio con potencial beneficio en el tratamiento de la artritis gotosa.

Palabras clave: Modelo experimental de artritis gotosa, montelukast, mediadores inflamatorios.

ABSTRACT

Treatment of gouty arthritis partially controls the disease with significant side effects. Montelukast is a selective leukotriene receptor antagonist LTD₄, useful in the treatment of allergic rhinitis and bronchial asthma. Previous studies have reported a potent anti-inflammatory effect in the murine gouty arthritis model. This study investigated the effect of MK on the concentration of cysteinylleukotrienes and leukotriene B₄, interleukin 6 (IL-6) and interleukin 12 (IL-12) on inflammatory exudate induced by sodium monourate (SMU) in the air pouch model. Twenty one BALB/c mice were divided into three groups (n: 7), negative control of inflammation (A), positive control of inflammation (B), and experimental group (C). Before injection of MUS (5 mg / mL) into the air pouch, the C and B group received 1 mg / kg of oral montelukast and saline solution, respectively. The A group was treated with saline solution orally and in the air bag. At 12 hours after induction of the inflammatory process, the concentration of CistLT, LTB₄, IL-6 and IL-12 in the exudate obtained from the air pouch was determined by ELISA. Results showed that montelukast significantly ($p < 0.05$) decreased concentrations of LTB₄, IL-6 and IL-12 in MUS-induced inflammatory exudation, and significantly increased ($p < 0.05$) concentrations of CistLT. This suggests that the MK dose used has a powerful anti-inflammatory effect, and is potentially beneficial in the treatment of gouty arthritis.

Key words: experimental model of gouty arthritis, montelukast, inflammatory mediators.

INTRODUCCIÓN

La artritis gotosa es la forma más común de artritis en la población adulta. Se debe a un trastorno del metabolismo del ácido úrico, en el que participa el sistema inmunitario y se asocia con obesidad, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y renales, por lo tanto, su frecuencia es mayor a medida que se avanza en edad, con un alto impacto en la calidad de vida (1,2). El ácido úrico, cuando se sobesatura en la sangre, precipita en las articulaciones de las extremidades bajo la forma de cristales de monourato de sodio (MUS), que conducen al evento patogénico primario de la gota (3) caracterizado por una respuesta inflamatoria en la que participan numerosos mediadores como el complemento, las cininas, leucotrienos, interleucinas (IL) 1, 6, 8, 12, 18, factor de necrosis tumoral α (TNF α), prostaglandinas, enzimas lisosomales, radicales libres del oxígeno (ERO), colagenasas y proteasas (3-10). Las opciones para el tratamiento de la artritis gotosa, incluyen el alopurinol, agentes uricosúricos y, en las formas agudas, se adicionan los antiinflamatorios no esteroideos (AINES),

Unidad de Investigación en Inmunología (UNIVENIN).
Departamento de Ciencias Fisiológicas. Escuela
de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Facultad
de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo.
Valencia, Venezuela.

Autor de Correspondencia: Loida Ponce

E-mail: lponce68@hotmail.com

Recibido: 18-01-2016 **Aprobado:** 18-11-2016

como la indometacina (11) que actúa inhibiendo la acción de la enzima ciclooxigenasa (COX) que participa en la generación de los leucotrienos. Además, se utilizan la colchicina y los glucocorticoides (12-16). Estos esquemas terapéuticos sólo han logrado el control parcial de la enfermedad y producen efectos secundarios importantes que pueden afectar la calidad de vida (12-16).

Diversos ensayos clínicos han mostrado avances significativos en el tratamiento de enfermedades, en las cuales los leucotrienos tienen un rol patogénico, (asma, sinusitis, migraña, urticaria crónica) con drogas antagonistas o inhibitoras de la producción de leucotrienos (montelukast, zileuton, pranlukast, zafirlukast) (17).

