ARTÍCULO

Salus

Rev. Salus.UC. 20(3):12-17.2016

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

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 múrida. 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.

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

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 sobresatura 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 (TNFα), 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),

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 inhibidoras 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 múrido 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 múrido 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 contaje 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 -70ºC 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 56,9 pg/mL. El tratamiento con MK (grupo C) disminuyó significativamente (p<0,05) dicha concentración (32,6 ± 14,6 vs 223 ± 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 ± 14,6 vs 39 ±2,4 pg/mL p >0,05).

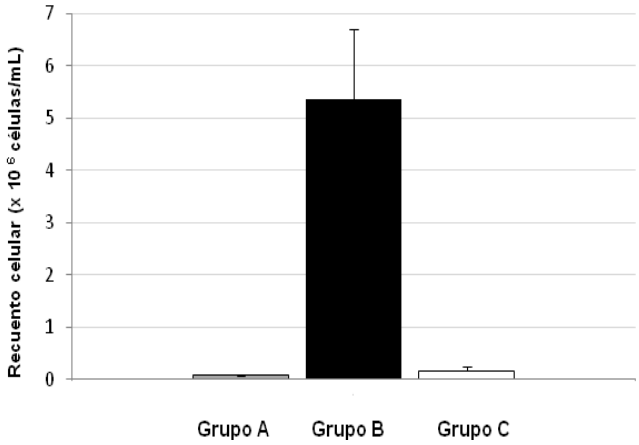

Fig. 2. Efecto del montelukast sobre el recuento celular absoluto del exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico en el Modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media ± 2DE del recuento celular absoluto del exudado de 7 ratones BALB/c (n:7) del grupo 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.

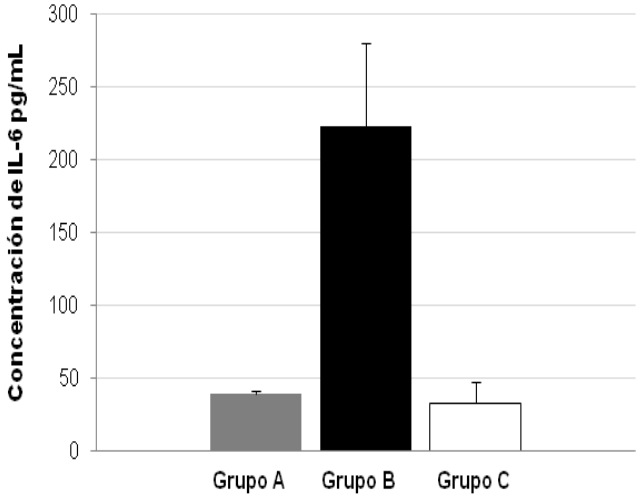

Fig. 3. Efecto del montelukast sobre la concentración de interleucina 6 (IL-6) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media ± 2DE de la concentración (pg/mL) de IL-6 en el exudado de 7 ratones 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 ± 1,7 pg/mL. La aplicación de MK (grupo C) disminuyó significativamente (p<0,05) dicho valor (5,4 ± 3,7 pg/mL vs 16 ± 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 ± 0,7 pg/mL) (control negativo de inflamación) fueron estadísticamente similares (p >0,05).

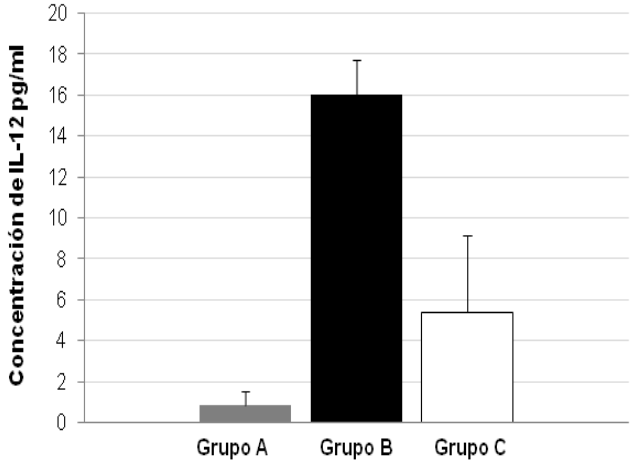

Fig. 4. Efecto del montelukast sobre la concentración de Interleucina 12 (IL-12) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico de en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media ± 2DE de la concentración (pg/mL) de IL-12 en el exudado de 7 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 5 muestra el efecto del MK sobre la concentración de LTB4 en el exudado inflamatorio inducido por MUS. La concentración de LTB4 en el exudado inflamatorio del grupo B (MUS) mostró un valor de 39,4 ± 4,4 pg/mL. La administración de MK (grupo C) redujo significativamente (p<0,05) la concentración de LTB4 (24,5 ± 9,1 vs 39,4 ± 4,4 pg/mL) alcanzando una disminución de 79,3%. Al comparar las concentraciones de LTB4 en el exudado inflamatorio de los grupos de ratones que recibieron MK (grupo C) y solución fisiológica (grupo A) (20,6 ± 4,4 pg/mL) no hubo diferencia estadísticamente significativa.

