

Interleucina-10 y enfermedad coronaria

Ruth Pérez Fernández y Juan Carlos Kaski

Coronary Artery Disease Research Unit. Cardiological Sciences. St. George's Hospital Medical School. Londres. Reino Unido.

Los conocimientos actuales de la fisiopatología de la aterosclerosis divergen marcadamente de los de las últimas décadas. Hoy día se acepta de manera generalizada que la inflamación desempeña un papel fundamental en el desarrollo y progresión de las lesiones ateroscleróticas, condicionando la aparición de manifestaciones clínicas en la evolución. El estudio histopatológico de las lesiones ateroscleróticas revela la presencia de células inflamatorias (linfocitos T y macrófagos activados), así como de abundantes citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , INF- γ , etc.), que modulan la respuesta inflamatoria local, alterando la estabilidad de la placa y favoreciendo el desarrollo de acontecimientos cardiovasculares agudos. Sin embargo, el papel de las citocinas antiinflamatorias no ha sido tan bien estudiado. La IL-10 es una citocina antiinflamatoria capaz de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos, así como otras funciones inflamatorias de estas células. Su presencia ha sido demostrada en las placas ateroscleróticas humanas y se ha objetivado en estudios de experimentación animal que los bajos valores de IL-10 condicionan el desarrollo de lesiones ateroscleróticas más extensas y morfológicamente más inestables. Las evidencias disponibles en la actualidad sugieren un potencial papel protector de la IL-10 en el desarrollo de la aterosclerosis. Este nuevo enfoque de la enfermedad coronaria como una enfermedad inflamatoria crónica puede abrir en el futuro nuevos caminos para la investigación en el campo de la cardiopatía isquémica.

Palabras clave: *Inflamación. Aterosclerosis. Interleucina-10.*

Interleukin-10 and Coronary Disease

Understanding of the pathophysiology of atherosclerosis has changed markedly over the past few decades. It is now widely accepted that inflammation plays a fundamental role in the genesis and development of atherosclerosis. Inflammatory mechanisms also appear to determine clinical presentation and disease outcome. Atherosclerotic lesions have high concentrations of inflammatory cells (T lymphocytes and activated macrophages) as well as an abundance of pro-inflammatory cytokines [interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8, interferon- γ , tumor necrosis factor- α , etc.] that modulate local inflammatory responses. These may also alter plaque stability and facilitate the development of acute cardiovascular events. The role of anti-inflammatory cytokines in this context remains to be studied. IL-10 is an anti-inflammatory cytokine synthesised by T-lymphocytes and macrophages and has other anti-inflammatory effects. IL-10 expression within human atherosclerotic plaques has been demonstrated and animal experiments have shown that low levels of IL-10 lead to the development of extensive and unstable atherosclerotic lesions. Currently available evidence suggests a potential protective role for IL-10 in atherosclerosis. This new perspective on coronary disease as a chronic inflammatory process may open new avenues for the management of ischemic heart disease.

Key words: *Inflammation. Atherosclerosis. Interleukin-10.*

INTRODUCCIÓN

La enfermedad arterial coronaria (EAC) es una afección de alta prevalencia en las sociedades industrializadas y una de las más importantes causas de morbilidad y mortalidad en las mismas^{1,2}. El proceso subyacente

en la EAC es la aterosclerosis y actualmente se acepta que se trata de una enfermedad inflamatoria crónica de la pared arterial³⁻⁵. La presentación clínica más severa de este proceso es el síndrome coronario agudo (angina inestable e infarto [IAM])⁶⁻⁸, que ocurre secundariamente a la oclusión de las arterias coronarias enfermas.

El estudio histológico de las placas ateroscleróticas revela la presencia de una progresiva infiltración y acumulación de lípidos, células inflamatorias (monocitos/macrófagos, linfocitos T), células musculares lisas (CML) y de matriz extracelular en la pared^{1,2}.

La identificación de células inflamatorias en las lesiones ateroscleróticas, así como de factores del com-

Correspondencia: Dr. Prof. J.C. Kaski.
Head of Coronary Artery Disease Research Unit.
Cardiological Sciences, St. George's Hospital Medical School.
Cranmer Terrace, London SW17 0RE.
Correo electrónico: jkaski@sghms.ac.uk

ABREVIATURAS

CID: coagulación intravascular diseminada.
 CML: célula muscular lisa.
 CMV: citomegalovirus.
 COX-2: ciclooxigenasa 2.
 CPA: células presentadoras de antígeno.
 DE: disfunción endotelial.
 ADN: ácido desoxirribonucleico.
 EAC: enfermedad arterial coronaria.
 FT: factor tisular.
 G-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos.
 GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos.
 HSV: virus herpes simple.
 IAM: infarto agudo de miocardio.
 ICAM-1: molécula 1 de adhesión intracelular.
 IL: interleucina.
 INF- γ : interferón g.
 INOS: óxido nítrico sintetasa inducible.
 LDL: lipoproteínas de baja densidad.
 LDL-MM: LDL mínimamente oxidadas.
 LDL-ox: LDL oxidadas.
 LPS: lipopolisacárido.
 MCH-II: moléculas del complejo de histocompatibilidad tipo II.
 MCP-1: proteína 1 quimiotáctica de monocitos.
 M-CSF: factor estimulante de colonias de monocitos.
 MEC: matriz extracelular.
 MMP: metaloproteasas.
 NF- κ B: factor nuclear kb.
 NO: óxido nítrico.
 PCR: proteína C reactiva.
 PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
 PGI₂: prostaglandina I₂.
 ARNm: ácido ribonucleico mensajero.
 TIMP: inhibidor tisular de metaloproteasas.
 Th1: células T Helper tipo 1.
 TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa.
 VCAM-1: molécula 1 de adhesión vascular.
 VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

plemento, inmunoglobulinas, citocinas^{3,9}, etc., implica una participación del sistema inmunológico en la aterogénesis. Durante esta reacción inflamatoria se producen una gran cantidad de citocinas por los macrófagos y las células T activadas presentes en la placa³, encargadas de modular la respuesta inflamatoria. Éstas pueden alterar la estabilidad de la placa y favorecer el desarrollo de acontecimientos agudos³. Sin embargo, el modo en que esta respuesta inmunológica local y/o sistémica se inicia y se propaga para dar origen o favorecer el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas aún no ha sido completamente aclarado.

Numerosos estudios de experimentación en animales alimentados con dietas ricas en colesterol han demostrado que la inmunosupresión provoca el desarrollo de lesiones ateroscleróticas más extensas y severas en los mismos comparados con los controles¹⁰⁻¹².

En los últimos años, múltiples trabajos científicos han destacado el papel que las células del sistema inmunológico (monocitos, linfocitos, etc.) y las citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ , etc.)^{3,13-17} desempeñan en el desarrollo de la aterosclerosis. Sin embargo, se dispone de pocas evidencias acerca del potencial papel de las citocinas antiinflamatorias en este proceso.

El objetivo de este artículo es revisar los conocimientos de los que actualmente disponemos acerca del potencial papel protector que las citocinas antiinflamatorias, en concreto la interleucina 10 (IL-10), desempeñan en la patogenia y desarrollo de las lesiones ateroscleróticas.

FISIOPATOLOGÍA DE LA ATROSCLEROSIS

El desarrollo de las lesiones ateroscleróticas es un proceso que se inicia alrededor de la segunda o tercera décadas de la vida del individuo, y en el que se pueden diferenciar varias etapas, a través de las cuales la composición de la placa aterosclerótica va progresivamente cambiando hasta adquirir la morfología de una placa madura.

La disfunción endotelial

El primer acontecimiento en el desarrollo de la aterosclerosis es la aparición de la disfunción endotelial (DE)^{3,18-21}. El endotelio desempeña un importante papel en la conservación del equilibrio de la función del lecho vascular. Tiene un papel regulador del tono vasomotor mediante la producción de sustancias vasodilatadoras, como el óxido nítrico (NO) y la prostaciclina (PGI₂), y vasoconstrictoras, como la endotelina 1 y la angiotensina II²². Posee, además, propiedades antiaterogénicas (antiagregante, antiadhesiva, antiproliferativa y antioxidante) y antiinflamatorias, segregando sustancias quimiotácticas de monocitos y linfocitos, así como moduladoras del crecimiento vascular²³⁻²⁶.

Las causas de la DE que favorecen el desarrollo de la aterosclerosis son múltiples, incluyendo entre ellas la presencia de elevados valores de LDL modificadas (LDL-ox, LDL-MM); radicales libres; sustancias inmunorreguladoras (TNF- α , IL-1 β , LPS); microorganismos infecciosos (HSV, *Chlamydia*, CMV, etc.); alteraciones genéticas; valores séricos elevados de homocisteína, y factores de riesgo clásicos (hipertensión, diabetes, tabaquismo)^{27,28}.

La disfunción endotelial conlleva una pérdida de las funciones homeostáticas del endotelio, que resulta en la adhesión de plaquetas y células inflamatorias (monoci-

tos y linfocitos T) a la pared vascular²⁷; un aumento de la permeabilidad endotelial que permite el depósito de LDL modificadas a nivel intimal²⁹; una liberación de citocinas y factores de crecimiento que producen la proliferación de las células musculares lisas, y la atracción de más células de estirpe inflamatoria a la pared arterial alterada²⁷. También trae como consecuencia una perturbación del equilibrio trombolítico-trombótico en el lecho endotelial que promueve el desarrollo de fenómenos trombóticos, así como una regulación anormal del tono vasomotor, secundaria a una menor biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), con la subsiguiente tendencia a la vasoconstricción arterial^{30,31}.