Montelukast (MK) es un antagonista selectivo de los receptores del LTD₄, uno de los cisteinil leucotrienos (CisLTs), usado regularmente en el tratamiento de patologías como rinitis y asma bronquial, con excelentes resultados (18-20). Estudios previos, realizados por nuestro grupo de trabajo, demostraron que la administración de MK reduce significativamente el infiltrado celular, y produce una inversión del recuento diferencial con reducción significativa de los neutrófilos, en el proceso inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico (MUS), en el modelo húmedo de la bolsa de aire (Air Pouch) (21). Otros modelos clínicos y experimentales, realizados por diferentes grupos de investigación, sugieren que el efecto del MK es más amplio que el originalmente descrito, involucrando la inhibición de la enzima 5-lipooxigenasa (5-LO), de factores de transcripción y de citocinas proinflamatorias (22-26). Tomando en cuenta que los leucotrienos participan en el desarrollo de la inflamación estimulando diversas funciones celulares e induciendo la producción de citocinas proinflamatorias (27-29), se planteó investigar el efecto del MK sobre la concentración de CisLT (LTC₄, LTD₄ y LTE₄) y LTB₄ y de las citocinas proinflamatorias IL-6 e IL-12 en el modelo de inflamación, de la bolsa de aire, inducida por cristales de MUS en ratones BALB/c.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales de experimentación. 21 ratones BALB/c machos adultos de 10 semanas de edad, con un peso promedio de 25 gr, provenientes del Bioterio del Instituto de Biomedicina "Dr. Jacinto Convit", se mantuvieron bajo una dieta regular para roedores, *ad libitum*, bajo estrictas medidas de higiene y temperatura, y ciclos de luz y oscuridad. Los procedimientos quirúrgicos y los tratamientos en los animales fueron conducidos de acuerdo con el Código de Ética para la vida (30).

Protocolo y Diseño Experimental.

Creación de la cavidad subcutánea de aire (bolsa de aire) e inducción de la inflamación por inyección dorsal de monourato sódico (MUS). Se rasuró el dorso de los 21 ratones y, a cada uno, se le inyectó, por vía subcutánea, 5mL de aire estéril en la línea media. Tres días después se

inyectó, en las bolsas subcutáneas, 3mL de aire estéril en las mismas condiciones anteriormente descritas (31).

La población de ratones, así preparada, se dividió en un grupo control negativo de inflamación (A), un grupo control positivo de inflamación (B) y un grupo experimental (C). Trabajo previos muestran que la administración de dosis logarítmicas de Montelukast (Mk), reduce significativamente el infiltrado celular en el modelo húmedo inflamatorio de la bolsa de aire inducido por cristales de monourato sódico (MUS) durante 24 horas. Este efecto fue significativamente mayor con el empleo de 1 mg/Kg, y en este sentido se observó, que el efecto máximo del fármaco fue a las 12 horas de su administración, acompañado de una modificación del conteo celular diferencial en el cual disminuye significativamente el porcentaje de células polimorfonucleares, entre los cuales, se encuentran principalmente afectados los neutrófilos (21) implicados en la secreción de importantes moléculas proinflamatorias en la artritis gotosa (5-7). Es por ello que los grupos A y B recibieron, por vía oral, 100 µL solución fisiológica (SF) 0,9% y el grupo C recibió por vía oral 1 mg/kg de MK. Una hora después, se inyectó en la bolsa de aire, de los grupos B y C, 2mL de MUS (5mg/mL) (Figura 1), preparado de acuerdo al método Denko el cual consiste en diluir 4 gramos de ácido úrico en 800 ml de agua destilada y agregar posteriormente 49 mL de hidróxido de sodio a 1N. Esta solución se calentó a 60 °C por 1 hora y se ajustó el pH final a 7,4 con HCL 1 N (32). Al grupo A se le inyectó SF 0,9 %, en el mismo volumen. De acuerdo a lo señalado anteriormente, transcurridas 12 horas de la inyección de MUS o SF 0,9%, cada grupo fue anestesiado con éter para obtener la muestra del exudado presente en la cavidad subcutánea de aire y posteriormente fueron sacrificados por dislocación cervical.

Grupo control negativo de inflamación A	Grupo control positivo de inflamación B	Grupo experimental C
7 ratones Solución Fisiológica vía oral y en bolsa de aire	7 ratones Solución Fisiológica vía oral y MUS en bolsa de aire	7 ratones MK vía oral y MUS en bolsa de aire

Fig. 1. Tratamientos recibidos en el grupo control negativo (A) y positivo (B) de inflamación y en el grupo experimental (C). MUS: Monourato de sodio; MK: Montelukast

