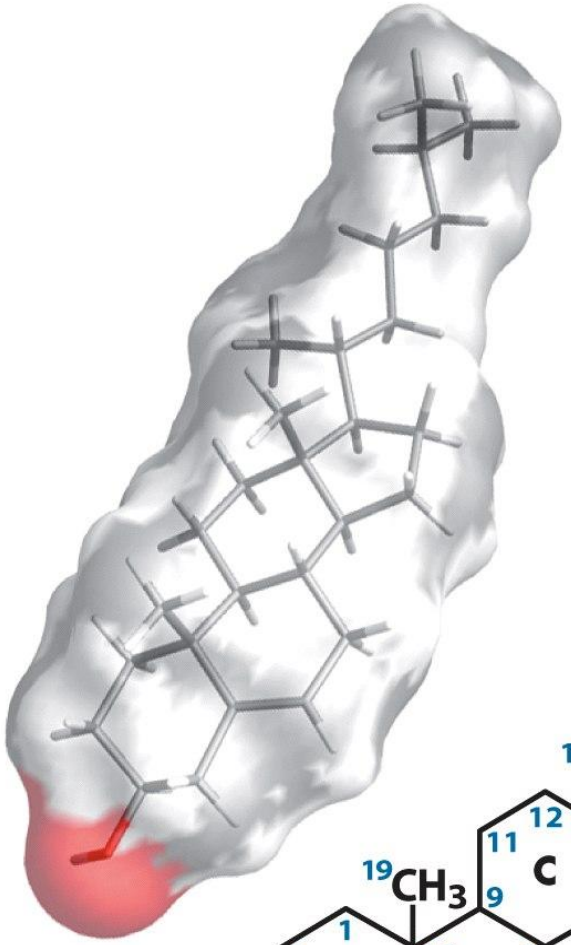
Лекция 2

Нарушения метаболизма холестерина

Структура холестерина

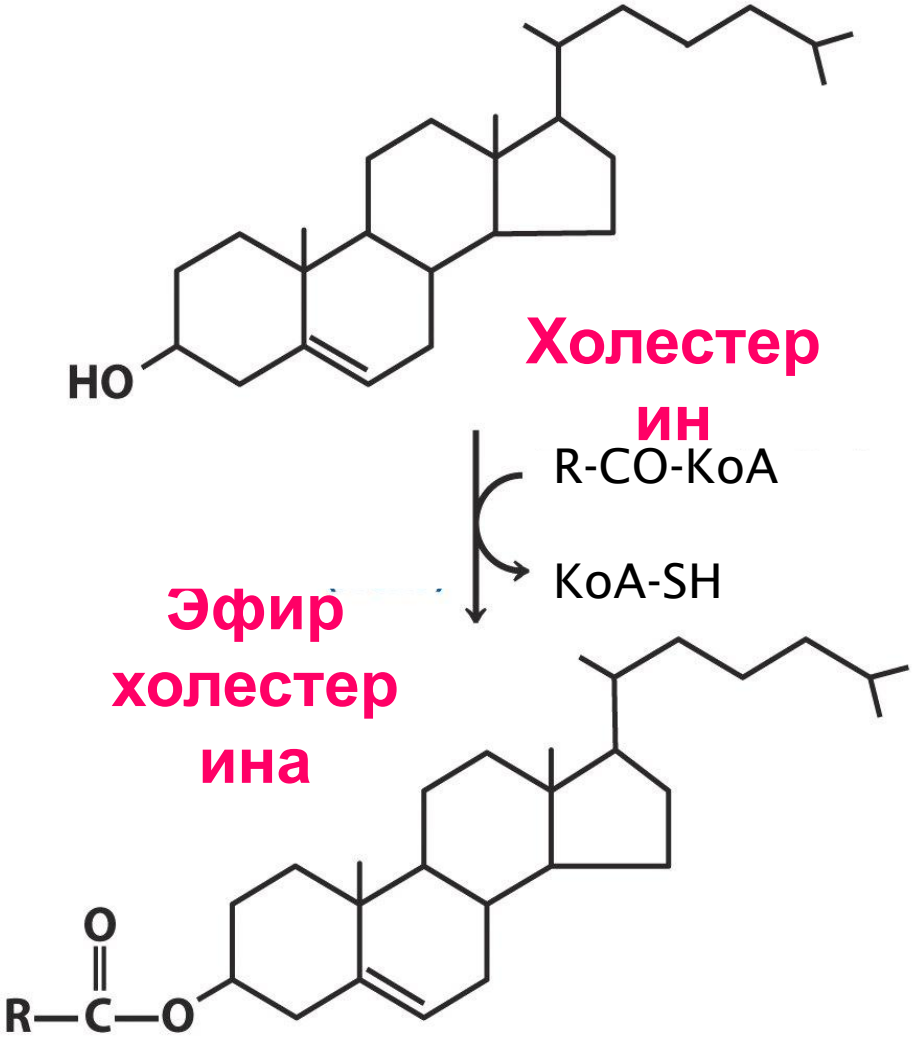


Гидрофобная боковая цепь

Полярная голова

Стероидное ядро

Образование эфиров холестерина



В некоторых тканях гидроксильная группа холестерина этерифицируется с образованием более гидрофобных молекул – эфиров холестерина. В крови около 75% холестерина находится именно в виде эфиров

Функции холестерина

1. Холестерин входит в состав наружных мембран клетки и существенно влияет на их свойства: при высоком содержании холестерина образуются области (микродомены) с повышенной вязкостью (рафты), в которых заякорено большое количество белков, взаимодействующих друг с другом, в них много гликолипидов и гликопротеидов. Рафты служат центрами, где происходит сборка молекул, формирующих сигнальные пути, они регулируют перемещение мембранных белков и рецепторов, поскольку рафты свободно перемещаются в бислое.

