

La Deficiencia de Vitamina D está Asociada a Niveles Aumentados de IL-17 y Tnf α en Pacientes con Insuficiencia Cardíaca Crónica

Milena Milovanovic¹, Gordana Pesic¹, Valentina Nikolic¹, Tatjana Jevtovic-Stoimenov², Karin Vasic³, Zorica Jovic¹, Marina Deljanin-Ilic⁴, Srdjan Pesic¹

Institute of pharmacology and toxicology, Faculty of medicine, University of Nis¹; Institute of biochemistry, Faculty of medicine, University of Nis²; Children's Hospital, Clinical Centre Nis³; Institute of Cardiology "Niska Banja", Nis⁴, Sérvia

Resumen

Fundamento: Estudios recientes revelaron una fuerte asociación entre el estado de la vitamina D (VD) y la insuficiencia cardíaca crónica (ICC). Hoy, es normalmente aceptado que la respuesta inmune pro-inflamatoria es subyacente al desarrollo de ICC.

Objetivo: Una vez que la VD posee propiedades antiinflamatorias, investigamos su impacto sobre las citocinas envueltas en la ICC, como TNF α y IL-17, en pacientes portadores de ICC.

Métodos: Fue extraída sangre de cuarenta pacientes con ICC secundaria a la hipertensión arterial y/o enfermedad coronaria. Los niveles de VD status, IL-17 y TNF α fueron evaluados a través de 25-hidroxi VD3 EIA y ELISA de citocinas. También fueron realizadas evaluación clínica y ecocardiograma.

Resultados: Pacientes añosos con ICC en Nis (Sudeste de Europa, latitud 43°N) presentaron niveles de 25-hidroxi VD3 debajo de lo normal. Nuestros datos demostraron que pacientes con ICC secundaria a la hipertensión arterial tienen niveles significativamente menores de 25-hidroxi VD3, y mayores de TNF α y IL-17A, si son comparados con los niveles de pacientes con ICC secundaria a la enfermedad coronaria.

Conclusiones: Es demostrado aquí que, aun en regiones con muchos días de sol la deficiencia de VD es motivo de preocupación. Los datos sugieren que el déficit de VD contribuye para los elevados niveles de IL-17 y TNF α y, así, al desarrollo de ICC. (Arq Bras Cardiol 2012;98(3):259-265)

Palabras clave: Deficiencia de vitamina D, insuficiencia cardíaca, interleucina-17, hipertensión.

Introducción

Estudios recientes revelaron una fuerte asociación entre el estado de vitamina D (VD) y enfermedades cardiovasculares (ECV)¹⁻³. En los últimos años, la incidencia de deficiencia de VC y la insuficiencia cardíaca crónica (ICC) han aumentado substancialmente en todo el mundo⁴. En general, la ICC representa el nivel final de ECV de naturaleza valvular, coronaria y hipertensiva³. Hoy, es normalmente aceptado que la respuesta inmune pro-inflamatoria es subyacente a su desarrollo^{4,5}. Han sido sugeridos varios mecanismos de protección del calcitriol (1,25-dihidroxi VD3; forma biológicamente activa de la VD) para el desarrollo de la ICC, la regulación de la inflamación, el efecto sobre la hipertrofia de células miocárdicas y proliferación, y la regulación del sistema SRAA³.

El calcitriol es un regulador bien conocido de la homeostasis del calcio y tiene un papel importante en la inflamación⁵. Eso es importante, una vez que ciertas citocinas pro-inflamatorias presentan niveles elevados en pacientes con ICC⁵⁻⁷. El papel del factor de necrosis tumoral α (TNF α) en la ECV ha sido bien descrito⁶. El TNF α está íntimamente relacionado con la disfunción ventricular izquierda, remodelación, apoptosis de los miocitos cardíacos, atenuación de la respuesta de los β adrenérgicos, y activación del óxido nítrico sintasa inducible⁷. Por otro lado, cada vez más pruebas están enfatizando el impacto de la nueva citocina interleucina -17A (IL-17) en la patogénesis de la ICC^{8,9}. La neutralización de la IL-17 reduce la gravedad de la miocarditis⁹ y tiene un papel esencial en el desarrollo de cardiomiopatía dilatada¹⁰. Células Th17 se infiltran en el corazón inflamado y son responsables por la suprarregulación cardíaca específica de IL-6, TNF α , IL-1 β , que pueden promover, directa o indirectamente, fibrosis por inducción de las metaloproteasas de matriz 1, 2, 3 y 9^{10,11}. Además de eso, la TNF α y la IL-17 actúan sinérgicamente para generar un ambiente pro-inflamatorio¹². Importante, el calcitriol regula directamente la expresión de TNF α , IL-6, IL-17, IL-10^{13,14} y la diferenciación de las células Th17 pro-inflamatorias, principal fuente de IL-17¹³.