Recolección y procesamiento de las muestras. La bolsa de aire, de cada animal, se lavó con 1mL de solución isotónica de cloruro de sodio (0,9%). Las muestras del exudado obtenidas del lavado se centrifugaron a 1200 rpm, a 20°C, por 10 minutos. El botón celular fue resuspendido en 1 mL de buffer fosfato (PBS) y se hizo conteo celular usando hematoxilina-eosina en una cámara de Neubauer con un microscopio óptico (400 X). Para el cálculo, en números relativos (%), de los efectos celulares observados

se restaron los valores absolutos obtenidos en los grupos A y B del obtenido en el grupo control negativo (grupo C). El sobrenadante de cada una de ellas se almacenó a -70°C hasta el momento de la realización del bioensayo. Se determinó la viabilidad del precipitado celular con coloración Azul Tripano para garantizar el funcionamiento del modelo inflamatorio. Todas las determinaciones posteriores se realizaron una vez que se constató que la viabilidad celular era superior a 95%

Determinación de la concentración de citocinas (IL-6 e IL-12) y leucotrienos (CisLTs y LTB4) mediante ELISA. Las concentraciones de las citocinas IL-6 e IL-12 y leucotrienos LTB4 y CisLT en las muestras obtenidas de la cavidad subcutánea de los distintos grupos de ratones BALB/c fueron determinadas por medio de ensayos comerciales de ELISA tipo sándwich (Biosource Internacional, Immunoassay Kit. Camarillo, California) y de tipo competitiva (Cayman Chemical, USA), respectivamente.

Análisis estadístico. Los resultados de las concentraciones de IL-6 e IL-12 así como también las de CisLTs y LTB4 obtenidos, en cada grupo (n:7), fueron expresados como la media \pm 2DE. Se aplicó el test de Kolmogoroff Smirnov, para determinar la distribución de los datos. Debido a que fue normal, se aplicó la prueba t de Student para comparar las medias. Todo valor de $P < 0,05$ se consideró significativo.

RESULTADOS

La Figura 2 muestra el efecto del MK sobre el recuento celular absoluto del exudado inflamatorio inducido por MUS. El recuento celular absoluto del exudado inflamatorio ($5.366.667 \pm 350.298$ células/mL) del grupo B (MUS) fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que el grupo control negativo (solución fisiológica) de inflamación (75.000 ± 8.660 células/mL). Dicho recuento disminuyó significativamente ($p < 0,05$) en presencia de MK (grupo C) (166.667 ± 80.364 vs $5.366.667 \pm 350.298$ células/mL) lo que representa una reducción de 98,3% del número total de células del exudado. Se consideró que los sobrenadantes obtenidos del exudado inflamatorio en los diferentes grupos experimentales tenían las condiciones óptimas para la determinación de las concentraciones de los mediadores inflamatorios en estudio ya que, en todos los experimentos, la viabilidad celular fue superior a 95%.

La Figura 3 muestra el efecto del MK sobre la concentración de IL-6 en el exudado inflamatorio inducido por MUS. En presencia de MUS (grupo B), la concentración de IL-6 alcanzó, a las 12 horas, una media de $223 \pm 56,9$ pg/mL. El tratamiento con MK (grupo C) disminuyó significativamente ($p < 0,05$) dicha concentración ($32,6 \pm 14,6$ vs $223 \pm 56,9$ pg/mL) alcanzando una reducción de 100%. La concentración de IL-6 en presencia de MK fue similar ($p > 0,05$) a la observada en presencia de solución fisiológica (grupo A) ($32,6 \pm 14,6$ vs $39 \pm 2,4$ pg/mL $p > 0,05$).

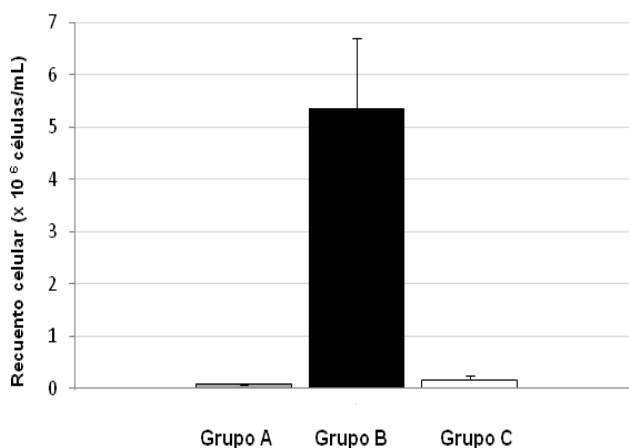


Fig. 2. Efecto del montelukast sobre el recuento celular absoluto del exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico en el Modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media \pm 2DE del recuento celular absoluto del exudado de 7 ratones BALB/c (n:7) del grupo B (inyección dorsal de monourato sódico) y solución fisiológica vía oral) del grupo A (solución fisiológica por vía oral e inyección dorsal) y del grupo C (administración de MK por vía oral e inyección dorsal de monourato sódico). B vs A y B vs C $P < 0,05$.