Функции холестерина

2. Холестерин является субстратом для синтеза:

а) желчных кислот

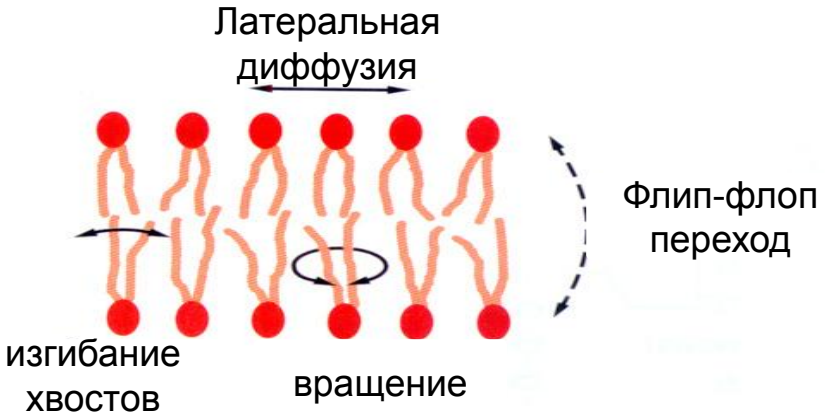
б) стероидных гормонов

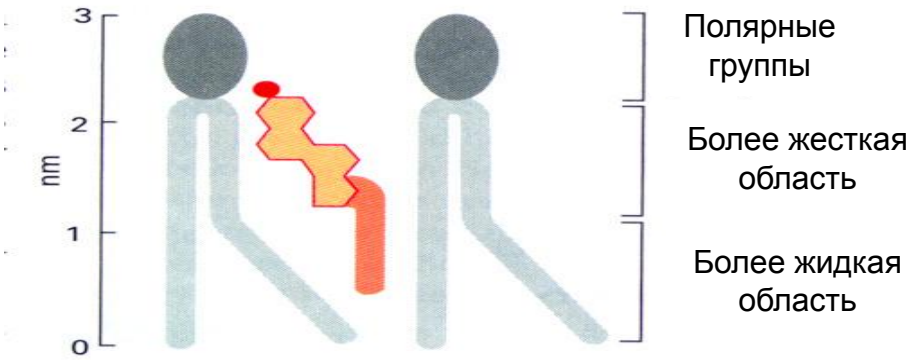
в) витамина D

О важности холестерина для организма можно судить по тому, что всего в обмене холестерина участвует около 300 белков.

В процесс синтеза холестерина вовлечено около 100 белков.

Почему холестрин влияет на микровязкость мембран?