A pesar de haber sido demostrada la conexión entre IL-17, TNF α y citocinas en el desarrollo y evolución de ECV, la relación de IL-17 con niveles VD en la ICC no ha sido

Correspondencia: Milena Milovanovic •

Institute of pharmacology and toxicology, Faculty of medicine, University of Nis, Bul. dr Zorana Djindjica 81 - 18000 Nis, Sérvia
E-mail: milena.milovanovic@medfak.ni.ac.rs

Artículo recibido el 25/05/11; revisado recibido el 25/05/11; aceptado el 01/12/11.

considerada, hasta donde sabemos. Por esa razón nosotros investigamos el estado de la VD y su impacto sobre el estado de IL-17 y TNF α en esos pacientes¹⁴.

Métodos

Población del estudio

Cuarenta pacientes portadores de ICC secundaria a la hipertensión arterial y/o enfermedad coronaria (de acuerdo con las directrices de la Sociedad Europea de Cardiología¹⁵ fueron admitidos, para estudio, en el Instituto de Cardiología "Niska Banja" en Nis (Servia, Sudeste de Europa, coordenadas geográficas; latitud 43°N y longitud 22°E). Las características de los pacientes están en la Tabla 1. Fue considerada hipertensión arterial, la presión arterial sistólica superior a 140 mmHg, presión arterial diastólica encima de 90 mmHg, o uso de terapia antihipertensiva. La enfermedad coronaria incluía historia de infarto de miocardio, insuficiencia coronaria o angina. De las condiciones que influyen el estado de la VD, fueron considerados como criterios de exclusión: gastrectomía anterior, absorción intestinal deficiente, historia de enfermedad hepática crónica, elevación significativa de las enzimas hepáticas, o evidencias bioquímicas de disfunción hepática, uso actual de drogas antiepilépticas o suplementos conteniendo vitamina D. El estudio fue aprobado por el comité de ética del Instituto de Cardiología y Rehabilitación "Niska Banja", conducido de acuerdo con la Declaración de Helsinki y todos los pacientes firmaron el Término de Consentimiento Libre y Aclarado.

Evaluación clínica y bioquímica

Muestras de sangre periférico fueron colectadas de mañana, en ayunas, e inmediatamente procesadas. Los niveles lipídicos fueron determinados por el laboratorio de diagnóstico de rutina. La clase de NYHA fue determinada por el mismo investigador, a través de la observación de cada paciente en reposo, vistiéndose, caminando y subiendo la escalera. Los scores de NYHA varían de 1 (sin limitaciones para actividad física) a 4 (incapaz de realizar cualquier actividad física)¹⁵.

ELISA de IL-17 y TNF α

Los niveles séricos de IL-17 y TNF α fueron medidos por los kits de ensayo *enzyme-linked immunosorbent* (ELISA), respectivamente, siguiendo las instrucciones del fabricante (ambos de la Biolegend, Fell, Alemania). Las concentraciones mínimas detectables eran 8 pg/ml para TNF α y 2 pg/ml para IL-17. Todas las muestras fueron medidas por duplicado.

EIA de 25-hidroxi vitamina D3

Los niveles séricos de 25-hidroxi vitamina D3 fueron medidos con el kit *Enzymeimmunoassay* (EIA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante (v, Frankfurt am Main, Alemania). El límite de detección del kit es 5 nmol/ml. Todas las muestras fueron medidas por duplicado. En aquel momento, los valores fueron interpretados de la forma siguiente: <20 ng/ml (<50 nmol/l) deficiente; 21–29 ng/ml (51–74 nmol/l) insuficiente; y >30 (>75 nmol/l) suficiente^{16,17}.

Ecocardiograma

En cada paciente fue realizado ecocardiograma transtorácico. Los siguientes parámetros lineales fueron medidos con aparato Vivid 3 (Healthcare, Chalfont St. Giles, Reino Unido): diámetros diastólico final (DDF) y sistólico final (DSF), y diámetro de atrio izquierdo (DAI).

Análisis estadístico

Las variables categóricas son presentadas como porcentajes, y las cuantitativas como media \pm DEM. Fue utilizado el test bicaudal de Mann-Whitney para comparar los resultados entre los grupos. La significación estadística fue establecida en $p < 0,05$. Los cálculos estadísticos fueron realizados utilizando el GraphPad Prism (La Jolla, CA, USA).