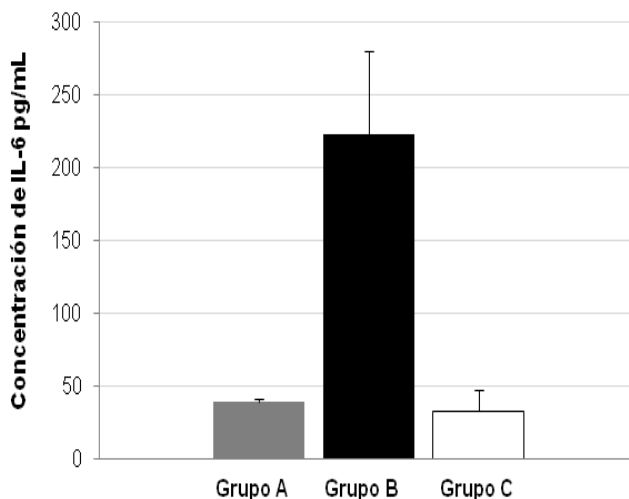


Fig. 3. Efecto del montelukast sobre la concentración de interleucina 6 (IL-6) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media \pm 2DE de la concentración (pg/mL) de IL-6 en el exudado de 7 ratones BALB/c (n:7) del grupo B (inyección dorsal de monourato sódico y solución fisiológica vía oral), del grupo A (solución fisiológica por vía oral e inyección dorsal) y del grupo C (administración de MK por vía oral e inyección dorsal de monourato sódico). B vs A y B vs C $P < 0,05$.

La Figura 4 muestra el efecto del MK sobre la concentración de IL-12 en el exudado inflamatorio inducido por MUS. La concentración de IL-12 en el exudado inflamatorio del grupo B (MUS) alcanzó un valor de $16 \pm 1,7$ pg/mL. La aplicación de MK (grupo C) disminuyó significativamente ($p < 0,05$) dicho valor ($5,4 \pm 3,7$ pg/mL vs $16 \pm 1,7$ pg/mL) lo que representó una reducción de 69,8% en la concentración de IL-6. Las concentraciones de IL-12 en presencia de MK (grupo C) y solución fisiológica (grupo A) ($0,8 \pm 0,7$ pg/mL) (control negativo de inflamación) fueron estadísticamente similares ($p > 0,05$).

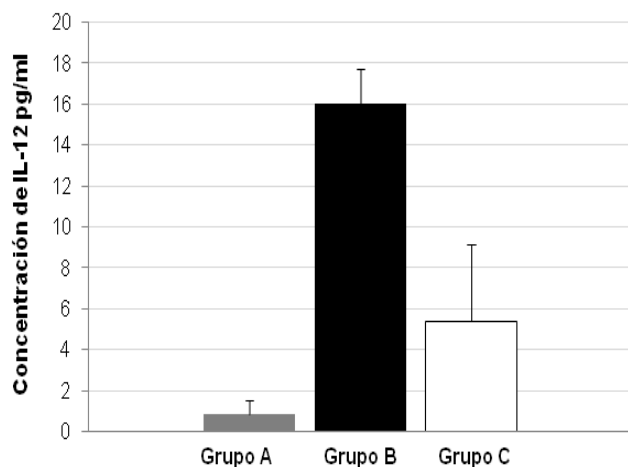


Fig. 4. Efecto del montelukast sobre la concentraci3n de Interleucina 12 (IL-12) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato s3dico de en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media \pm 2DE de la concentraci3n (pg/mL) de IL-12 en el exudado de 7 ratones BALB/c (n:7) del grupo B (inyecci3n dorsal de monourato s3dico y soluci3n fisiol3gica vía oral) del grupo A (soluci3n fisiol3gica por vía oral e inyecci3n dorsal) y del grupo C (administraci3n de MK por vía oral e inyecci3n dorsal de monourato s3dico). B vs A y B vs C $P < 0,05$.