El papel de las lipoproteínas de baja densidad (cLDL). La formación de la estría grasa

El primer cambio histopatológico detectable en las fases iniciales de la aterosclerosis es la acumulación de partículas de cLDL en el espacio subintimal³². Estas LDL sufren un proceso de oxidación que activa al endotelio favoreciendo el desarrollo de la placa aterosclerótica^{33,34}. Las LDL modificadas (oxidadas) inducen la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1)³⁵ y la síntesis de factores quimiotácticos de monocitos y linfocitos (MCP-1) por las células endoteliales. Esto favorece la unión de los monocitos y linfocitos circulantes al endotelio disfuncionante y la posterior migración de estas células al espacio subendotelial, promoviendo, al mismo tiempo, la diferenciación de los monocitos a macrófagos^{3,36}. Las LDL oxidadas también alteran la producción de radicales libres y NO, favoreciendo el estrés oxidativo^{3,36,37} en la pared arterial, e incrementan la apoptosis de las células endoteliales³⁸.

Los monocitos atraídos al endotelio disfuncionante por los factores quimiotácticos liberados se adhieren al mismo por medio de las moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1) expresadas por las células endoteliales dañadas, se internalizan en el espacio subendotelial y maduran a macrófagos, los cuales captan las LDL-ox para transformarse en células espumosas, iniciándose así la formación de la «estría grasa»³.

Estas células cargadas de lípidos producen radicales libres para la oxidación de más partículas de LDL y liberan nuevas citocinas para la atracción de más monocitos y linfocitos al endotelio disfuncionante y para la migración y proliferación de células musculares lisas en la íntima^{34,39-41}. Estos procesos autopropetúan el mecanismo que favorece el desarrollo y la progresión de la placa aterosclerótica.

Vulnerabilidad de la placa aterosclerótica

Las placas de ateroma son una estructura dinámica, donde existe un equilibrio entre la influencia destructiva de las células inflamatorias y el efecto estabilizante de las células musculares lisas^{6,42}. Estas últimas son las

encargadas de sintetizar las proteínas de la matriz extracelular, principal componente de la cubierta fibrosa de las placas ateroscleróticas, que confiere estabilidad a la lesión³⁶. En las placas ateroscleróticas existe un equilibrio entre los procesos de síntesis y degradación de colágeno, que están estrechamente controlados por los mediadores de inflamación y regulan el contenido del mismo en las lesiones ateroscleróticas⁴³.

Las placas vulnerables (con tendencia a la rotura) se caracterizan por presentar un núcleo con un alto contenido lipídico, una elevada infiltración de células inflamatorias (macrófagos y linfocitos T), pocas células musculares lisas y una delgada cubierta fibrosa^{4,14,44}. Los linfocitos T activados de la placa producen INF- γ , que inhibe la proliferación de la CML y su capacidad de síntesis de colágeno⁴⁵. Los macrófagos activados producen metaloproteasas (gelatinasas, estromeliasina y colagenasa intersticial) que degradan las proteínas de la matriz extracelular, favoreciendo la disrupción de la placa⁴⁶, y sintetizan factor tisular (FT)⁴⁷, uno de los principales activadores de la cascada de la coagulación, que promueve la trombosis de la placa. Estos macrófagos también inducen la apoptosis de las CML, con la consiguiente disminución de la síntesis de colágeno y debilitamiento de la capa fibrosa que inestabiliza la placa³⁶.

Además de los monocitos, los linfocitos T son igualmente atraídos a la pared arterial disfuncionante por sustancias quimiotácticas, y allí son activados iniciando la producción de más citocinas, como INF- γ , TNF- α ; interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8) y factores de crecimiento, como GM-CSF, que activan a los monocitos presentes en las placas y favorecen su proliferación, potenciando la respuesta inflamatoria local^{3,39,40,48}.

El resultado de la interacción de estos factores es una progresión de la lesión aterosclerótica desde sus estadios iniciales «la estría grasa» hasta la placa aterosclerótica compleja⁴⁹. La rotura o ulceración de la placa inestable trae como consecuencia la exposición de superficies procoagulantes y protrombóticas a la sangre, que provocan la activación de plaquetas y formación de trombos, que pueden desencadenar complicaciones clínicas al ocluir la luz del vaso o bien producir un crecimiento de la placa de forma asintomática^{6,50}.

Así pues, a lo largo de los distintos estadios evolutivos de las lesiones ateroscleróticas pueden ser identificados signos de inflamación crónica, y se han descrito varios mecanismos fisiopatológicos que influyen en el desarrollo, progresión e inestabilización de las lesiones ateroscleróticas³.

LA INFLAMACIÓN Y LA ATROSCLEROSIS

Tradicionalmente, la aterosclerosis ha sido considerada como una enfermedad por acumulación de lípidos, donde las placas vulnerables eran aquellas con mayor núcleo lipídico y capa fibrosa adelgazada, cuya

Fig. 1. Procesos inflamatorios en la aterosclerosis. En la placa inestable están presentes linfocitos T y macrófagos activados que segregan citocinas proinflamatorias (INF- γ , TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8), metaloproteasas que degradan la capa fibrosa y factores quimiotácticos de células inflamatorias que promueven la expresión de moléculas de adhesión. La IL-10 tiene potentes propiedades antiinflamatorias y actúa limitando la respuesta inflamatoria local, lo cual le confiere estabilidad a la lesión aterosclerótica.

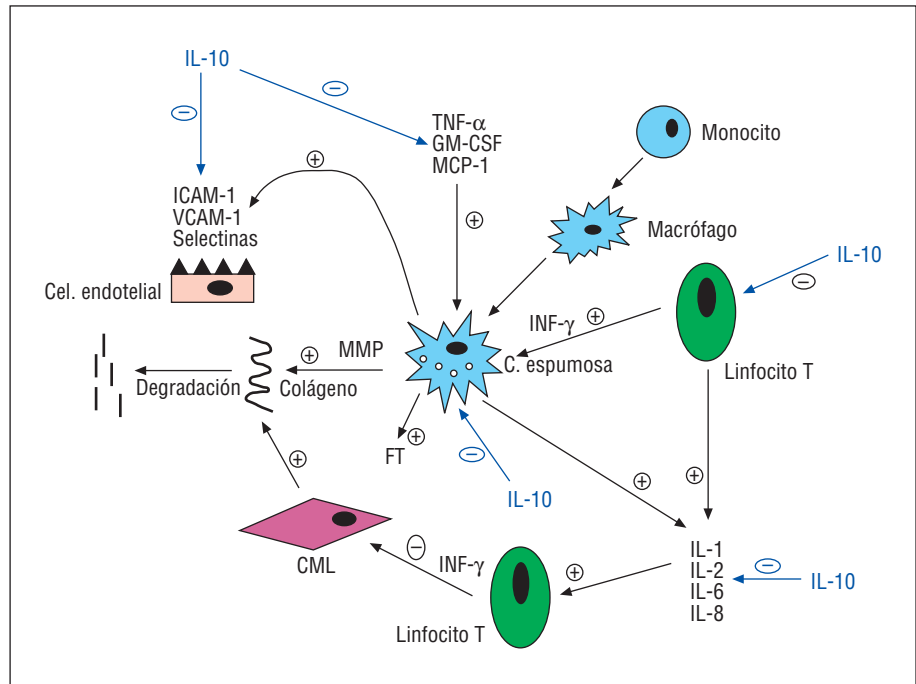
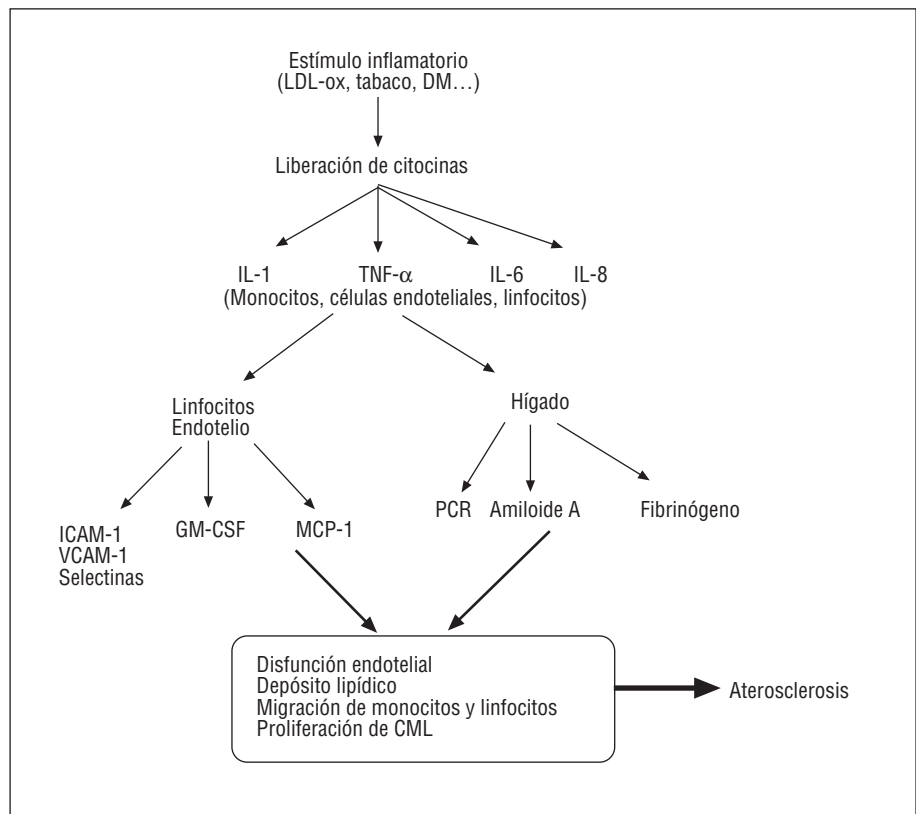