Resultados

Pacientes portadores de insuficiencia cardíaca crónica con deficiencia o insuficiencia de vitamina D

Visto que una disminución de los niveles de 25-hidroxi VD3 fue encontrada en pacientes portadores de insuficiencia cardíaca crónica (ICC) en las regiones de Europa Central y del Norte^{1,2}, testeamos si pacientes con ICC en Nis (Servia, Sudeste de Europa, 43°N, 22°E) podrían presentar disminución en los niveles de 25-hidroxi VD3. Pacientes con ICC son caracterizados en la Tabla 1. Pacientes portadores de ICC presentaron niveles de 25-hidroxi VD3 inferiores a 75 nmol/ml (Fig. 1), lo que es considerado abajo de la franja normal¹⁶.

Tabla 1 - Caracterización de los pacientes y voluntarios sanos

	Pacientes (n = 40)
Características clínicas	
Mujeres/Hombres	6/34
Edad(años) ¹	58 (44-66)
Historia de hipertensión	27
Parámetros bioquímicos	
Colesterol total (mmol/l) ²	4,45 \pm 0,20
LDL (mmol/l) ²	2,69 \pm 0,17
HDL(mmol/l) ²	1,07 \pm 0,05
Triglicéridos (mmol/l) ²	1,40 \pm 0,15
Medicación	
Inhibidores de la ECA	77,5% (31/40)
Betabloqueantes	100% (40/40)
Diuréticos	47,5% (19/40)
Nitratos	32,5% (13/40)
Espironolactona	40% (16/40)
Digital	17,5% (7/40)
Antiarrítmicos	27,5% (11/40)
Estatinas	80% (32/40)

¹ mediana (franja); ² media \pm DEM; ECA - enzima convertora de la angiotensina.

Una vez que la hipertensión arterial es uno de los principales factores responsables para el desarrollo y evolución de la ICC³, esta fue recientemente asociada a la deficiencia de la VD¹⁸. Por lo tanto, examinamos de cerca pacientes portadores de ICC secundaria a la hipertensión arterial, en relación a su respuesta inflamatoria. Nuestros resultados demuestran que pacientes con hipertensión y ICC tienen deficiencia de VD ($33,35 \pm 1,57$) si son comparados con aquellos con enfermedad coronaria, que tienen predominantemente insuficiencia de VD ($50,95 \pm 4,48$) (Fig. 1).

Pacientes con ICC tienen niveles elevados de TNF α y IL-17

A continuación, investigamos los niveles de IL-17 y TNF α y su relación con la 25-hidroxi VD3. Los niveles de ambas citocinas pro-inflamatorias, TNF α ($55,21 \pm 2,71$) y IL-17 ($47,22 \pm 4,40$) eran elevados en pacientes con ICC secundaria a la hipertensión arterial, si eran comparados con pacientes con ICC secundaria a la enfermedad coronaria ($49,33 \pm 4,46$ y $34,91 \pm 3,22$, respectivamente) (Fig. 2) y las diferencias alcanzaron significación estadística. Estos datos

sugieren que la VD puede ser el factor regulador de TNF α y IL-17 subyacentes al desarrollo de la hipertensión arterial, y consecuentemente de la ICC.

Pacientes portadores de ICC con deficiencia de VD presentan peores hallazgos ecocardiográficos y mayores escores de NYHA

La deficiencia de VD, así como el aumento de TNF α y IL-17 han sido relacionados a la dilatación ventricular^{6,10,19}. Por lo tanto, comparamos los hallazgos ecocardiográficos en pacientes portadores de ICC con deficiencia e insuficiencia de VD.

Pacientes portadores de ICC con deficiencia de VD presentaron valores más altos, de DDF, DSF, DAI y más bajos de FE. Con todo, las diferencias no alcanzaron significación estadística, probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra (Tabla 2).

Los escores de NYHA de nuestros pacientes variaron de 1 (sin limitaciones para actividad física) a 3 (importantes