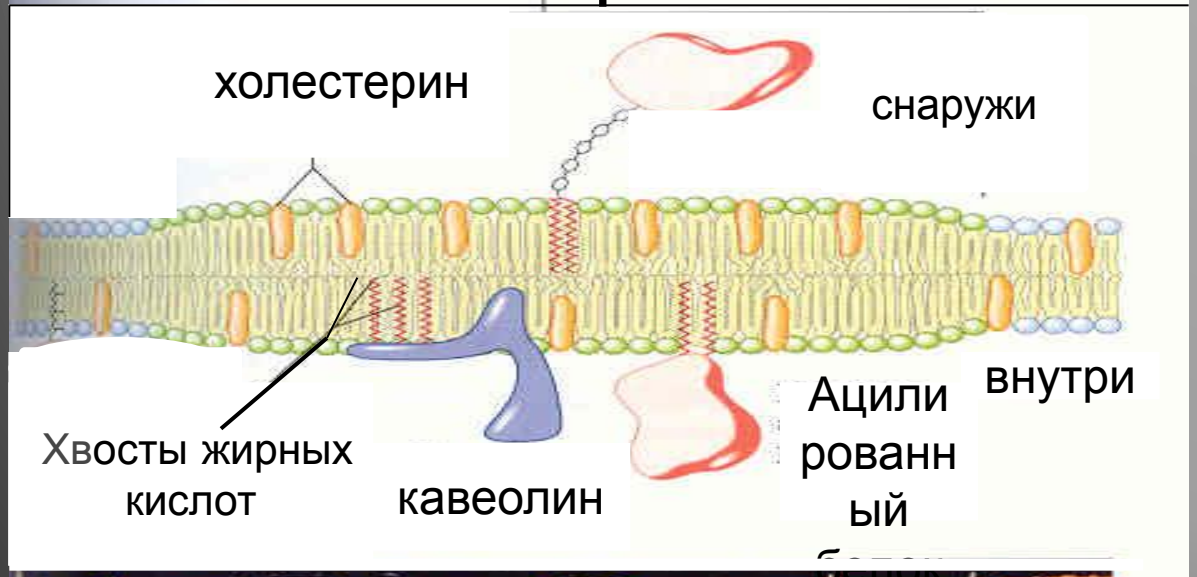


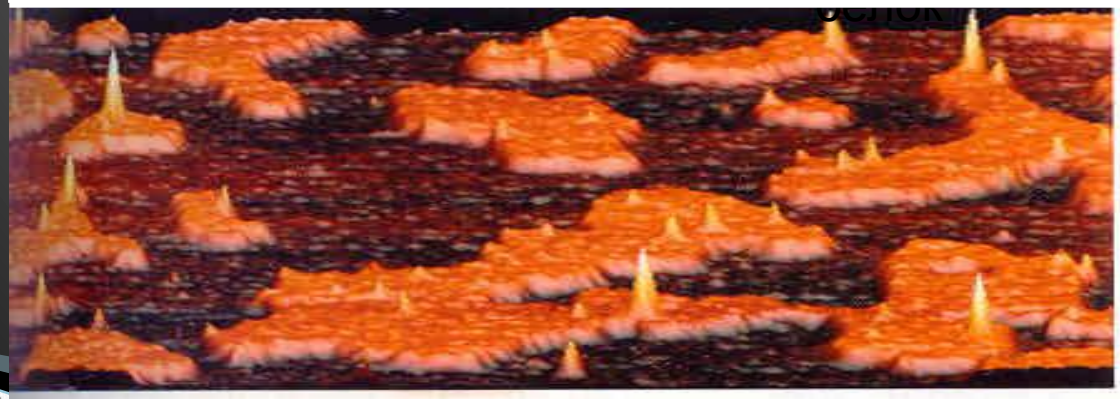
Молекула холестерина очень гидрофобная и жесткая. Она встраивается между молекулами фосфолипидов в липидных бислоях и ограничивает их подвижность при относительно высоких температурах.

Холестерин действует на микровязкость мембран разнонаправленно в зависимости от температуры, он стабилизирует участок мембраны, который им обогащен, и повышает точку плавления липидов в этой области бислоя. В то же время при низких температурах он предотвращает образование липидных кластеров.

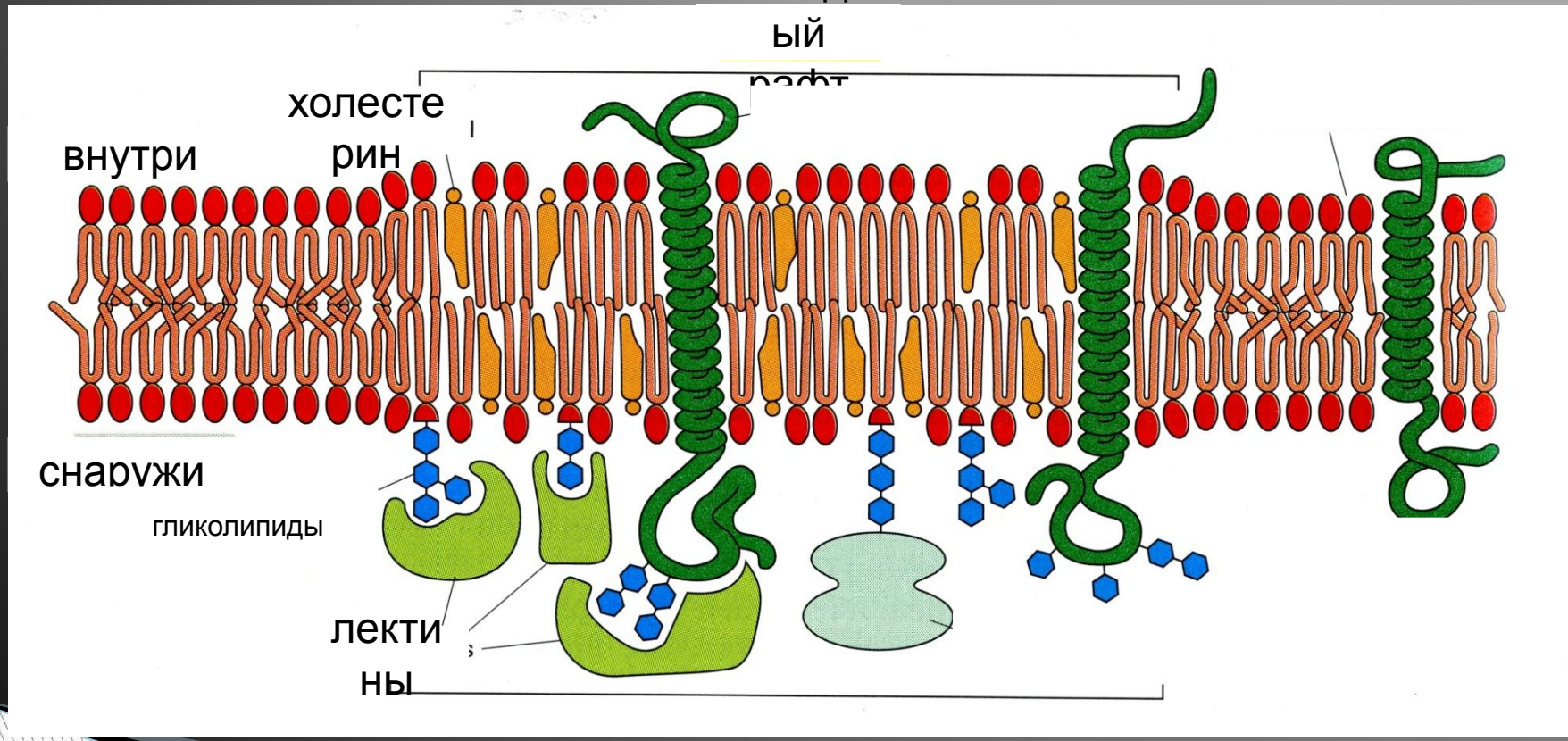
Микродомены липидов и белков в плазматической мембране (RAFTS)

Рафт, обогащенный холестерином





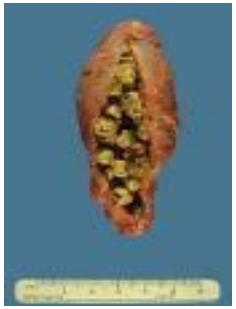
Липидный микродомен (RAFT) в мембране комплекса Гольджи



Важнейшие последствия нарушения обмена холестерина

1. **Атеросклероз** 2. **Желчно-каменная болезнь**

В **Европе и Северной Америке это заболевание встречается у 20-30% женщин и примерно у 10% мужчин. Заболеваемость желчно-каменной болезнью за последние 10 лет почти удвоилось.**