Fig. 2. La inflamación local o sistémica conduce a la liberación de citocinas, que promueven la síntesis de mediadores inflamatorios que favorecen el desarrollo de la aterosclerosis.



rotura respondía a fuerzas de estrés mecánico. Sin embargo, hoy día existen múltiples evidencias científicas que confirman el papel que la respuesta inflamatoria, local o sistémica, desempeña en el desarrollo del proceso aterosclerótico y en el desencadenamiento de

acontecimientos cardiovasculares agudos⁵¹ (fig. 1). Los pacientes con angina inestable presentan elevados valores de reactantes de fase aguda (proteína C reactiva [PCR], amiloide A sérica, fibrinógeno) y citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8)⁵² (fig. 2). Los valo-

res elevados de estos mediadores de inflamación (PCR, fibrinógeno, amiloide A, IL-6) son marcadores sensibles de inflamación y se correlacionan con el desarrollo de enfermedad arterial coronaria y su severidad^{53,54}, así como con la presencia de acontecimientos coronarios agudos^{55,56}. La PCR, además de ser considerada un predictor independiente para el desarrollo de complicaciones cardiovasculares, parece desempeñar un papel en la patogenia de la aterosclerosis, pues ha sido asociada a un incremento del riesgo de trombosis al promover la expresión de factor tisular por los monocitos⁵⁷ y activar la cascada del complemento⁵¹. También se ha observado que promueve la expresión de moléculas de adhesión por las células endoteliales y aumenta la captación de cLDL por los macrófagos en las placas a través de un proceso de opsonización⁵⁸.

La IL-6 es una citocina con potentes propiedades proinflamatorias que induce la expresión de reactantes de la fase aguda (mayor inductor de la producción hepática de PCR) y la migración y diferenciación de los macrófagos activados⁵⁹. También contribuye al desencadenamiento de los síndromes coronarios agudos, al potenciar la síntesis de metaloproteasas y la expresión de receptores de LDL en los macrófagos, así como un aumento de la captación de cLDL y la secreción de sustancias quimiotácticas, como MCP-1, por los mismos⁵⁹. Finalmente, regula la expresión de moléculas de adhesión y citocinas, como la IL-1 β , TNF- α , que incrementan la reacción inflamatoria⁵⁹. Al mismo tiempo, su liberación es estimulada por la IL-1, ambas actúan conjuntamente y con el TNF- α , incrementando la síntesis de IL-8 y reactantes de fase aguda⁵².

La IL-1 también induce la expresión de genes para la síntesis de factores activadores del sistema de la coagulación e inhibidores de la fibrinólisis y la migración de neutrófilos al espacio subendotelial, mediada por un aumento de la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y de la producción de GM-CSF (factor estimulador de las colonias de granulocitos y monocitos)⁵².

La IL-8 es una citocina proinflamatoria producida por distintos tipos celulares, incluyendo los monocitos-macrófagos y linfocitos T, y su presencia ha sido detectada en las células espumosas en placas de aterosclerosis humana. Se le han asociado propiedades protrombóticas, al incrementar la actividad procoagulante de los monocitos, por aumentar la síntesis y expresión de factor tisular en la superficie de estas células, y propiedades proaterogénicas, al disminuir los valores de TIMP-1 (un inhibidor de las metaloproteasas), lo cual favorece un predominio de los procesos de degradación de la capa fibrosa de la placa sobre los de síntesis⁶⁰.

La síntesis de las citocinas proinflamatorias está mediada en gran parte por el factor de transcripción nuclear NF- κ B. Éste está asociado a la inducción de genes codificadores de proteínas, que son vitales para

los procesos inflamatorios relacionados con la rotura de las placas ateroscleróticas. Este factor es activado por diversos estímulos, como citocinas, virus, mitógenos, microorganismos patógenos, LDL modificadas, el estrés oxidativo, etc.⁶¹. La activación de este factor ha sido detectada tanto en macrófagos como en células endoteliales y CML de las placas ateroscleróticas^{62,63}, y existen trabajos experimentales que demuestran una correlación directa entre la actividad de NF- κ B y la severidad de las lesiones coronarias⁵¹. El NF- κ B se encuentra en forma de un heterodímero inactivo en el citoplasma unido a proteínas inhibitoras denominadas genéricamente I κ B³⁶. Este heterodímero consta de 2 subunidades p50 y p65. Cuando la célula es activada por alguno de los agentes mencionados anteriormente, la I κ B se fosforila y experimenta ubiquitinación, lo cual actúa como «señal» para su degradación proteolítica. Entonces, el dímero p50/65 se transloca al núcleo y allí activa la transcripción de genes diana que inducen la expresión de citocinas (TNF α), interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8), factores de crecimiento (M-CSF, GM-CSF, G-CSF), sustancias quimiotácticas (MCP-1), moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina) y enzimas (MMP, iNOS, COX-2)^{64,65}, que potencian la respuesta inflamatoria local e inestabilizan la placa aterosclerótica.

Las células inflamatorias presentes en la placa de aterosclerosis expresan el mediador inmune CD40 y su ligando CD40L⁶⁶. La existencia de células T positivas para el CD40L acumuladas en las placas, principalmente en zonas de rápido crecimiento de la placa y con mayor tendencia a la complicación, sugiere que este ligando interviene en la patogenia del proceso. La interacción del CD40 con su ligando promueve la respuesta humoral y celular⁶⁷. La interrupción de esta unión mediante la administración de anticuerpos anti-CD40L limita, de forma experimental, el desarrollo de ciertas enfermedades autoinmunes, como la nefritis lúpica, la esclerosis múltiple, la tiroiditis, la enfermedad injerto contra huésped, etc.⁶⁸⁻⁷². También se ha demostrado *in vitro* que la interacción CD40/CD40L activa funciones relacionadas con la aterogénesis, incluyendo la producción de citocinas proinflamatorias⁷¹, metaloproteasas^{73,74}, expresión de moléculas de adhesión⁷⁵ y factor tisular⁷⁴.

PAPEL DE LA IL-10 EN LA ATROSCLEROSIS

Entre las citocinas antiinflamatorias, la IL-10 es considerada la interleucina antiinflamatoria por excelencia^{76,77}. Fue en primer lugar identificada como el factor inhibidor de la síntesis de citocinas (CSIF)⁷⁸, pues actuaba inhibiendo la producción de citocinas por los linfocitos T, particularmente el IFN- γ por las células Th1 en los sistemas murinos⁷⁹. En ellos, sin embargo, esta inhibición sólo se observaba cuando los macrófagos actuaban como células presentadoras de antígenos (CPA)⁸⁰.

Trabajos posteriores revelaron que la IL-10 es, de hecho, una citocina con propiedades pleiotrópicas que actúa sobre diferentes tipos celulares, incluyendo los timocitos⁸¹, las células T citotóxicas⁸², los mastocitos⁸³, las células B⁸⁴ y los monocitos-macrófagos⁸⁰.

La IL-10 es producida principalmente por un subtipo de linfocitos CD4+ (Th2), y también en grandes cantidades por los macrófagos. Es una citocina con potentes propiedades antiinflamatorias capaz de inhibir importantes funciones de estos dos tipos celulares^{76,79}. Así, se ha descrito que inhibe la producción de citocinas proinflamatorias por los macrófagos y por células T⁸⁵, activadas a través de distintos estímulos.

La IL-10 ha sido identificada en fases tempranas y avanzadas de lesiones ateroscleróticas^{86,87}, principalmente localizada en el citoplasma de los macrófagos, aunque también en las CML y en la matriz extracelular⁸⁷.

Propiedades antiinflamatorias de la IL-10: mecanismos de acción

Una de las primeras propiedades atribuidas a la IL-10 en sus orígenes fue su capacidad para inhibir la síntesis de citocinas. Existen numerosos trabajos publicados que apoyan esta afirmación. Waal Malefyt et al⁷⁹ demostraron que tanto la IL-10 humana o su recombinante viral añadida a cultivos de monocitos activados por INF- γ y/o LPS, como la producida endógenamente en respuesta a dichos estímulos, era capaz de inhibir la producción de citocinas proinflamatorias, incluyendo la IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , INF- γ , GM-CSF y G-CSF por los monocitos. Sumado a estos efectos, la IL-10 endógena ejercía un efecto autorregulador sobre su propia producción, reduciendo la síntesis de IL-10 ARNm por parte de los monocitos activados. Wang et al⁸⁵ demostraron que del mismo modo podía actuar sobre las células T inhibiendo la producción de IL-2, TNF- β , INF- γ y GM-CSF. También disminuye la expresión de moléculas del complejo de histocompatibilidad clase II (MCH II) por los monocitos/macrófagos, y con ello la capacidad de los mismos para actuar como células presentadoras de antígeno, limitando, en último término, la respuesta proliferativa antígeno específica de los linfocitos T^{79,88} y, por tanto, la respuesta inflamatoria.