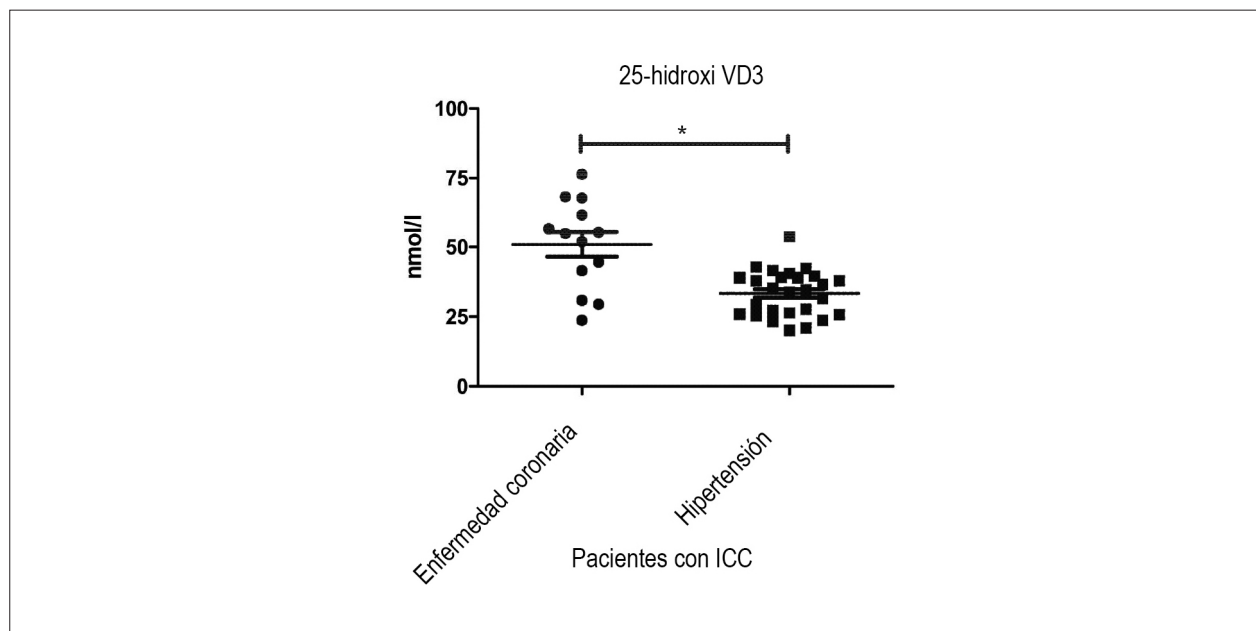


Figura 1 - Estado de VD en pacientes portadores de ICC secundaria a la enfermedad coronaria o hipertensión arterial. Fueron determinados niveles séricos de 25-hidroxi niveles VD3 en pacientes con ICC secundaria a la enfermedad coronaria ($n=13$) y pacientes con ICC secundaria a la hipertensión arterial ($n=27$) usando EIA. Los datos son presentados como valores únicos con media; * $p < 0,05$.

Tabla 2 - Medidas ecocardiográficas en pacientes con ICC

	Todos los individuos con ICC	pacientes con insuficiencia de VD	pacientes con deficiencia de VD
FE1 (%)	$33,33 \pm 1,34$	$34,10 \pm 1,61$	$31,46 \pm 2,28$
DDF1 (mm)	$60,63 \pm 1,16$	$59,48 \pm 1,88$	$61,72 \pm 1,40$
DSF1 (mm)	$45,91 \pm 1,55$	$45,71 \pm 2,13$	$46,09 \pm 2,31$
DAI1 (mm)	$44,56 \pm 0,93$	$43,55 \pm 1,12$	$45,44 \pm 1,44$

¹ media \pm DEM. ICC - insuficiencia cardíaca crónica; VD - Vitamina D; FE - Fracción de eyección; DDF - Diámetro diastólico final; DSF - Diámetro sistólico final; DAI - Diámetro de atrio izquierdo.

limitaciones para actividad física). Las porcentajes de individuos con NYHA clase 1, 2 o 3 fueron de 7,5% (3/40), 42,5% (17/40), y 50% (20/40), respectivamente. Pacientes portadores de ICC con deficiencia de VD tienen mayores escores de NYHA que los pacientes con insuficiencia de VD. (Fig. 3).

Discusión

Es mostrado aquí que pacientes añosos portadores de ICC en Nis (Servia, Sudeste de Europa) tienen niveles de 25-hidroxi VD3 inferiores a los valores normales. También identificamos que pacientes con ICC secundaria a la hipertensión arterial tienen niveles significativamente menores de 25-hidroxi VD3,

y mayores de TNF α y IL-17A, si son comparados con los niveles de pacientes con ICC secundaria a la enfermedad coronaria. Esto sugiere que la VD da soporte al desarrollo y evolución de ECV a través de la promoción de la hipertensión arterial y su inflamación subyacente. Además de eso, pacientes con deficiencia de VD presentaron mayores escores de NYHA y hallazgos ecocardiográficos si eran comparados con pacientes con insuficiencia de VD.