La Figura 5 muestra el efecto del MK sobre la concentraci3n de LTB4 en el exudado inflamatorio inducido por MUS. La concentraci3n de LTB4 en el exudado inflamatorio del grupo B (MUS) mostr3 un valor de $39,4 \pm 4,4$ pg/mL. La administraci3n de MK (grupo C) redujo significativamente ($p < 0,05$) la concentraci3n de LTB4 ($24,5 \pm 9,1$ vs $39,4 \pm 4,4$ pg/mL) alcanzando una disminuci3n de 79,3%. Al comparar las concentraciones de LTB4 en el exudado inflamatorio de los grupos de ratones que recibieron MK (grupo C) y soluci3n fisiol3gica (grupo A) ($20,6 \pm 4,4$ pg/mL) no hubo diferencia estadísticamente significativa.

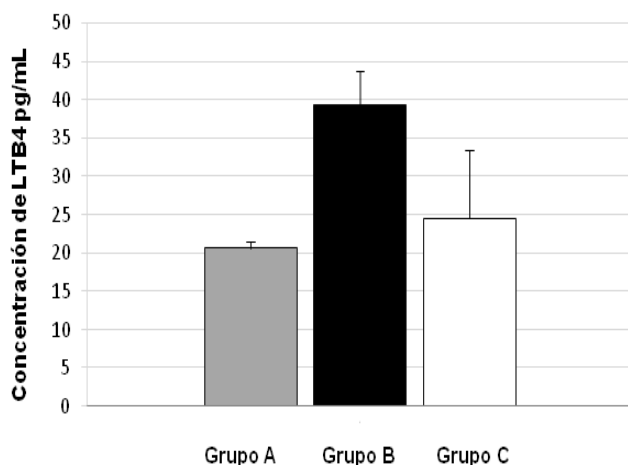


Fig. 5. Efecto del montelukast sobre la concentraci3n de Leucotrieno B4 (LTB4) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato s3dico en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media \pm 2DE de la concentraci3n (pg/mL) de LTB4 en el exudado de 7 ratones BALB/c (n:7) del grupo B (inyecci3n dorsal de monourato s3dico y soluci3n fisiol3gica vía oral) del grupo A (soluci3n fisiol3gica por vía oral e inyecci3n dorsal) y del grupo C (administraci3n de MK por vía oral e inyecci3n dorsal de monourato s3dico). B vs C y B vs A $P < 0,05$.

La Figura 6 muestra el efecto del MK sobre la concentraci3n de CisLT (LTC4, LTD4 y LTE4) en el exudado inflamatorio inducido por MUS. La concentraci3n de CisLT en el exudado inflamatorio del grupo B (MUS) fue 126 ± 44 pg/mL. En presencia de MK (grupo C) se observa una concentraci3n 5,9 veces mayor ($745,2 \pm 252,5$ vs 126 ± 44 pg/mL. $p < 0,05$) de cistLT que la observada en el grupo B (MUS). La concentraci3n de CisLT en presencia de MUS (grupo B) fue significativamente mayor (126 ± 44 vs $20,6 \pm 0,9$ pg/mL. $p < 0,05$) que la observada en presencia de soluci3n fisiol3gica (grupo A).

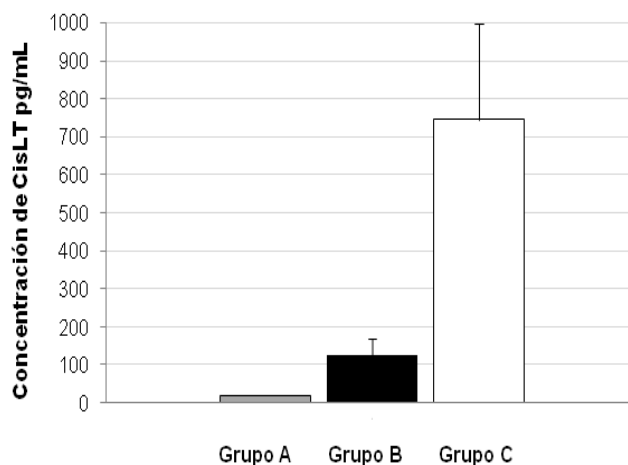


Fig 6. Efecto del montelukast sobre la concentraci3n de (CisLT) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato s3dico en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media \pm 2DE de la concentraci3n (pg/mL) de cisteinil leucotrienos en el exudado de 7 ratones BALB/c (n:7) del grupo B (inyecci3n dorsal de monourato s3dico y soluci3n fisiol3gica vía oral) del grupo A (soluci3n fisiol3gica por vía oral e inyecci3n dorsal) y del grupo C (administraci3n de MK por vía oral e inyecci3n dorsal de monourato s3dico). B vs A y B vs C $P < 0,05$.