Se han propuesto varios mecanismos por los cuales la IL-10 inhibe la síntesis de citocinas proinflamatorias. Uno de los más estudiados es la inhibición de la activación del factor de transcripción nuclear NF- $\kappa\beta$ por parte de la IL-10 en los monocitos y células T, por medio de un proceso donde intervienen segundos mensajeros del tipo de radicales libres de oxígeno⁷⁹. Esto tiene como resultado una reducción de la síntesis de interleucinas proinflamatorias, moléculas de adhesión, factores de crecimiento y quimiotácticos de célu-

las del sistema inmunológico que limita la respuesta inflamatoria local en la placa. Este mecanismo de acción de la IL-10 difiere del de la IL-4, otra interleucina antiinflamatoria, la cual inhibe igualmente la síntesis de factores proinflamatorios, pero por una vía que no involucra al NF- $\kappa\beta$, sino secundariamente a un aumento de la degradación del ARNm de dicha molécula⁸⁵.

O'Farrel et al propusieron como otro posible mecanismo para explicar los efectos antiinflamatorios de la IL-10 la inhibición de la producción de interferón mediante la actuación a través de factores de transcripción del grupo STAT⁸⁹. Paralelamente, se ha demostrado que la IL-10 puede inhibir la expresión de genes proinflamatorios que presentan regiones ricas en elementos AU (ARE)⁹⁰, como el TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , GM-CSF, IL-8, etc., desestabilizando su ARNm al actuar sobre estos ARE motifs⁹¹.

Además de lo expuesto anteriormente, se ha demostrado que la IL-10 tiene capacidad para inhibir la respuesta de los monocitos mediada por la interacción del CD40-CD40L, la cual parece desempeñar un papel relevante en la aterosclerosis⁶⁷. Mach et al demostraron que el bloqueo *in vivo* de esta interacción mediante anticuerpos, en ratones sometidos a dieta aterogénica, limitaba el tamaño de las placas ateroscleróticas, reducía su contenido lipídico, así como de células T y macrófagos, y disminuía la expresión de moléculas de adhesión (VCAM-1)⁶⁷. Así pues, este modelo experimental en animales pone de manifiesto otro de los mecanismos a través de los cuales la IL-10 parece ejercer un papel protector limitando el desarrollo de la lesión aterosclerótica^{92,93}.

La IL-10 modula la respuesta inmune celular

Hemos visto que las células T participan en la respuesta inmunológica mediante la liberación de citocinas. Dentro de las células T helper se distinguen 2 tipos que median respuestas inmunológicas diferenciadas. Las células tipo Th1 producen principalmente IL-2 e INF- γ , que se asocian a la activación de macrófagos y de otros subtipos de células T. Por el contrario, las células Th2 sintetizan fundamentalmente IL-4 e IL-5, que actúan aumentando la respuesta humoral e inhibiendo la respuesta de tipo Th1, que es la que predomina en las placas ateroscleróticas inestables⁹⁴.

La IL-10, junto con la IL-12, desempeña un importante papel regulando estos dos tipos de respuesta inmunológica. La IL-12 es un importante factor de crecimiento de las células T⁹⁵, principalmente producida por los monocitos activados⁹⁶ y que induce de manera selectiva un patrón de respuesta inmunológica de tipo Th1⁹⁷. Uyemura et al⁸¹ demostraron la presencia de IL-12 en las placas de aterosclerosis. Ésta potencia la respuesta inflamatoria crónica de las células T y macrófagos de la placa, lo cual conduce a la inestabilización y

rotura de la misma por diversos mecanismos. Entre ellos está la liberación de $\text{INF-}\gamma^{48}$ por las células Th1, que estimula la síntesis de metaloproteasas (MMP) por los macrófagos y produce una disminución de la expresión de genes para la síntesis de colágeno por las CML y un aumento de la apoptosis en dichas células, que inestabiliza finalmente la placa al debilitar la cubierta fibrosa. Además de este papel regulador de la respuesta inmune celular, el $\text{INF-}\gamma$ es capaz de potenciar la expresión de VCAM-1, MHC II y receptores de LDL en las células vasculares⁴⁸.

Un trabajo experimental en ratones deficientes en apolipoproteína E demostró que el ARNm de IL-12 se detectaba más precozmente en las placas de aterosclerosis que el ARNm de IL-10, y que la administración diaria de IL-12 aceleraba el desarrollo de aterosclerosis en dichos ratones⁹⁸.

El grupo de Uyemura⁸¹ propuso que la producción endógena de IL-10 por células T y monocitos humanos activados, en respuesta a la estimulación por LDL modificadas, inhibía la producción de IL-12 y, por tanto, facilitaba la respuesta inmune tipo Th2 disminuyendo la respuesta proinflamatoria. Estos hallazgos sugieren que existe, pues, una *cross-regulation* en la producción de IL-10 e IL-12 que modula la respuesta inflamatoria local.

La presencia de IL-10 en las placas de aterosclerosis

La IL-10 ha sido identificada en fases tempranas y avanzadas de lesiones ateroscleróticas, principalmente localizada en el citoplasma de los macrófagos, aunque también en las CML y en la matriz extracelular^{86,87} (fig. 1).

Mallat et al⁸⁷ demostraron en humanos no sólo la presencia de IL-10 en placas de aterosclerosis, sino que existía una fuerte asociación entre los altos valores de expresión de IL-10 en las lesiones y una reducción de la expresión de iNOS (óxido nítrico sintetasa inducible) y de muerte celular en las placas^{99,100}. Esto sugiere que la IL-10 desempeña un importante papel limitando la respuesta inflamatoria local, protegiendo de la excesiva muerte celular en la placa y promoviendo, en consecuencia, su estabilidad.

Es sabido que el óxido nítrico (NO) es producido en condiciones normales por las células endoteliales y presenta importantes propiedades vasodilatadoras y antiaterogénicas, al inhibir la agregación plaquetaria, la activación de moléculas de adhesión y la proliferación y migración de las CML¹⁰¹. En los estadios iniciales de la aterosclerosis, antes de que aparezcan lesiones angiográficamente visibles, ya está presente la disfunción endotelial, la cual condiciona una biodisponibilidad reducida de NO, ya sea por una disminución de su síntesis¹⁰² o de su liberación¹⁰³ o por un aumento de su inactivación¹⁰⁴. Por el contrario, se pro-

mueve la síntesis de su isoforma inducible iNOS (óxido nítrico sintetasa inducible), que permite su unión a aniones superóxido. Como consecuencia se produce un aumento del estrés oxidativo en la lesión aterosclerótica y, con ello, una tendencia a la vasoconstricción, una mayor oxidación intravascular de LDL y la activación del factor $\text{NF-}\kappa\beta$, que promueve la expresión de genes que potencian la respuesta inflamatoria e inestabilizan la placa¹⁰⁵.

Toshiyuki et al¹⁰⁰ demostraron en estudios *in vitro* que la IL-10 endógena ejercía un papel esencial para proteger de la muerte celular a los macrófagos infectados por *Salmonella*, al prevenir la excesiva producción de $\text{TNF-}\alpha$ tras la destrucción de la bacteria. El $\text{TNF-}\alpha$ ha demostrado ser capaz de inducir muerte celular por apoptosis en distintos tipos celulares, además de ser un importante mediador de efectos inflamatorios^{106,107}.

Posteriormente, Cohen et al⁹⁹ demostraron que, *in vitro*, la IL-10 podía inhibir la apoptosis de las células T, y que esto era mediado en parte por la sobreexpresión de la proteína Bcl-2, conservando los linfocitos rescatados de la apoptosis su capacidad para proliferar al ser estimulados por la IL-2.

La interleucina-10 y la vulnerabilidad de la placa aterosclerótica

Se conoce que uno de los principales condicionantes de la inestabilización de las placas ateroscleróticas es la degradación de la matriz extracelular (MEC) y de la cubierta fibrosa de colágeno. Los macrófagos presentes en las placas se encargan de modular el recambio de la MEC, sintetizando y segregando unas enzimas degradadoras de la MEC, denominadas metaloproteasas (MMP), así como sus correspondientes inhibidores (TIMP). Las principales MMP estudiadas son la colagenasa intersticial, la estromelisin y las gelatinasas 92 Kd y 72Kd. Éstas son sintetizadas inicialmente en forma inactiva y con posterioridad son activadas por diversos estímulos como el estrés oxidativo, citocinas proinflamatorias, etc.¹⁰⁸. Asimismo, existen 2 tipos de inhibidores de las MMP: TIMP-1 y TIMP-2¹⁰⁹. El TIMP-1 interactúa con las formas activas de la colagenasa y estromelisin, al igual que con el precursor y la forma activa de la 92Kd gelatinasa. El TIMP-2 específicamente inhibe la proenzima y la forma activa de la 72Kd gelatinasa¹⁰⁸.

Lacraz et al¹⁰⁸ demostraron en experimentos *in vitro* que la IL-10 ejercía una regulación específica sobre los macrófagos y monocitos, suprimiendo la síntesis de MMP y estimulando en contra la síntesis de su inhibidor, el TIMP-1. Esto sugiere que la IL-10 posee poderosos efectos antiinflamatorios, al contrarrestar las funciones degradativas de los macrófagos y alterar el balance proteasas/antiproteasas, favoreciendo la preservación de la MEC y cubierta fibrosa, que confiere

estabilidad a la placa.