Niveles drásticamente reducidos de 25-hidroxi VD3 en la población añosa encontrados en este estudio indicaron que aun las regiones con muchos días de sol a lo largo del año, como las del Sudeste de Europa, no evitaron la deficiencia "epidémica" de VD. La radiación solar anual de acuerdo

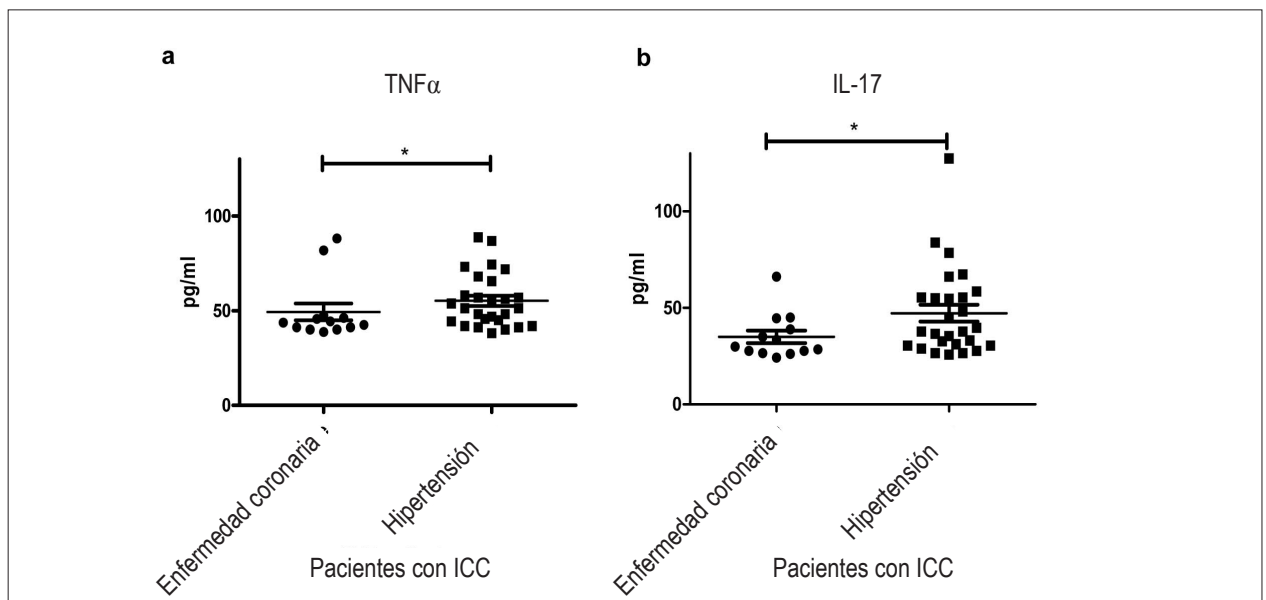


Figura 2 - Diferencias en (a) TNF α y (b) IL-17 entre pacientes portadores de ICC secundaria a la enfermedad coronaria (n=13) y a la hipertensión arterial (n=27). Los niveles séricos de la 25-hidroxi VD3, TNF α y IL-17 fueron determinados a través de ELISA. Los datos son presentados como valores únicos con media; * $p < 0,05$.