DISCUSI3N

En el presente trabajo se estudi3 el efecto del MK, sobre las concentraciones de IL-6, IL-12, LTB4 y CistLT entre los cuales figura el LTD4, en el modelo de la bolsa de aire de artritis gotosa mérida, con el prop3sito de comprender los mecanismos antiinflamatorios de este fármaco en dicho modelo que involucran, además del efecto antag3nico de leucotrienos, la síntesis de interleucinas y otros mediadores de la inflamaci3n.

Los resultados muestran que la administraci3n previa de MK, por vía oral, en los ratones que se induce el un proceso inflamatorio, disminuye de manera significativa las concentraciones de IL-6, IL-12 y LTB4, importantes en el desarrollo de la fisiopatología causada por el dep3sito de cristales de monourato s3dico especialmente LTB4 (8), debido a que es un potente agente quimioatrayente de los neutr3filos, que facilita la interacci3n de estas células con el endotelio y potencia su agregaci3n y degranulaci3n, en el lugar del dep3sito de los cristales de monourato s3dico, promoviendo la liberaci3n de enzimas lisosomales, ERO activaci3n factores de transcripci3n y producci3n de diversas

moléculas proinflamatorias, entre las cuales figuran la IL-12 así como también la IL6, que participa en la destrucción ósea (7-10). Sin embargo el montelukast aumenta las concentraciones de CistLT, en el exudado inflamatorio, lo que sugiere que el efecto antiinflamatorio de este fármaco no se limita a la inhibición competitiva del receptor de LTD4, lo cual condiciona el aumento de las concentraciones de CistL (LTD4, LTA4 y LTE4) en el exudado inflamatorio en ratones que recibieron MK. Así mismo, otros modelos clínicos o experimentales muestran que el MK disminuye el recuento de polimorfonucleares (21), eosinófilos (22), y la quimiotaxis de monocitos (33), así como también, la síntesis y generación de IL-6, IL-12, TNF α , IL-8, MCP-1, IL-17 (23-25) e inhibe la actividad del factor de transcripción nuclear NF-KB y de la proteína quinasa MAPKp38, fundamentales en los procesos inflamatorios (23-25). Dicho efecto parece estar relacionado con la inhibición, por parte de MK, de la actividad de la enzima 5 lipooxigenasa (5-LO) (26), que además de estar involucrada en la producción de LTB4, participa junto a este último, en la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO). Estos últimos mediadores inflamatorios, por sí mismos, participan en el control de la actividad de NF-KB y MAPKp38 mencionados anteriormente, sobre diferentes tipos de células sometidas a diferentes estímulos antigénicos (27-29). Adicionalmente, se ha reportado que MK inhibe, de manera dependiente de la dosis, la generación de ERO, LTB4, elastasa y, sobre todo, induce aumento de adenosin monofosfato cíclico (AMPc) y disminución de Ca²⁺ intracitoplasmático en neutrófilos (34-35). Estos segundos mensajeros, como se sabe, tienen a su vez un amplio espectro regulador de la respuesta inmunitaria, debido a que modulan la producción de citocinas, enzimas y factores de transcripción relacionados con la síntesis de mediadores proinflamatorios (36-39). En este aspecto, se sabe que la enzima fosfodiesterasa (PDE) participa en la hidrólisis y disminución de la concentración del AMPc intracelular durante la cascada de señalización celular (37,38), lo que permitiría plantear la posibilidad de que el efecto farmacológico del MK, en el modelo experimental utilizado, se deba a una inhibición de la actividad de la enzima fosfodiesterasa (PDE). Esto traería como consecuencia, junto a la disminución del LTB4, que sea afectada la producción de ERO y factores de transcripción que participan en la síntesis y generación de IL-6 e IL-12 cuya concentración se observa muy disminuida (70 a 100% de reducción) por la administración de MK en el modelo experimental de artritis gotosa. Esto proporciona información adicional sobre los mecanismos antiinflamatorios de acción de este fármaco.