Regulación de fenómenos protrombóticos: papel de la IL-10

Uno de los factores importantes que participan en el desencadenamiento del síndrome coronario agudo es la oclusión arterial por un trombo sobreimpuesto en una placa complicada^{3,39,49,110,111}. Entre los desencadenantes de esta trombosis intravascular está la expresión por parte de las células endoteliales y los monocitos del factor tisular (FT)¹¹². Éste es uno de los principales iniciadores de la cascada de la coagulación *in vivo*, al ligarse al factor VII y favorecer su activación. El complejo formado por el FT/FVIIa activa posteriormente los factores X y IX de la vía final común de la coagulación.

El FT no se expresa en las células en condiciones normales, sino como respuesta a varios estímulos, siendo el más efectivo la endotoxina (LPS), pero también las citocinas proinflamatorias (IL-1, MCP-1, factor de crecimiento derivado de las plaquetas PDGF, etcétera)¹¹³.

En 1993, Pradier et al¹¹⁴ demostraron en experimentos *in vitro* sobre monocitos aislados que la IL-10 tenía un efecto inhibitorio sobre la expresión de TF por dichas células en respuesta a los estímulos mencionados anteriormente, inhibición que es transcripcional (ARNm)¹¹⁵.

Estos hallazgos fueron confirmados posteriormente por Landmark et al¹¹⁶ al observar que la IL-10 mantenía *in vivo* su efecto inhibitorio sobre la expresión de FT por los monocitos cuando era inducida por LPS, actuando también en el ARNm. En otro orden de cosas, en un estudio reciente realizado en humanos, a los que se les inducía endotoxemia de manera experimental, la IL-10 demostró ser capaz de inhibir la activación del sistema de la coagulación al igual que atenuar la fibrinólisis¹¹⁷.

Lo expuesto anteriormente permite sugerir que la IL-10 podría ser muy útil en el tratamiento de algunas patologías que presentan un riesgo incrementado de trombosis, por aumento de la actividad procoagulante de los monocitos, como la CID o la cardiopatía isquémica¹¹⁶.

Evidencias experimentales del papel protector de la IL-10 en la aterosclerosis

La IL-10 es una citocina que presenta un importante papel regulador sobre la respuesta inmune. Su capacidad para inhibir la síntesis de citocinas y diversas funciones celulares de los macrófagos y los linfocitos T la convierte en un agente con poder antiinflamatorio. Si extrapolamos este concepto al campo de la aterogénesis, entendida ésta como una enfermedad inflamatoria

crónica de la pared vascular, es posible plantear la hipótesis de que esta molécula pudiera ejercer un papel protector en la patogenia de la aterosclerosis.

Se han realizado múltiples estudios experimentales *in vivo* e *in vitro* en animales, cuyos resultados refuerzan la teoría del papel protector de la IL-10, tanto en la formación como en la estabilización de la placa aterosclerótica. Mallat et al¹¹⁸ demostraron que los ratones C573L/6J deficientes en IL-10 (IL 10^{-/-}) presentaban una susceptibilidad incrementada al desarrollo de lesiones ateroscleróticas comparada con los ratones salvajes (productores de IL-10, IL 10^{+/+}). Además, al estudiar la composición de las placas ateroscleróticas, observaron que, en los ratones IL10^{-/-}, éstas demostraban una mayor infiltración de células inflamatorias, una producción aumentada de IFN- γ (característica de la respuesta tipo Th1) y un menor contenido de colágeno con respecto a las placas de los ratones salvajes, sugiriendo estos hallazgos que se trataban de placas más vulnerables o inestables con alta tendencia a la rotura³. Posteriormente, al estudiar el efecto de la transferencia de ADN de IL-10 a los ratones IL-10^{-/-} alimentados con dieta aterogénica observaron que se conseguía una reducción del 60% en el tamaño de las lesiones ateroscleróticas. Por otro lado, comprobaron que en los ratones IL-10^{-/-} sometidos a un ambiente libre de patógenos la superficie total de las lesiones ateroscleróticas era 4-5 veces menor comparada con la de ratones IL-10^{-/-} sometidos a condiciones normales, a pesar de no hallarse diferencias en su perfil lipídico. Este dato apoya la teoría de la intervención de microorganismos patógenos en el desarrollo de la aterosclerosis¹¹⁹.

En resumen, este trabajo demostró que la IL-10 tiene un profundo impacto tanto en el desarrollo como en la composición de las lesiones ateroscleróticas, así como un efecto protector contra los patógenos del entorno.

Estos hallazgos fueron corroborados posteriormente por Pinderski et al¹²⁰, al demostrar *in vivo* que los ratones IL-10 transgénicos, que sobreexpresan IL-10 en las células T, al ser alimentados con dieta aterogénica presentan una reducción significativa del desarrollo de lesiones ateroscleróticas, comparados con los ratones salvajes o deficientes en IL-10 sometidos a las mismas condiciones (fig. 3). En estos últimos se observó, además, que presentaban unas lesiones más grandes, con mayor infiltrado inflamatorio y lipídico y una cubierta fibrosa casi inapreciable. Paralelamente, los experimentos *in vitro* de este grupo demostraron que el pretratamiento con IL-10 en estos ratones era capaz de inhibir la interacción de los monocitos, activados por las LDL, con el endotelio y su adhesión al mismo. Esto puede ser en parte explicado por la capacidad de la IL-10 de inhibir la expresión de moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1) por las células endoteliales.

Resultados similares han sido obtenidos en un estu-

dio reciente llevado a cabo en humanos, que apoya la hipótesis del papel protector de la IL-10 en la aterogénesis, al contribuir a mantener la estabilidad de la placa evitando acontecimientos agudos. Smith et al¹²¹ demostraron que los pacientes con angina inestable presentaban unos valores significativamente más bajos de IL-10 en sangre que aquellos con angina crónica estable, lo cual sugiere que unos valores bajos de IL-10 están asociados a mayor inestabilidad clínica (fig. 4).

Por otro lado, una importante liberación de IL-10 ha sido demostrada en múltiples estudios de isquemia-reperfusion miocárdica y *bypass* cardiopulmonar en humanos¹²²⁻¹²⁴. Yang et al¹²⁵ observaron en un modelo de experimentación de isquemia-reperfusion en ratones IL-10^{-/-} que éstos presentaban una respuesta inflamatoria exagerada en los tejidos reperfundidos al ser comparados con los ratones salvajes. Ésta se manifestaba como un incremento de la infiltración de neutrófilos en los tejidos reperfundidos y un aumento de la producción de TNF- α , ICAM-1 y productos de degradación de NO, lo que conducía finalmente a un incremento del tamaño del IAM y de la necrosis miocárdica, así como de las tasas de mortalidad en los ratones inmunodeprimidos.

Estos hallazgos proporcionan evidencia de que la producción endógena de IL-10 sirve para proteger de la isquemia miocárdica y del daño por reperfusion al inhibir la producción de TNF- α , iNOS, la expresión de moléculas de adhesión y el reclutamiento de neutrófilos. En la actualidad hay numerosos estudios en marcha que sugieren el potencial uso de la IL-10 en distintas formas de daño por reperfusion¹²⁶⁻¹³¹.

Otras propiedades de la IL-10: ¿nuevo agente terapéutico?

Recientemente se han asociado propiedades antitumorales a la IL-10 relacionadas con su capacidad para disminuir la síntesis del VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), TNF- α y MMP-9 (gelatinasa 92Kd), así como de prevenir la angiogénesis asociada al crecimiento del tumor^{132,133}. Los principales estímulos para la angiogénesis son la isquemia y la inflamación, y ambas condiciones se encuentran estrechamente ligadas a la enfermedad isquémica^{134,135}.

Debido a las propiedades antiinflamatorias que se le atribuyen, la IL-10 está siendo estudiada como posible terapia de un gran número de enfermedades crónicas, incluyendo la artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis, esclerosis múltiple, alergia eosinofílica, granulomatosis de Wegener, rechazo del trasplante cardíaco, etc.¹³⁶. Por ejemplo, la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa) se caracteriza por un desbalance en la activación de los linfocitos Th1 y Th2, con un predominio de la respuesta inmune tipo Th1, que resulta en una respuesta inflamatoria masiva en la mucosa

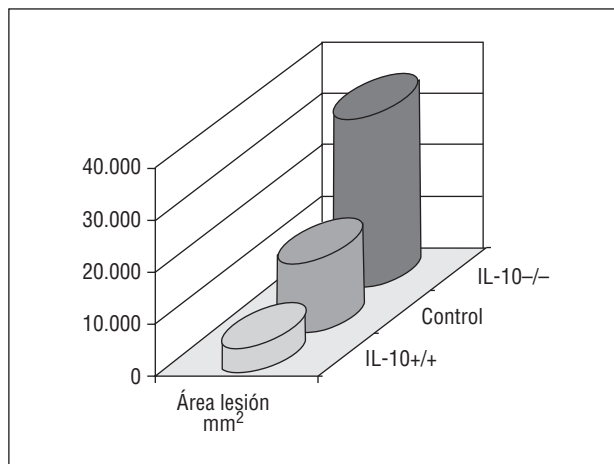


Fig. 3. Superficie de lesión aterosclerótica en la raíz aórtica según los valores séricos de IL-10 en ratones salvajes (control), transgénicos (IL-10^{+/+}) y deficientes en IL-10 (IL-10^{-/-}). Obsérvese la menor superficie de la lesión en los ratones transgénicos frente a los controles (5.433 ± 4.008 frente a 13.574 ± 4.212 mm²; *p < 0,05). Obsérvese el marcado incremento en el tamaño de la lesión de los ratones deficientes en IL-10^{-/-} frente a los IL-10^{+/+} (33.250 ± 9.117 mm²; *p < 0,0001) (modificada de Pinderski O, et al¹²⁰).