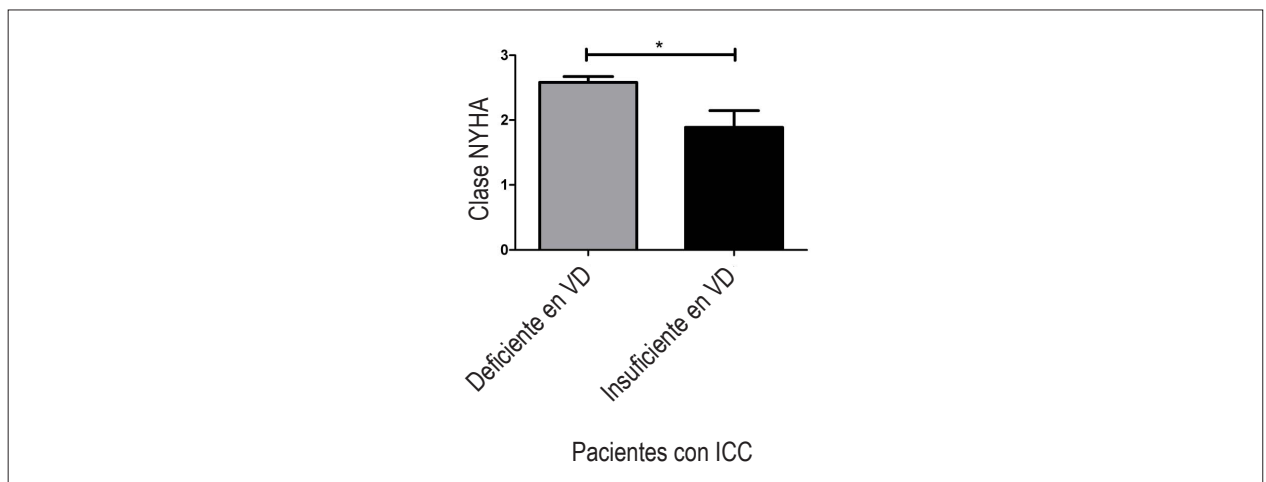


Figura 3 - Escores de NYHA en pacientes portadores de ICC con deficiencia y insuficiencia de VD. La clase de NYHA fue determinada a través de la observación de cada paciente en reposo, vistiéndose, caminando y subiendo escaleras. Los datos son presentados como media \pm DEM; * $p < 0,05$; pacientes con deficiencia de VD n=31; pacientes con insuficiencia de VD n=9.

con el servicio hidrometeorológico de la República de Serbia se sitúa entre 1500-2200 h por año, más que la mayoría de los países europeos. Hallazgos semejantes fueron observados en la población añosa en Croacia y Grecia, también ubicadas en el Sudeste de Europa^{20,21}. Como la hipertensión arterial representa un importante factor responsable por el desarrollo de la ICC³, investigamos pacientes con ICC secundaria a hipertensión con más detalle. Los datos revelaron que los pacientes que sufren de hipertensión arterial tienen estados de VD significativamente menores, lo que está en conformidad con los hallazgos anteriores de Anderson et al. demostrando que la deficiencia de VD está altamente correlacionada con la prevalencia de hipertensión²². Curiosamente, esos pacientes portadores de ICC tenían niveles séricos drásticamente elevados de IL-17 y TNF α . Podemos observar también que los pacientes en terapia con estatina antilipídémica exhibían niveles estadísticamente más elevados de 25-hidroxi VD3, sin embargo estos niveles permanecieron insuficientes (datos no mostrados). Este hallazgo apoya los varios informes anteriores que sugirieron que las estatinas pueden aumentar la síntesis del calcitriol a través de la inducción de la enzima 7 - dehidrocolesterol^{23,24}.

El papel del TNF α en la ECV ha sido bien establecido⁶. Ratones con sobre-expresión del TNF α o tratados con TNF α desarrollan hipertensión arterial, disfunción ventricular izquierda y remodelado, y mueren de ICC^{25,26}. De hecho, nuestra observación de que pacientes con ICC secundaria a la hipertensión arterial tienen niveles más elevados de TNF α apoya esos hallazgos. La nueva citocina pro-inflamatoria IL-17 fue recientemente implicada en la ICC¹⁰. Modelos animales demostraron que la IL-17 es esencial para el desarrollo de miocardiopatía dilatada, probablemente por estimulación de la fibrosis a través de la inducción directa y/o indirecta de MMP1/2/3/9^{10,11}. La IL-17 también es necesaria para la expresión sostenida de la IL-6 durante la miocarditis²⁷. La IL-6 cardíaca elevada fue asociada con el desarrollo de la miocardiopatía dilatada, probablemente a través de la promoción de la fibrosis del miocardio. Esta opinión es corroborada por el hecho de que la neutralización de la IL-6 mejora la fibrosis y la función cardíaca durante el rechazo crónico del injerto cardíaco²⁷. Mientras tanto, nuevos experimentos son necesarios para confirmar el papel específico de la IL-6, como señal hacia adelante de la IL-17 en la ICC. Ha sido sugerido también el papel de otras sustancias bioquímicas, como el factor de diferenciación de crecimiento -15, IL-1, IL-2 y IL-10 en la ICC^{7,28,29}. Diversos estudios encontraron niveles opuestos de IL-1 y IL-2; curiosamente, la citocina antiinflamatoria IL-10 fue encontrada en niveles elevados en pacientes con ICC, cuando comparada con controles sanos. Mientras tanto, la elevación en los niveles de citocinas antiinflamatorias no es adecuadamente proporcional al aumento de los niveles de citocinas pro-inflamatorias, a fin de ser benéfico para pacientes con ICC¹⁸.

Es probable que la VD sea subyacente a la patogénesis de la ICC en varios niveles (inflamación, homeostasis del calcio, sistema renina-angiotensina-aldosterona)³. Nuestros hallazgos juntamente con datos anteriores obtenidos *in vitro* de que la VD regula la expresión de la IL-17 y del TNF α en células inmunes sugieren que la acción de la VD sobre las células Th17 representa por lo menos uno de los mecanismos que controlan

la inflamación en la ECV. La VD puede disminuir directamente la producción de la IL-17, por su principal fuente, las células Th17³⁰ y perjudican su diferenciación^{31,32}. De forma importante, la IL-17 es un inductor de IL-6 y TNF citocina pro-inflamatoria, específicamente en el corazón¹⁰. Por otro lado, la propia VD disminuye los niveles de citocina IL-6 y TNF α citocina¹³, que son importantes para la diferenciación de Th17³⁰. Eso sugiere que la VD podría modular la inflamación inicial que conduce a la diferenciación de Th17, que a su vez soporta más inflamación y daño tisular. Por lo tanto, esos hallazgos sugieren la importancia del subconjunto de células Th17 en la ECV y la IL-17 como blanco supuestos para futuras opciones terapéuticas.