El conjunto de estos hallazgos permiten concluir que el MK, en el modelo murino de artritis gotosa, muestra un gran efecto antiinflamatorio con potencial beneficio en el tratamiento, no solamente de enfermedades alérgicas, sino también en otras enfermedades inflamatorias como la artritis gotosa. Además, es un medicamento que tiene pocos efectos secundarios lo que facilitaría un mejor control terapéutico de dichas enfermedades.

Agradecimientos. Los autores agradecen a todo el personal investigador así como al personal técnico de la Unidad de Investigaciones en Inmunología (UNIVENIN) por el apoyo prestado durante la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Grassi W, De Angelis R. Clinical features of gout. *Reumatismo* 2011; 63 (4):238-45.
2. Tausche A, Jasen T, Schroder , Bornstein SR, Aringer M, Muller-Lanner U. Gout-Current Diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106(34-35): 549-555.
3. Chilappa C, Aronow W, Shapiro D, Sperber K, Palet U, Ceniza J. Gout and hyperuricemia. *Compr Ther* 2010; 36: 3-13.
4. Martínón F, V Petrilli , Tardivel A , J Tschopp . Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 2006; (7081):237-241.
5. Gonzales EB. An update on the pathology and clinical management of gouty arthritis. *Clin Rheumatol* 2012; 31(1):13-21.
6. Cronstein B, Sunkureddi P. Mechanistic aspects of inflammation and clinical management of inflammation in acute gouty arthritis. *J Clin Rheumatol* 2013; 19(1):19-29.
7. Ea H. Mechanism of gout inflammation. *Presse Med* 2011; 40:836-843.
8. Rae SA, Davidson E, Smith M. Leukotriene B4, an inflammatory mediator in gout. *Lancet* 1982; (8308):1122-1124.
9. Inokuchi T, Moriwaki Y, Tsutsui H, Yamamoto A, Takahashi S, Tsutsumi Z, et al. Plasma interleukin (IL)-18 (interferon-gamma-inducing factor) and other inflammatory cytokines in patients with gouty arthritis and monosodium urate monohydrate crystal-induced secretion of IL-18. *Cytokine* 2006; 33(1):21-27.
10. Pérez S. Inmunopatogenia de la gota. *Rev Chil Reumatol* 2008; 24 (3): 133-137.
11. Perez F, Calabozo M, Piojoan J, Herre A, Rubial A. Effect of urate-lowering therapy on the velocity of size reduction of tophus in chronic gout. *Arthritis Rheum* 2002; 47 (4): 356-360.
12. Ahern M, Reid C, Gordon T, McCredie M, Brooks PM, Jones M: Does Colchicine work? The results of the first controlled study in acute gout. *Aust N Z J Med* 1987; 17:301-304.
13. Dalbet h N, Lauterio T, Wolfe H. Mechanism of action of colchicine in the treatment of gout. *Clin Ther* 2014; 36 (10):1465-1479.
14. Sutaria S, Katbamna R, Underwood M: Effectiveness of interventions for the treatment of acute and prevention of recurrent gout- a systematic review. *Rheumatology* 2006; 45:1422-1431.
15. Janssens H, Janssen M, van de Lisdonk E, van Riel P, van Weel C: Use of oral prednisolone or naproxen for the treatment of gout arthritis: a double-blind, randomized equivalence trial. *Lancet*: 2008; 371: 1854-1860.
16. Robinson P, Horsburgh S. Gout: joints and beyond, epidemiology, clinical features, treatment and co-morbidities. *Maturitas* 2014; 78(4):245-251.
17. Riccioni G, Di Ilio C, Conti P, Theoharides T, D'orazio N. Advances in therapy with antileukotriene drugs. *Ann Clin Lab Sci* 2004; 34 (4):379-387.