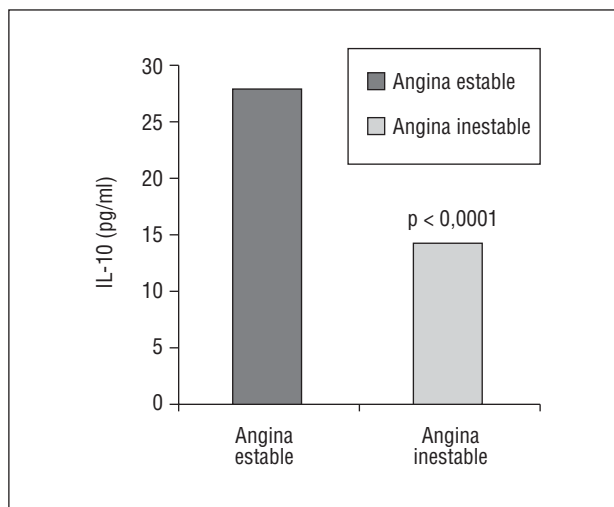


Fig. 4. Concentraciones séricas medias de IL-10 (pg/ml) en pacientes con angina inestable y angina crónica estable (14 ± 10,1 frente a 28,4 ± 12,1; p < 0,0001) (modificada de Smith D, et al¹²¹).

intestinal. La IL-10 es una citocina antiinflamatoria que regula a la baja la producción de citocinas proinflamatorias derivadas de los linfocitos Th1, promoviendo una respuesta inmune de tipo Th2, que es esencial para la lucha contra la inflamación¹³⁷. La administración de IL-10 recombinante humana (rhuIL-10) ha sido ensayada en humanos con enfermedad inflamatoria intestinal por vía tópica, intravenosa y subcutánea¹³⁸. Mientras que los resultados obtenidos por el grupo de Fedorak et al¹³⁸ resultan prometedores al objetivarse una mejoría clínica y endoscópica de la enfermedad

tras la administración subcutánea de rhuIL-10 en pacientes con enfermedad de Crohn, Colombel et al¹³⁹ no consiguieron demostrar que dicho tratamiento previniese la recurrencia endoscópica de la enfermedad en pacientes postoperados de enfermedad de Crohn. Las discrepancias en estos resultados pueden responder a la dificultad para seleccionar el subgrupo de pacientes que potencialmente se beneficiarían de esta terapia biológica, así como identificar la vía de administración más adecuada o la dosis requerida¹⁴⁰.

Así, se ha observado en trabajos de experimentación animal que los ratones deficientes en IL-10 desarrollan espontáneamente una forma severa de enterocolitis¹⁴¹. Sin embargo, la transferencia de células T CD4+ procedentes de ratones IL-10 transgénicos (que sobreexpresan IL-10) es capaz de suprimir en los ratones IL-10^{-/-} el desarrollo de la colitis¹⁴² bajo condiciones donde habitualmente ésta se presenta.

Los resultados de los estudios mencionados permiten plantearnos la posibilidad de considerar la IL-10 como una nueva herramienta terapéutica dentro del campo de la aterosclerosis. Sin embargo, la administración de IL-10 como terapia a largo plazo, con todas sus acciones supresoras del sistema inmune, podría traer consecuencias inesperadas al poder inducir de forma potencial una anergia tipo antígeno específica. Varios estudios de experimentación animal han demostrado que la IL-10 incrementa la susceptibilidad a ciertas infecciones, principalmente las que involucran a patógenos intracelulares como *Chlamydia* y *Listeria monocytogenes*¹³⁶. Los ratones recombinantes BALB/c estimulados con *Chlamydia* producen valores más altos de IL-10 que los ratones salvajes C57BL/6J. Los BALB/c presentan, por consiguiente, una respuesta inflamatoria menos agresiva frente a la infección por *Chlamydia*, sucumbiendo a la infección en mayor número que los C57BL/6J¹⁴³. Por otro lado, los ratones IL-10^{-/-} deficientes en IL-10, al ser infectados con dosis subletales de *Chlamydia*, desarrollan menos lesiones granulomatosas que los salvajes¹⁴⁴.

CONCLUSIONES

Los conocimientos actuales de la fisiopatología de la aterosclerosis divergen marcadamente de los de las últimas décadas. Hoy día se acepta de manera generalizada que la inflamación desempeña un papel fundamental en el desarrollo y la progresión de las lesiones ateroscleróticas, condicionando a largo-corto plazo la aparición de manifestaciones clínicas. Sin embargo, el mecanismo intrínseco de cómo esta respuesta inflamatoria se desencadena y desarrolla continúa sin ser aclarado por completo. El mejor conocimiento de los fenómenos fisiopatológicos que subyacen en el proceso de aterogénesis permitiría abrir nuevas vías de investigación para combatir esta fatal enfermedad.

Desde este punto de vista, los diversos estudios realizados para conocer la relevancia de la IL-10 en la aterosclerosis sugieren que ésta desempeña un papel protector limitando la respuesta inflamatoria local, que favorece la progresión e inestabilidad de la placa aterosclerótica, lo cual condiciona en última instancia el desarrollo de acontecimientos coronarios agudos. Esto nos permitiría plantear la posibilidad de investigar el potencial papel de la IL-10 como agente terapéutico cuya administración exógena frenase el desarrollo de las lesiones y les confiriese estabilidad, mejorando la evolución clínica del paciente. La IL-10 podría ser también un nuevo marcador de riesgo que nos permitiese predecir la inestabilidad de la placa y su propensión a sufrir complicaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Breslow JL. Cardiovascular disease burden increases, NIH funding decreases. *Nat Med* 1997;3:600-1.
2. Braunwald E. Shattuck Lecture-cardiovascular medicine at the turn of the millennium: trumps, concerns, and opportunities. *N Engl J Med* 1997;337:1360-9.
3. Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
4. Moreno PR, Fallon Jt. Inflammation in acute coronary syndromes. En: Schultheiss H, Schwimbeck P, editors. *The role of immune mechanism in cardiovascular disease*. Berlin: Springer, 1997; p. 213-29.
5. Van der Wal AC, Becker AE, van der Loss CM, Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994;89:36-44.
6. Davies MJ. Stability and instability: the two faces of coronary atherosclerosis: The Paul Dudley White Lecture, 1995. *Circulation* 1996;93:1354-63.
7. Braunwald E, Fuster V. Unstable angina. Definition, pathogenesis, and classification. En: Fuster V, Toss R, Topol EJ, editors. *Atherosclerosis and coronary disease*. Philadelphia: JB Lippincott, 1996; p. 1285-98.
8. Ridker PM, Cushman M, Stamper MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-9.
9. Hasson GK, Holm J, Kral JG. Accumulation of IgG and complement factor C3 in human arterial endothelium and atherosclerotic lesions. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1984;92A: 429-35.
10. Roselaar SE, Schonfeld G, Daugherty A. Enhanced development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by suppression of cell-mediated immunity. *J Clin Invest* 1995;96:389-94.
11. Emeson EE, Shen ML. Accelerated atherosclerotic in hyperlipidemic C57BL/6 mice treated with cyclosporin A. *Am J Pathol* 1993;142:1906-15.
12. Fyfe AI, Qiao J-H, Lulis A. Immune-deficient mice develop typical atherosclerotic fatty streaks when fed an atherogenic diet. *J Clin Invest* 1994;94:2516-20.
13. Barath P, Fishlein MC, Cao J, Berenson J, Helfant RH, Forrester JS. Detection and localization of tumor necrosis factor in human atheroma. *Am J Cardiol* 1990;65:297-302.
14. Clinton SK, Fleet JC, Loppnow H, Salomon RN, Clark BD, Cannon JG, et al. Interleukin-1 gene expression in rabbit vascular tissue in vivo. *Am J Pathol* 1991;138:1005-14.
15. Seino Y, Ikeda U, Ikeda M, Yamamoto K, Misawa Y, Hasegawa T, et al. Interleukin-6 gene transcripts are expressed in human atherosclerotic lesions. *Cytokine* 1994;6:87-91.
16. Kishikawa H, Shimokama T, Watanabe T. Localization of T