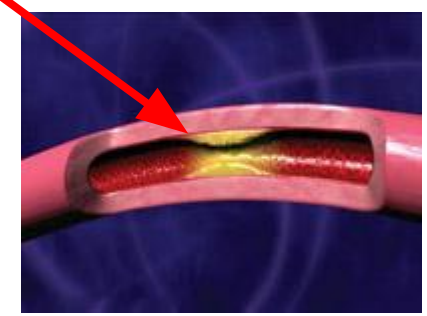
Основная причина этих заболеваний – нарушение баланса между поступлением холестерина (с пищей и за счет синтеза) и его выведением из организма

Начало исследований

- Война в Корее (1950 – 1953 гг.). Все погибшие молодые солдаты США подвергались тщательному патолого-анатомическому исследованию. Каково же было изумление паталогоанатомов, когда они обнаружили выраженный атеросклероз артерий сердца у 50% погибших солдат в возрасте 21-24 лет. У некоторых из них сосуды сердца были сужены более чем на 50%. При жизни у этих солдат не было никаких симптомов сосудистых заболеваний, поскольку первые симптомы появляются лишь только тогда, когда просвет коронарного или мозгового сосуда закрыт уже на 75%.

Что такое атеросклероз?

Атеросклеротическая бляшка



Атеросклероз – это хроническое воспалительное заболевание стенок сосудов, для которого характерно образование наростов (бляшек) внутри сосудов, сужающих кровеносное русло и приводящих к значительному уменьшению количество крови, доставляемому к определенному органу (чаще всего сердцу или мозгу). Результатом этого является поражение этих органов: инфаркт или инсульт. На ранних стадиях развития атеросклероза атеросклеротические бляшки содержат очень много холестерина.

Уровень холестерина в крови

- Норма: менее 5, 18 ммоль/л
- Пограничный уровень: 5,18-6,19 ммоль/л
- Повышенный уровень: более 6,2 ммоль/л

Содержание холестерина в различных организмах и его частях

1. Холестерин содержится исключительно в продуктах животного происхождения поэтому «подсолнечное масло без холестерина» - это рекламный трюк.

2. В клетках он находится главным образом в наружной (плазматической) мембране.

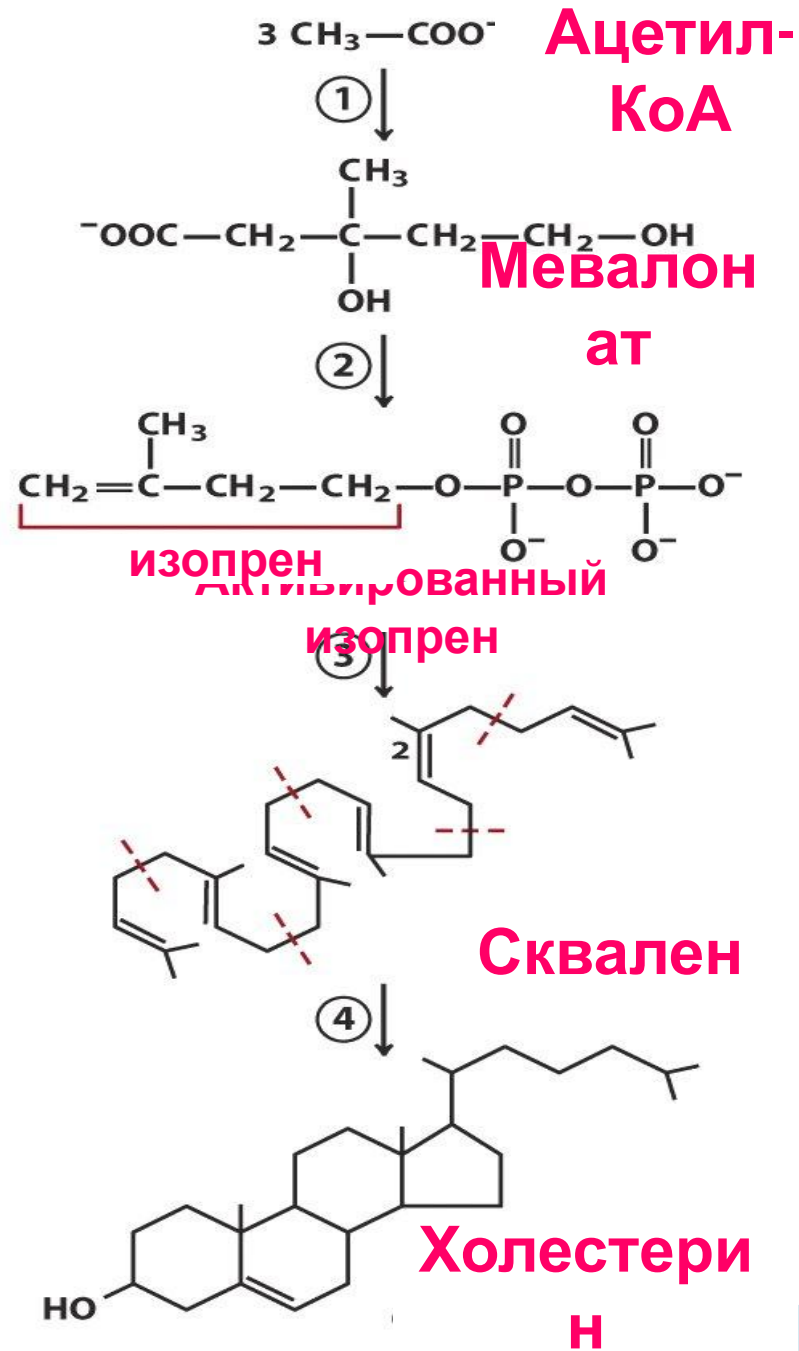
3. В крови человека холестерин присутствует в составе липопротеидных комплексов