18. Jones T, Labelle M, Chamion E, Charette L, Evans J, Ford-Hutchinson AW, et al., Pharmacology of montelukast sodium (Singulair tm), a potent and selective leukotriene D4 receptor antagonist. *Can J Physiol Pharmacol* 1995; 73(2):191-201.
19. Paggiaro P, Bacci E. Montelukast in asthma: a review of its efficacy and place in therapy. *Ther Adv Chronic Dis* 2011; 2(1):47-58.
20. Pacheco Y, Freymond N, Devouassoux G. Impact of montelukast on asthma associated with rhinitis, and other triggers and co-morbidities. *J Asthma* 2014; 51(1):1-17.
21. Ponce L, Arjona M, Blanco G, Alvarez S, Arcila E, Ortega A, et al., The effect of montelukast in a model of gouty arthritis induced by sodium monourate crystals. *Invest Clin* 2011; 52(1):15-22.
22. Wu SH, Liao PY, Chen XQ, Yin PL, Dong L. Add-on therapy with montelukast in the treatment of Henoch Schonlein Purpura. *Pediatr Int* 2014; 56 (3):315-322.
23. Maeba S, Ichiyama T, Ueno Y, Makata H, Matsubara T, Furukawa S. Effect of montelukast on nuclear factor kappaB activation and proinflammatory molecules. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94 (6):670-674.
24. Tahan F, Jazrawi E, Moodley T, Rovati G, Adcock I. Montelukast inhibits tumour necrosis factor-alpha-mediated interleukin-8 expression through inhibition of nuclear factor kappa B p65 associated histone acetyltransferase activity. *Clin Exp Allergy* 2008; 38 (5):805-811.
25. Zhou C, Shi X, Huang H, Zhu Y, Wu Y. Montelukast attenuates neuropathic pain through inhibiting p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B in a rat model of chronic constriction injury. *Anesth Analg* 2014; 118(5):1090-1096.
26. Ramirez R, Caiaffa MF, Tursi A, Haeggstrom J, Macchia L. Novel inhibitory effect on 5.lipoxygenase activity by the antiasthma drug montelukast. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 324 (2):815-821.
27. Zhao Y, Wang W, Wang Q, Zhang X, Ye L. Lipid metabolism enzyme 5-LOX and its metabolite LTB4 are capable of activating transcription factor NF-κB in hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 418(4):647-651.
28. Sánchez G, Gómez H , Vidal C, Martín V, Blanco C, Muñoz G, et al., Leukotriene B4 enhances the activity of nuclear factor-kappaB pathway through BLT1 and BLT2 receptors in atherosclerosis. *Cadiovasc Res* 2009; 1;81(1):216-225.
29. Corsini E, Galbiati V, Nikitovic D, Tsatsakis A. Role of oxidative stress in chemical allergens induced skin cells activation. *Food Chem Toxicol* 2013; 61:74-81.
30. Pérez E, Villalón M, Barreto G, Borges P, Mendoza R. Normas para la utilización de animales en investigación. Código de ética para la vida 2011; 61-67
31. Edwards J, Sedgwick A, Willoughby D. The formation of a structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an *in vivo* tissue culture system. *J Phatol* 1980; 134:147-156.
32. Denko CW, Whitehouse MW. Experimental inflammation induced by natural occurring microcrystalline salts. *J Rheumatol* 1976; 3:54-57.
33. Hung CH, Li CY, Hua YM, Chen CJ, Yang KD, Jonq YJ. Effects of leukotriene receptor antagonists on monocyte chemotaxis, p38 ana cytoplasmic calcium. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17 (4):250-258.
34. Anderson R, Theron AJ, Gravett CM, Steel HC, Tintiger GR, Feldman C. Montelukast inhibits neutrophil pro-inflammatory activity by a cyclicAMP-dependent mechanism. *Br J Pharmacol* 2009; 156 (1):105-115.
35. Gravett C, Theron A, Steel H, Tintiger G, Cockeran R, Feldman C, et al., Interactive inhibitory effects of formoterol and montelukast on activated human neutrophils. *Eur Respir J* 2010; 36 (6):1417-1424.
36. Moore A, Willoughby D. The role of cAMP regulation in controlling inflammation. *Clin. Exp.Immunol* 1995; 101, 387-389.
37. Guyton A, Hall J. Introducción a la endocrinología. En: Guyton A. Fisiología Médica. Elsevier España. 2011 12a Edición. 34: 881-893.
38. Gerlo S, Verdood P, Kooijman R. Modulation of cytokine production by cyclic adenosine monophosphate analogs in human leukocytes. *J Interferon Cytokine Res*: 2010; 30:883-891.
39. Rueda C, Velilla P, Rojas M, Rugeles M. AMPc: una molécula clave en los eventos de regulación inmune y en el control de la replicación del VIH. *Infectio*. 2012; 16 (1): 59-71