- lymphocytes and macrophages expressing IL-1, IL-2 receptor, IL-6 and TNF in human aortic intima. Role of cell-mediated immunity in human atherosclerosis. *Virchows Arch* 1993;423:433-42.
17. Lee RT, Libby P. The unstable atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1859-67.
 18. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000;101:948-54.
 19. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlyger H, Just H. Modulation of coronary vascular tone in humans: progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991;83:391-401.
 20. Quyyumi AA. Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am J Med* 1998;105:32S-9S.
 21. Lüscher TF, Vanhoutte PM. The Endothelium: modulator of cardiovascular function. Boca Raton: CRC Press, 1990.
 22. Moncada S, Vane JR. Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N Engl J Med* 1979;300:1142-7.
 23. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990;323:27-36.
 24. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
 25. Liao JK. Endothelium and acute coronary syndromes. *Clin Chem* 1998;44:1799-808.
 26. Drexler H. Endothelium dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis* 1997;4:287-324.
 27. Simon A, Castro A, Kaski JC. Avances en el conocimiento de la disfunción endotelial y su aplicación en la práctica clínica. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:211-7.
 28. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* 1993;9:2546-51.
 29. Vogel RA. Cholesterol lowering and endothelial function. *Am J Med* 1999;107:479-87.
 30. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 2001;104:191-6.
 31. Cooke JP, Tsao RS. Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb* 1994;14:653-5.
 32. Sánchez-Recalde A, Kaski JC. Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:751-63.
 33. Klatt P, Esterbauer H. Oxidative hypothesis of atherogenesis. *J Cardiovasc Risk* 1996;3:346-51.
 34. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-96.
 35. Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ. Cell adhesion molecules in coronary disease. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1591-601.
 36. Martínez-González J, Llorente-Cortes V, Bandimon L. Biología celular y molecular de las lesiones ateroscleróticas. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:218-31.
 37. Liao JK, Shin WS, Lee WY, Clark SL. Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1995;270:319-24.
 38. Sata M, Walsh K. Oxidized LDL activates Fas-mediated endothelial cell apoptosis. *J Clin Invest* 1998;102:1682-9.
 39. Libby P. The molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-50.
 40. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaques. *Arteriosclerosis* 1986;6:131-8.
 41. Freeman MW. Macrophage scavenger receptors. *Curr Opin Lipid* 1994;5:143-8.
 42. Weissberg PL. Atherogenesis: current understanding of the causes of atheroma. *Heart* 2000;83:247-52.
 43. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:365-72.
 44. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71.
 45. Serneri GGN, Abbate R, Gori AM, Attanasio M, Martini F, Giusti B, et al. Transient intermittent lymphocyte activation is responsible for the instability of angina. *Circulation* 1992;86:790-7.
 46. Shah PK, Falk E, Badimon JJ, Fernández-Ortiz A, Mailhac A, Villareal-Levy G, et al. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous cap of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation* 1995;92:1565-9.
 47. Mach F, Schönbeck U, Bonnefoy-Y, Pober JS, Libby P. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation* 1997;96:369.
 48. Hansson GK, Holm J, Jonasson L. Detection of activated T lymphocytes in the human atherosclerotic plaque. *Am J Pathol* 1989;135:169-75.
 49. Ross R. The pathogenesis of the atherosclerosis- an update. *N Engl J Med* 1986;314:488-500.
 50. Badimon L, Chesebro JH, Badimon JJ. Thrombus formation on ruptured atherosclerotic plaques and rethrombosis on evolving thrombi. *Circulation* 1992;86(Suppl III):74-85.
 51. Kaski JC. Inflamación, infección y enfermedad coronaria: mitos y realidades. *Rev Esp Cardiol* 2000;53:1311-7.
 52. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, Caligiuri G, Rebuffi AG, Ginnetti F, et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999;99:2079-84.
 53. Mori T, Sasaki J, Kawaguchi H, Handa K, Takada Y, Matsunaga A, et al. Serum glycoproteins and severity of coronary atherosclerosis. *Am Heart J* 1995;12:234-8.
 54. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid-A in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331:417-24.
 55. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-9.
 56. Kuller LH, Tracy Rp, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Am J Epidemiol* 1996;144:537-47.
 57. Abdelmoutaleb I, Danchin N, Ilardo C, Aimone-Gastin I, Angioi M, Lozniewski A, et al. C-reactive protein and coronary artery disease: additional evidence of the implication of an inflammatory process in acute coronary syndromes. *Am Heart J* 1999;137:346-51.
 58. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein low density lipoprotein uptake by macrophages. *Circulation* 2001;103:1194-7.
 59. Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Kovainen PT, Kaartinen M, et al. Expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques. Potential implications for inflammation and plaque instability. *Circulation* 2000;101:1372-8.
 60. Moreau M, Brocheriou I, Petit L, Ninio E, Chapman MJ, Rouis M. Interleukin-8 mediates downregulation of tissue factor inhibitor of metalloproteinase-1 expression in cholesterol-loaded human macrophages. Relevance to stability of atherosclerotic plaque. *Circulation* 1999;99:420-6.
 61. Barnes PJ, Karin M. Nuclear Factor- κ B. A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997;336:1066-71.
 62. Ritchie ME. Nuclear Factor- κ B is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation* 1998;98:1707-13.
 63. Brand K, Page S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Knuechel R, et al. Activated transcription factor nuclear-kappa β is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest* 1996;97:1715-22.
 64. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF- κ B in the

- immune system. *Annu Rev Immunol* 1994;12:141-79.
65. Bourcier T, Sukhova G, Libby P. The nuclear factor $\kappa\beta$ signaling pathway participates in dysregulation of vascular smooth muscle cells in vitro and in human atherosclerosis. *J Biol Chem* 1997;272:15817-24.
 66. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Bourcier T, Bonnefoy JY, Pober JS, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94:1931-6.
 67. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Atkinson E, Libby P. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signaling. *Nature* 1998;394:200-3.
 68. Durie FH, Fava RA, Foy TM, Aruffo A, Ledbetter JA, Noelle RJ. Prevention of collagen-induced arthritis with antibody to gp39, the ligand for CD40. *Science* 1993;261:1328-30.
 69. Mohan C, Shi Y, Laman JD, Datta SK. Interaction between CD40 and its ligand gp39 in the development of murine lupus nephritis. *J Immunol* 1995;154:1470-80.
 70. Larsen CP, Elwood ET, Alexander DZ, Ritchie SC, Hendrix R, Tucker-Burden C, et al. Long-term acceptance of skin and cardiac allografts after blocking CD40 and CD28 pathways. *Nature* 1996;381:434-8.
 71. Gerritse K, Laman JD, Noelle RJ, Aruffo A, Ledbetter JA, Borsma WJ, et al. CD40-CD40 ligand interactions in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:2499-504.
 72. Carayanniotis G, Master SR, Noelle RJ. Suppression of murine thyroiditis via blockade of the CD40-CD40L interaction. *Immunity* 1997;90:421-6.
 73. Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, Murphy C, Bonnefoy JY, Fabunmi RP, et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture. *Circ Res* 1997;81:448-54.
 74. Mach F, Schönbeck U, Bonnefoy J-Y, Pober JS, Libby P. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40. Induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation* 1997;96: 396-9.
 75. Karmann K, Hughes CC, Schechner J, Fanslow WC, Pober JS. CD40 on human endothelial cells: inducibility by cytokines and functional regulation of adhesion molecule expression. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92:4342-6.
 76. De Vries JE. Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin-10. *Ann Med* 1995;27:537-41.
 77. Moore K, O'Garra A, De Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Ann Rev Immunol* 1993;11:165-90.
 78. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989;170:2081-95.
 79. De Waal Malefyt R, Abrams RJ, Bennett B, Figdor CG, De Vries JE. Interleukin (IL)-10 inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991;174:1209-20.
 80. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, et al. IL-10 acts on the antigen presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol* 1991; 146:3444-51.
 81. MacNeil IA, Suda T, Moore KW, Mosmann TR, Zlotnik A. IL-10 a novel growth cofactor for mature and immature t cells. *J Immunol* 1990;145:4167-73.
 82. Chen WF, Zlotnik A. IL-10: a novel cytotoxic cell differentiation factor. *J Immunol* 1991;147:528-34.
 83. Thompson-Snipes L, Dhar V, Bond MW, Mosmann TR, Moore KW, Rennick DM. Interleukin 10: a novel stimulatory factor for mast cells and their progenitors. *J Exp Med* 1991;173:507-10.
 84. Go NF, Castle BE, Barrett R, Kastelein R, Dang W, Mosmann TR, et al. Interleukin 10, a novel B cell stimulatory factor: unresponsiveness of X chromosome linked immunodeficiency B cells. *J Exp Med* 1990;172:1625-31.
 85. Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. Interleukin (IL)10 inhibits nuclear factor $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) activation in human monocytes: IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J Biol Chem* 1995;270:9558-63.
 86. Uyemura K, Demer LL, Castle SC, Jullien D, Berliner JA, Gately MK, et al. Cross regulation roles of interleukin (IL)-12 and IL-10 in the atherosclerosis. *J Clin Invest* 1996;97:2130-8.
 87. Mallat Z, Heymes C, Ohan J, Faggin E, Leseche G, Tedgui A. Expression of interleukin-10 in advanced human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:611-6.
 88. De Waal Malefyt R, Haanen J, Spits H, Roncarolo MG, Te Velde A, Figdor C, et al. Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigenic-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression. *J Exp Med* 1991;174:915-24.
 89. O'Farrell AM, Liu Y, Moore KW, Mui AL. IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: evidence for Stat3-dependent and -independent pathways. *EMBO J* 1998;17:1006-8.
 90. Shaw G, Kamen R. A conserved AU sequence from the 3' untranslated region of GM-CSF mRNA mediates selective mRNA degradation. *Cell* 1986;46:659-67.
 91. Kishore R, Tebo JM, Kolosov M, Hamilton TA. Cutting edge: clustered AU-rich elements are the target of IL-10 mediated mRNA destabilization in mouse macrophages. *J Immunol* 1999;19:734-42.
 92. Suttles J, Milhorn DM, Miller RW, Poe JC, Wahl LM, Stout RD. CD40 signaling monocyte inflammatory cytokine synthesis through an ERK1/2-dependent pathway: a target of interleukin 4 (IL-4) and IL-10 anti-inflammatory action. *J Biol Chem* 1999;274:5835-42.
 93. Poe JC, Wagner DH, Miller RW, Stout RD, Suttles J. IL-4 and IL-10 modulation of CD40-mediated signaling of monocyte IL-1 β synthesis and rescue from apoptosis. *J Immunol* 1997;59:846-52.
 94. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clones I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986;136:2348-57.
 95. Gately MK, Desai BB, Wolitsky AG, Quinn PM, Dwyer CM, Podlaski FJ, et al. Regulation of human lymphocyte proliferation by a heterodimeric cytokine, IL-12 (cytotoxic lymphocyte maturation factor). *J Immunol* 1991;147:874-82.
 96. D'Andrea A, Rengaraju M, Valiante NM, Chehimi J, Kubin M, Aste M, et al. Production of natural killer cell stimulatory cell factor (interleukin 12) by peripheral blood mononuclear cells. *J Exp Med* 1992;176:1387-98.
 97. Germann T, Gately MK, Schoenhaut DS, Lohoff M, Mattner F, Fischer S, et al. Interleukin-12/T-cell stimulating factor, a cytokine with multiple effects on T helper type 1 (Th1) but not Th2 cells. *Eur J Immunol* 1993;23:1762-70.
 98. Lee TS, Yen HC, Pan CC, Chau LY. Role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in apo-E deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:734-42.
 99. Cohen SB, Crawley JB, Kahan MC, Feldmann M, Foxwell BM. Interleukin-10 rescues T cells from apoptotic cell death: association with upregulation of Bcl-2. *Immunology* 1997;17: 145-50.
 100. Arai T, Hiromatsu K, Nishimura H, Kimura Y, Kobayashi N, Ishida H, et al. Endogenous interleukin 10 prevents apoptosis in macrophages during Salmonella infection. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;213:600-7.
 101. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43: 109-42.
 102. Verbeuren TJ, Coene MC, Jordaens FH, Van Hove CE, Zonnekeyn LL, Herman AG. Effect of hypercholesterolemia on vascular reactivity in the rabbit. *Circ Res* 1986;58:496-504.
 103. Shimokawa H, Vanhoutte PM. Impaired endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets and related vasoactive substances in porcine coronary arteries in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Circ Res* 1989;64:900-14.
 104. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S,