Баланс холестерина в организме человека

Синтез холестерина

- Половина холестерина (около 0,5 г) синтезируется в печени
- 15-20% синтезируется в тонком кишечнике
- 25-30% - в коже, коре надпочечников, половых железах

Основные этапы синтеза холестерина



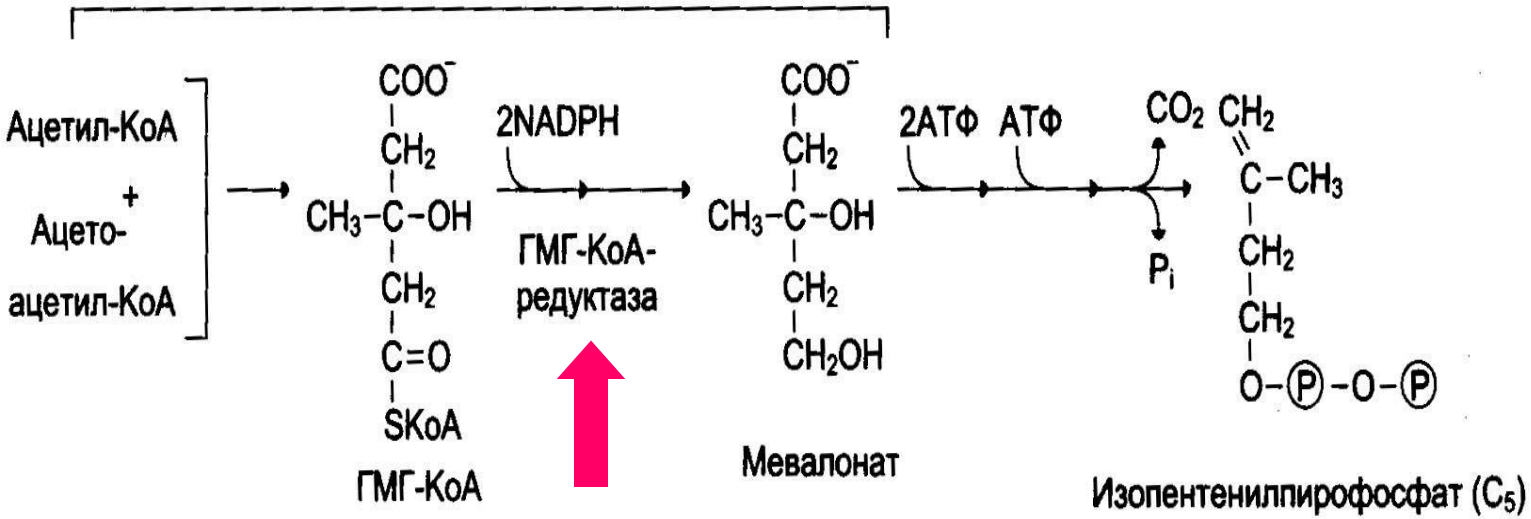
1. Образование мевалоновой кислоты из ацетил-КоА

2. Образование изопентенил-пирофосфата (5 атомов С)

3. Образование сквалена (30 атомов С)

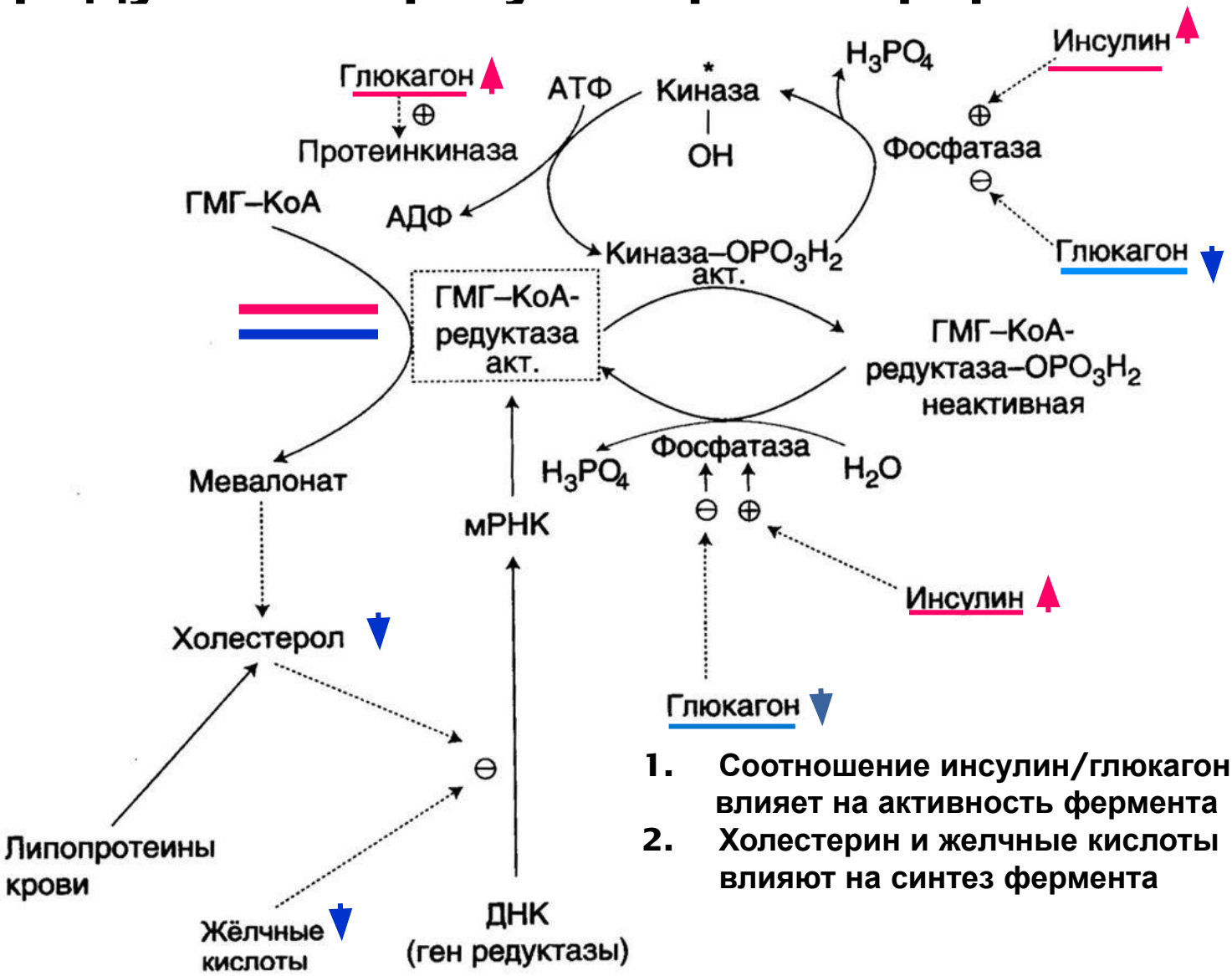
4. Превращение сквалена в холестерин (27 атомов С)