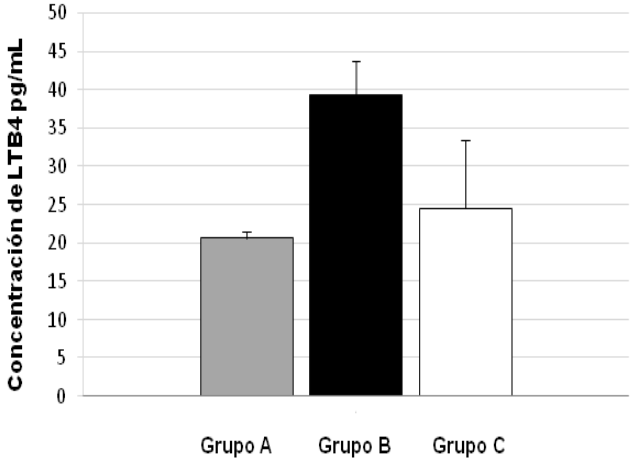

Fig. 5. Efecto del montelukast sobre la concentración de Leucotrieno B4 (LTB4) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media ± 2DE de la concentración (pg/mL) de LTB4 en el exudado de 7 ratones 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 C y B vs A P< 0,05.

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

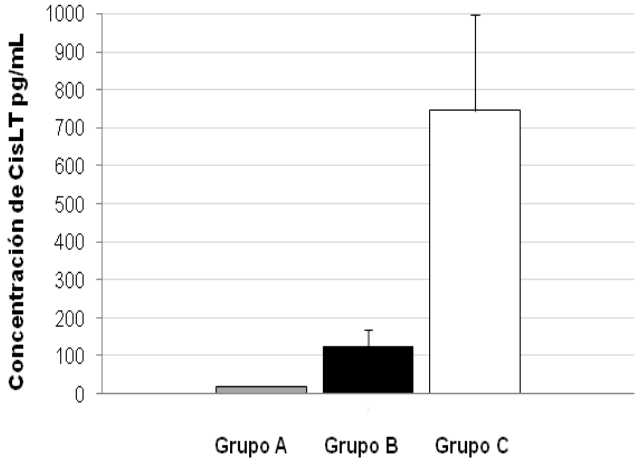

Fig 6. . Efecto del montelukast sobre la concentración de (CisTL) en el exudado inflamatorio inducido por cristales de monourato sódico en el modelo de la bolsa de aire en ratones BALB/c. Histogramas representan la media ± 2DE de la concentración (pg/mL) de cisteinil leucotrienos en el exudado de 7 ratones 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.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se estudió el efecto del MK, sobre las concentraciones de IL-6, IL-12, LTB4 y CistL entre los cuales figura el LTD4, en el modelo de la bolsa de aire de artritis gotosa múrida, con el propósito de comprender los mecanismos antiinflamatorios de este fármaco en dicho modelo que involucran, además del efecto antagónico de leucotrienos, la síntesis de interleucinas y otros mediadores de la inflamación.

Los resultados muestran que la administración 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 depósito de cristales de monourato sódico especialmente LTB4 (8), debido a que es un potente agente quimioatrayente de los neutrófilos, que facilita la interacción de estas células con el endotelio y potencia su agregación y degranulación, en el lugar del depósito de los cristales de monourato sódico, promoviendo la liberación de enzimas lisosomales, ERO activación factores de transcripción y producción 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, TNFα, IL-8, MCP-1, IL-17 (23-25) e inhibe la actividad del factor del 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 antiiflamatorios de acción de este fármaco.

El conjunto de estos hallazgos permiten concluir que el MK, en el modelo múrido 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. Martinón 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 trophy in chronic gout. Arthritis Rheum 2002; 47 (4): 356-360.
12. Aherm 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 whith 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 ChemToxicol 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 linning 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 cyclic AMP-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