- et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor. A novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141-6.
105. Gurfinkel E. Infección y aterosclerosis. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:383-92.
 106. Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, Sellins KS. Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol* 1992;10:267-93.
 107. Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF- α primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 1989;7:625-55.
 108. Lacraz S, Nicod LP, Chicheportiche R, Welgus HG, Dayer JM. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest* 1995;96:2304-10.
 109. Albin RJ, Senior RM, Welgus HG, Connolly NL, Campbell EJ. Human alveolar macrophages release an inhibitor of metalloproteinase elastase in vitro. *Am Rev Respir* 1987;135:1281-5.
 110. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (Part I). *N Engl J Med* 1992;326:242-50.
 111. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (Part II). *N Engl J Med* 1992;326:310-8.
 112. Camerer E, Kolsto A, Prydz H. Cell biology of tissue factor, the principal initiator of blood coagulation. *Thrombosis Research* 1996;81:1-41.
 113. Ernofsson M, Siegbahn A. Platelet-derived growth factor and monocyte chemostatic protein-1 induce human peripheral blood monocytes to express tissue factor. *Thrombosis Research* 1996;81:307-20.
 114. Pradier O, Gerard C, Delvaux A, Lybin M, Abramowicz D, Capel P, et al. Interleukin-10 inhibits the induction of monocyte procoagulant activity by bacterial lipopolysaccharide. *Eur J Immunol* 1993;23:2700-3.
 115. Ramani M, Ollivier V, Khechai F, Vu T, Ternisien C, Bridey F, et al. Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced tissue factor mRNA production by human monocytes. *FEBS Letters* 1993a;334:114-6.
 116. Lindmark E, Tenno T, Chen J, Siegbahn A. IL-10 inhibits LPS-induced human monocyte tissue factor expression in whole blood. *Br J Haematol* 1998;102:597-604.
 117. Parjkt D, van der Poll T, Levi M, Cutler DL, Affrime MB, Van den Ende A, et al. Interleukin-10 inhibits activation of coagulation and fibrinolysis during human endotoxemia. *Blood* 1997;89:2701-5.
 118. Mallat Z, Besnard S, Duriez M, Deleuze V, Emmanuel F, Bureau MF, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 1999;85:E17-E24.
 119. Libby P, Egan D, Skarlattos S. Roles of infection agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997;96:4095-103.
 120. Pinderski Oslund LJ, Hedrick CC, Olvera T, Hagenbaugh A, Territo M, Berliner JA, et al. Interleukin-10 blocks atherosclerotic events in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2847-53.
 121. Smith D, Irving S, Sheldon J, Cole D, Kaski JC. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. *Circulation* 2001;104:746-9.
 122. Seghaye M, Duchataeu J, Bruniaux J, Demontoux S, Bosson C, Serraf A, et al. Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:545-53.
 123. Wan S, Marchant A, DeSmet JM, Antoine M, Zhang H, Vachieri JL, et al. Human cytokine responses to cardiac transplantation and coronary artery bypass graft surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:469-77.
 124. Shibatta M, Endo S, Inada K, Kuriki S, Harada M, Takino T, et al. Elevated plasma levels of interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-10 in patients with acute myocardial infarction. *J Interferon Cytokine Res* 1997;92:1-5.
 125. Yang Z, Zingarelli B, Szabo C. Crucial role of endogenous interleukin-10 production in myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Circulation* 2000;101:1019-26.
 126. Zhai QH, Futrell N, Chen FJ. Gene expression of IL-10 in relationship to TNF- α , IL-1 β , and IL-2 in the rat brain following middle cerebral artery occlusion. *J Neurol Sci* 1997;152:119-24.
 127. Le Moine O, Louis H, Stordeur P, Collet JM, Goldman M, Deviere J. Role of reactive oxygen intermediates in interleukin 10 release after cold ischaemia liver ischaemia and reperfusion in mice. *Gastroenterology* 1997;113:1701-6.
 128. Hayward R, Nossuli TO, Scalia R, Lefer AM. Cardioprotective effect of interleukin-10 in murine myocardial ischaemia-reperfusion. *Eur J Pharmacol* 1997;334:157-63.
 129. Hess PJ, Seeger JM, Huber TS, Welborn MB, Martin TD, Harward TR, et al. Exogenously administered interleukin-10 decreases pulmonary neutrophil infiltration in a tumor necrosis factor-dependent murine model of acute visceral ischaemia. *J Vasc Surg* 1997;26:113-18.
 130. Engles RE, Huber TS, Zander DS, Hess PJ, Welborn MB, Moldawer LL, et al. Exogenous recombinant interleukin-10 attenuates hindlimb ischaemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 1997;69:425-8.
 131. Spera PA, Ellison JA, Feuerstein GZ, Barone FC. IL-10 reduces rat brain injury following focal stroke. *Neurosci Lett* 1998;251:189-92.
 132. Huang S, Ullrich SE, Bar-Eli M. Regulation of tumor growth and metastasis by interleukin-10: the melanoma experience. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:697-703.
 133. Stearns ME, Garcia FU, Fudge K, Rhim J, Wang M. Role of interleukin 10 and transforming growth factor β_1 in the angiogenesis and metastasis of human prostate primary tumor lines from orthotopic implants in severe combined immunodeficiency mice. *Clin Cancer Res* 1999;5:711-20.
 134. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000;6:389-95.
 135. Silvestre JS, Mallat Z, Duriez M, Tamarat R, Bureau MF, Scherman D, et al. Antiangiogenic effect of interleukin-10 in ischaemia-induced angiogenesis in mice hindlimb. *Cir Res* 2000;87:448-52.
 136. Terkeltaub RA. IL-10: an «immunologic scalpel» for atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2823-5.
 137. Rogy MA, Beinhauer Bg, Reinisch W, Huang L, Pokieser P. Transfer of interleukin-4 and interleukin-10 in patients with severe inflammatory bowel disease of the rectum. *Hum Gene Ther* 2000;11:1731-41.
 138. Fedorak RN, Gangl A, Elson CO, Rutgeerts P, Schreiber S, Wild G, et al. Recombinant Human Interleukin 10 in the treatment of patients with mild to moderately active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000;119:1473-82.
 139. Colombel JF, Rutgeerts P, Malchow H, Jacyna M, Nielsen OH, Rask-Madsen J, et al. Interleukin 10 (Tenovil) in the prevention of postoperative recurrence of Crohn's disease. *Gut* 2001;49:42-6.
 140. Bickston S, Cominelli F. Recombinant interleukin 10 for the treatment of active Crohn disease: lessons in biologic therapy. *Gastroenterology* 2000;119:1781-3.
 141. Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Muller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993;75:263-74.
 142. Hagenbaugh A, Sharma S, Dubinett SM, Wei SH, Aranda R, Cheroute H, et al. Altered immune responses in interleukin 10 transgenic mice. *J Exp Med* 1997;185:2101-10.
 143. Yang X, HayGlass KT, Brunham RC. Genetically determined differences in IL-10 and IFN- γ responses correlate with clearance of *Chlamydia trachomatis* mouse pneumonitis infection. *J Immunol* 1996;156:4338-44.
 144. Yang X, Gartner J, Zhu L, Wang S, Brunham RC. IL-10 gene knockout mice show enhanced Th1-like protective immunity and absent granuloma formation following *Chlamydia trachomatis* lung infection. *J Immunol* 1999;162:1010-7.