Начальные этапы синтеза холестерина



Получения мевалоновой кислоты связано с функционированием 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (ГМГ-КоА-редуктаза)

3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктаза – регуляторный фермент



1. Соотношение инсулин/глюкагон влияет на активность фермента
2. Холестерин и желчные кислоты влияют на синтез фермента

Почему снижение уровня холестерина в пище уменьшает, но не прекращает развитие атеросклероза?

Катаболизм глюкозы и липидов приводит к синтезу ацетил-КоА

Гликолиз

Глюкоза (6 атомов С)

↓

2 пирувата (3 атома С)

β-Окисление жирных кислот (пальмитат 16 атомов С)

↓

8 ацетил-КоА (2 атома С)

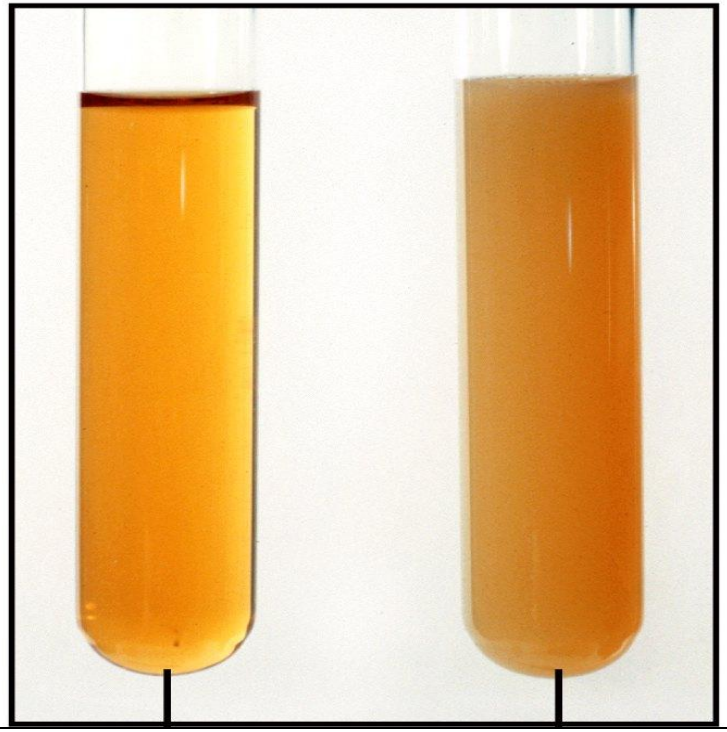
Окислительное декарбоксилирование

2 CO_2

2 ацетил-КоА

Синтез холестерина

Экзогенный холестерин. Попадание липидов в кровь после еды



Плазма крови до (слева) и после еды (справа)

Транспорт холестерина липопротеидами крови

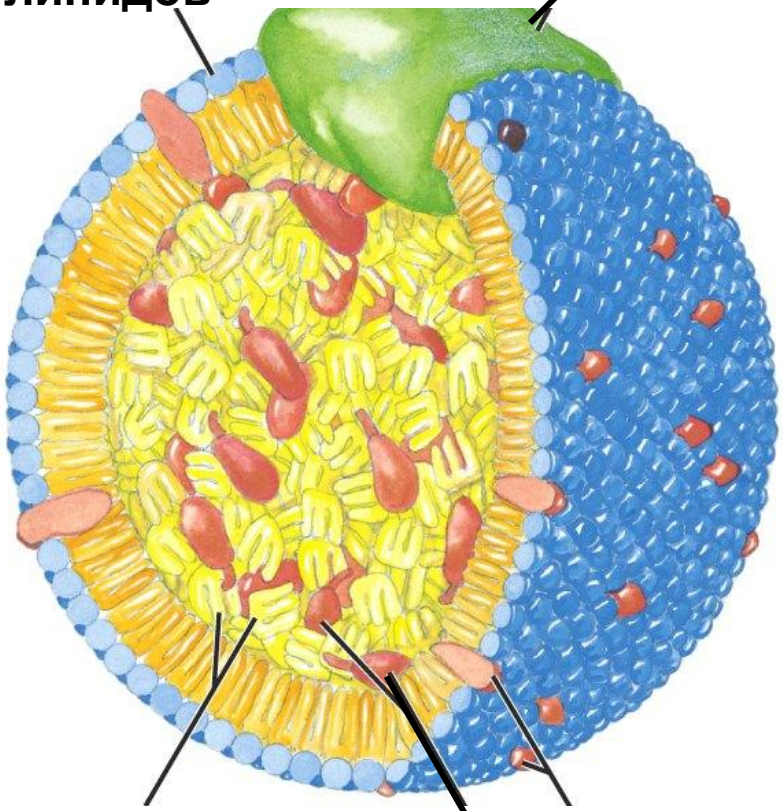
1. После всасывания экзогенный холестерин транспортируется в печень в составе частиц *хиломикронов (ХМ)*