Como los pacientes que sufren de hipertensión arterial tienen significativamente estados más bajos de VD y niveles séricos aumentados de IL-17 y de TNF α , es posible que los niveles de VD a lo largo del período de vida, pudieran generar la inflamación crónica e hipertensión, y consecuentemente conducir a la ICC. Dos estudios prospectivos apoyaron esa posibilidad según lo revisado por Vaidya et al¹⁸: El primero controló, durante 4 años, 1.811 participantes no hipertensos y demostró que pacientes con bajos niveles de con 25-hidroxi VD3 tienen mayor riesgo relativo de incidencia de hipertensión arterial, si son comparados con aquellos cuyos niveles eran elevados, el segundo estudio de caso-control incluido dentro de un estudio de cohortes del Estudio de Salud II de Nurses, mostró resultados semejantes¹⁸. Hasta ahora, diversos ensayos clínicos randomizados relataron alteración en la presión arterial después de la suplementación con VD, mientras tanto, solamente en 2 ensayos de control fue evitado el uso de antihipertensivos. Scragg et al. demostraron que individuos que recibieron una única dosis de 100.000 IU de colecalciferol no presentaron ninguna diferencia detectable de la presión sanguínea cuando era comparada con el grupo placebo después de 5 semanas. En otro ensayo, mujeres recibieron 800 UI/día de colecalciferol o placebo durante 8 semanas. El grupo que recibió *verum* presentó una reducción significativa de la presión arterial sistólica en comparación con el placebo. Debido a diversos hallazgos opuestos sobre la suplementación de VD y ECV, se está realizando actualmente un promisorio ensayo randomizado de vitamina D y omega-3 Trial (VITAL) envolviendo 20.000 individuos. Un objetivo primario de este ensayo es determinar si altas dosis de suplementación de vitamina D de larga duración (5 años) pueden prevenir ECV y cáncer¹⁸.

Una vez que excluimos otra enfermedad que podría precipitar niveles disminuidos de VD, nuestras observaciones sugieren que el sedentario estilo de vida moderno llevó al hecho de que aun en las regiones con muchos días de sol, la deficiencia de VD representa una cuestión preocupante. Como los pacientes portadores de hipertensión arterial tienen significativamente menor estado de VD y niveles séricos aumentados de IL-17 y de TNF α , es posible que la VD soporte el desarrollo de ECV a través de la promoción de la hipertensión arterial y su inflamación subyacente.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, República de Serbia (III41018 y TP31060). Los financiadores no tuvieron ningún papel en el

diseño del estudio, en la colecta de datos, en el análisis, o en la decisión de publicar o elaborar este artículo.

Agradecemos a Radica Pavlovic y Slavoljub Zivanovic por el excelente soporte técnico.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Referencias