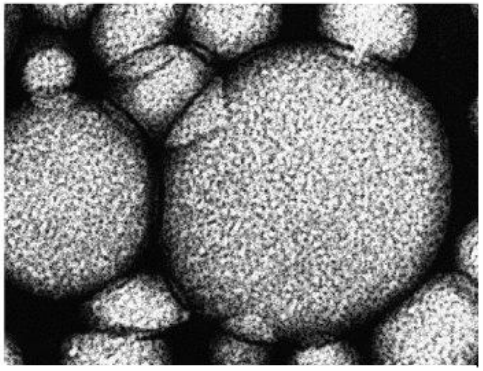
2. Эндогенный холестерин секретируется из печени в составе ***липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП)***

3. ЛПОНП под действием ЛП-липазы превращаются в ***липопротеиды промежуточной плотности (ЛППП)*** (содержат около 45% холестерина), которые затем превращаются в ***липопротеиды низкой плотности (ЛПНП)***, содержащие около 55% холестерина

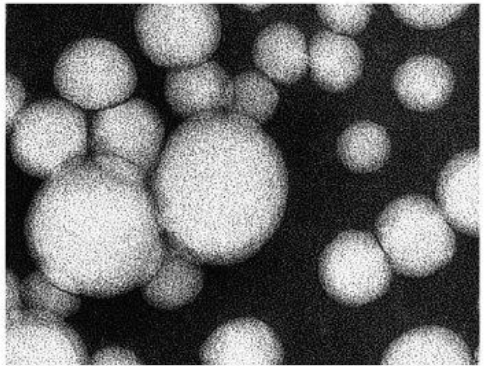
4. **Обратный транспорт** холестерина **из тканей в печень** осуществляется с использованием ***липопротеидов высокой плотности (ЛПВП)***