1. Reddy Vanga S, Good M, Howard PA, Vacek JL. Role of vitamin D in cardiovascular health. *Am J Cardiol*. 2010;106(6):798-805.
2. Grandi NC, Breitling LP, Brenner H. Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med*. 2010;51(3-4):228-33.
3. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Vitamin D insufficiency in congestive heart failure: why and what to do about it? *Heart Fail Rev*. 2006;11(1):25-33.
4. Young JB. The global epidemiology of heart failure. *Med Clin North Am*. 2004;88(5):1135-43, ix.
5. Mora C, Myers RA, Coll M, Libralato S, Pitcher TJ, Sumaila RU, et al. Management effectiveness of the world's marine fisheries. *PLoS Biol*. 2009;7(6):e1000131.
6. von Haehling S, Jankowska EA, Anker SD. Tumour necrosis factor-alpha and the failing heart--pathophysiology and therapeutic implications. *Basic Res Cardiol*. 2004;99(1):18-28.
7. Bozkurt B. Activation of cytokines as a mechanism of disease progression in heart failure. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(Suppl 1):i90-3.
8. Jafarzadeh A, Esmaeeli-Nadimi A, Nough H, Nemat M, Rezayati MT. Serum levels of interleukin (IL)-13, IL-17 and IL-18 in patients with ischemic heart disease. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2009;9(2):75-83.
9. Sonderegger I, Rohn TA, Kurrer MO, Iezzi G, Zou Y, Kastelein RA, et al. Neutralization of IL-17 by active vaccination inhibits IL-23-dependent autoimmune myocarditis. *Eur J Immunol*. 2006;36(11):2849-56.
10. Baldeviano GC, Barin JG, Talor MV, Srinivasan S, Bedja D, Zheng D, et al. Interleukin-17A is dispensable for myocarditis but essential for the progression to dilated cardiomyopathy. *Circ Res*. 2010;106(10):1646-55.
11. Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gurgan C, Sorsa T, Kontinen YT. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. *J Dent Res*. 2007;86(4):347-51.
12. Csiszar A, Ungvari Z. Synergistic effects of vascular IL-17 and TNF α may promote coronary artery disease. *Med Hypotheses*. 2004;63(4):696-8.
13. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(9):685-98.
14. Tang J, Zhou R, Luger D, Zhu W, Silver PB, Grajewski RS, et al. Calcitriol suppresses antiretinal autoimmunity through inhibitory effects on the Th17 effector response. *J Immunol*. 2009;182(8):4624-32.
15. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur Heart J*. 2008;29(19):2388-442.
16. Miller J, Gallo RL. Vitamin D and innate immunity. *Dermatol Ther*. 2010;23(1):13-22.
17. Lehmann B, Meurer M. Vitamin D metabolism. *Dermatol Ther*. 2010;23(1):2-12.
18. Vaidya A, Forman JP. Vitamin D and hypertension: current evidence and future directions. *Hypertension*. 2010;56(5):774-9.
19. Ameri P, Ronco D, Casu M, Denegri A, Bovio M, Menoni S, et al. High prevalence of vitamin D deficiency and its association with left ventricular dilation: an echocardiography study in elderly patients with chronic heart failure. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010;20(9):633-40.
20. Laktasic-Zerjavic N, Korsic M, Crncevic-Orlic Z, Kovac Z, Polasek O, Soldo-Juresa D. Vitamin D status, dependence on age, and seasonal variations in the concentration of vitamin D in Croatian postmenopausal women initially screened for osteoporosis. *Clin Rheumatol*. 2010;29(8):861-7.
21. Papapetrou PD, Triantaphyllopoulou M, Karga H, Zagarelou P, Aloumanis K, Kostakioti E, et al. Vitamin D deficiency in the elderly in Athens, Greece. *J Bone Miner Metab*. 2007;25(3):198-203.
22. Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, et al. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol*. 2010;106(7):963-8.
23. Perez-Castrillon JL, Vega G, Abad L, Sanz A, Chaves J, Hernandez G, et al. Effects of Atorvastatin on vitamin D levels in patients with acute ischemic heart disease. *Am J Cardiol*. 2007;99(7):903-5.
24. Guryev O, Carvalho RA, Usanov S, Gilep A, Estabrook RW. A pathway for the metabolism of vitamin D3: unique hydroxylated metabolites formed during catalysis with cytochrome P450scc (CYP11A1). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(25):14754-9.
25. Bryant D, Becker L, Richardson J, Shelton J, Franco F, Peshock R, et al. Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation*. 1998;97(14):1375-81.
26. Kubota T, McTiernan CF, Frye CS, Slawson SE, Lemster BH, Koretsky AP, et al. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha. *Circ Res*. 1997;81(4):627-35.
27. Diaz JA, Booth AJ, Lu G, Wood SC, Pinsky DJ, Bishop DK. Critical role for IL-6 in hypertrophy and fibrosis in chronic cardiac allograft rejection. *Am J Transplant*. 2009;9(8):1773-83.
28. Dinh W, Futh R, Lankisch M, Hess G, Zdunek D, Scheffold T, et al. Growth-differentiation factor-15: a novel biomarker in patients with diastolic dysfunction? *Arq Bras Cardiol*. 2011;97(1):65-75.
29. Batista ML Jr, Lopes RD, Seelaender MC, Lopes AC. Anti-inflammatory effect of physical training in heart failure: role of TNF-alpha and IL-10. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(6):643-51, 692-700.
30. Louten J, Boniface K, de Waal Malefyt R. Development and function of TH17 cells in health and disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(5):1004-11.
31. Ikeda U, Wakita D, Ohkuri T, Chamoto K, Kitamura H, Iwakura Y, et al. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 and all-trans retinoic acid synergistically inhibit the differentiation and expansion of Th17 cells. *Immunol Lett*. 2010;134(1):7-16.
32. Daniel C, Sartory NA, Zahn N, Radeke HH, Stein JM. Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T helper (Th) 1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;324(1):23-33.