Структура липопротеидов

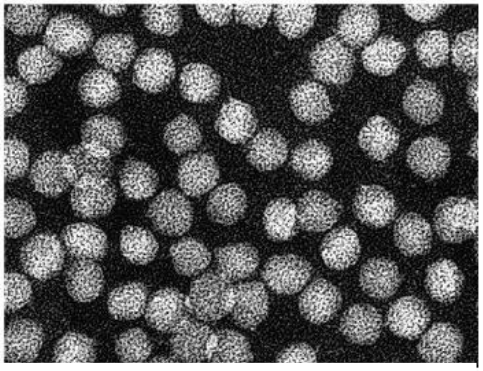




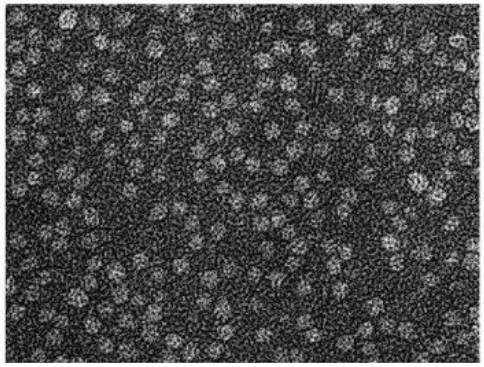
ХМ



ЛПОНП



ЛПНП

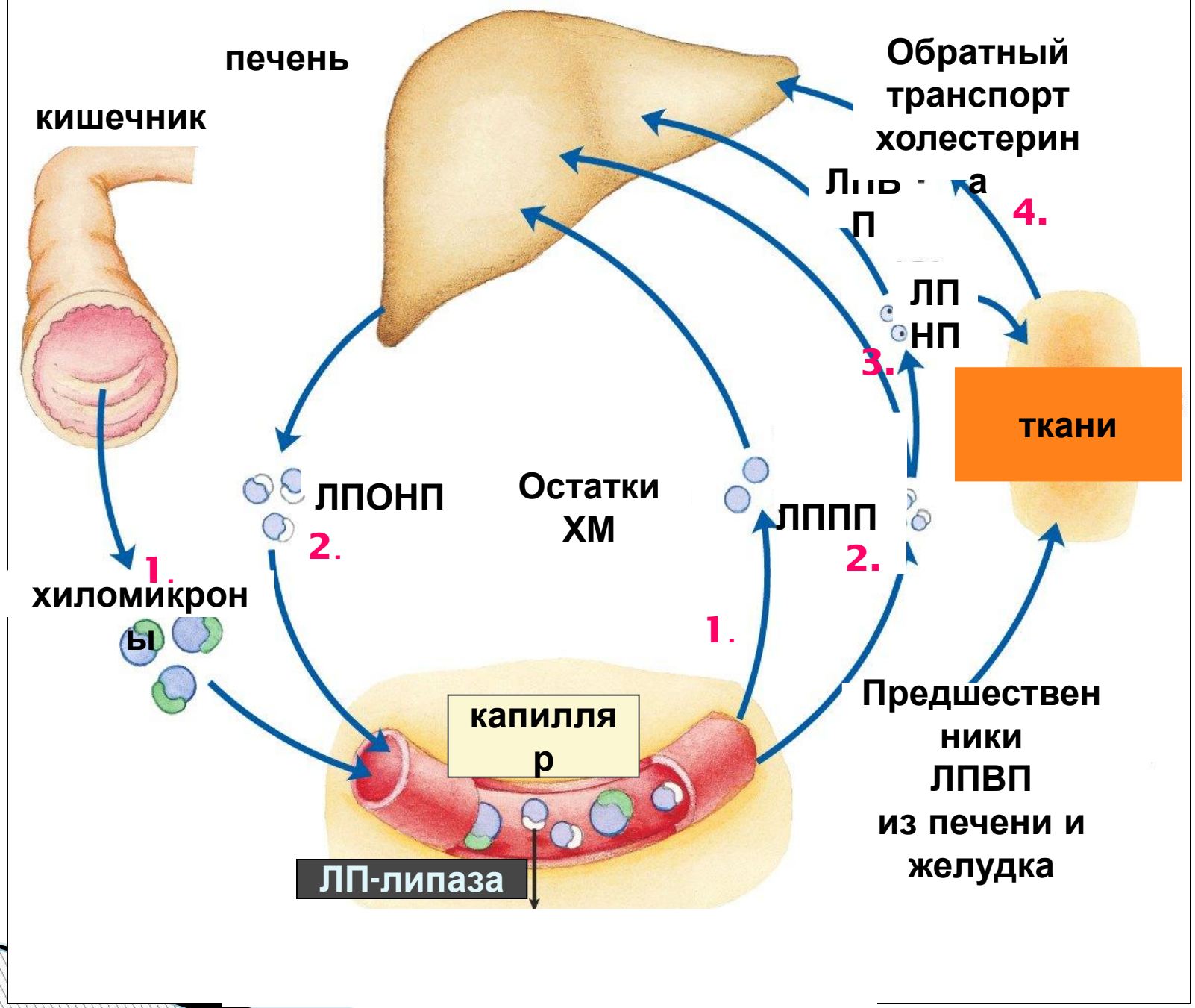


ЛПВП

Состав различных липопротеидов

Липо-про-теид	Плот-ность (г/мл)	Бе-лок (%)	Фос-фо-липи-ды (%)	Свобод-ный холе-стерин (%)	Эфиры холестерина (%)	Триацил-гли-цериды (%)
ХМ	Менее 1,006	2	9	1	3	85
ЛПОНП	0,95-1,006	10	18	7-10	12	50
ЛПНП	1,006-1,063	23	20	8-10	37	10
ЛПВП	1,063-1,210	55	24	2	15	4

Аполипопро-теин	Молекуляр-ный вес (кДа)	Липопротеид	Функция
АпоА-I	28,3	ЛПВП	Взаимодействует с АВС-транспортером
АпоА-II	17,4	ЛПВП	Ингибитор липаз
АпоА-IV	44	ХМ, ЛПВП	Сигнал о насыщении из кишечника
АпоВ-48	240	ХМ	
АпоВ-100	513	ЛПОНП, ЛПНП	Связывается с рецептором ЛПНП
АпоС-I	7	ЛПОНП, ЛПВП	
АпоС-II	8,8	ХМ, ЛПОНП, ЛПВП	Активирует ЛП-липазу
АпоС-III	8,7	ХМ, ЛПОНП, ЛПВП	Ингибирует ЛП-липазу
АпоD	32,5	ЛПВП	Белок, переносящий эфиры холестерина
АпоЕ	34,1	ХМ, ЛПОНП, ЛПВП	Запускает клиренс ЛПОНП и остатков ХМ

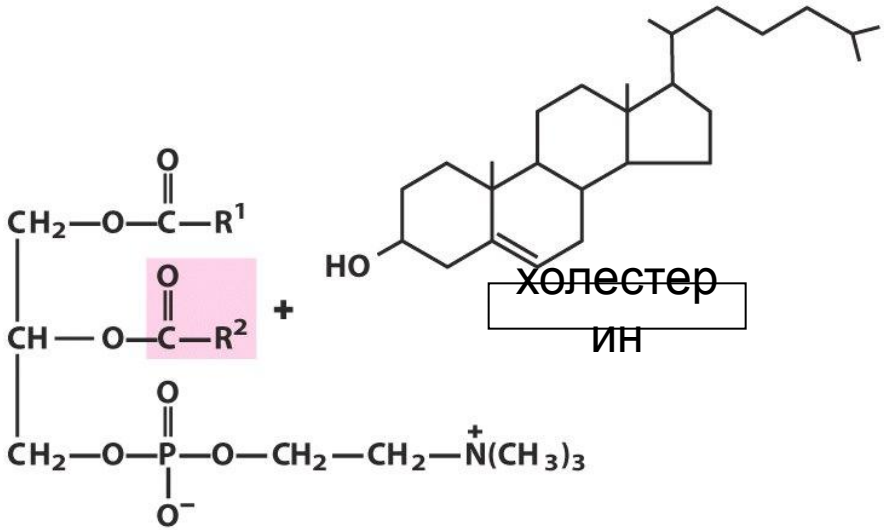

печень
кишечник
Обратный транспорт холестерина
ЛПВП
4.
ЛПНП
3.
ткани
ЛПОНП
2.
Остатки ХМ
ЛППП
2.
1.
хиломикроны
1.
капилляр
Предшественники ЛПВП из печени и желудка
ЛП-липаза

Функция различных липопротеидов и освобождение его из тканей

- ХМ - транспорт экзогенных триацилглицеридов
- ЛПОНП – транспорт эндогенных триацилглицеридов
- ЛППП – предшественник ЛПНП
- ЛПНП – транспорт холестерина в ткани
- ЛПВП – обратный транспорт холестерина

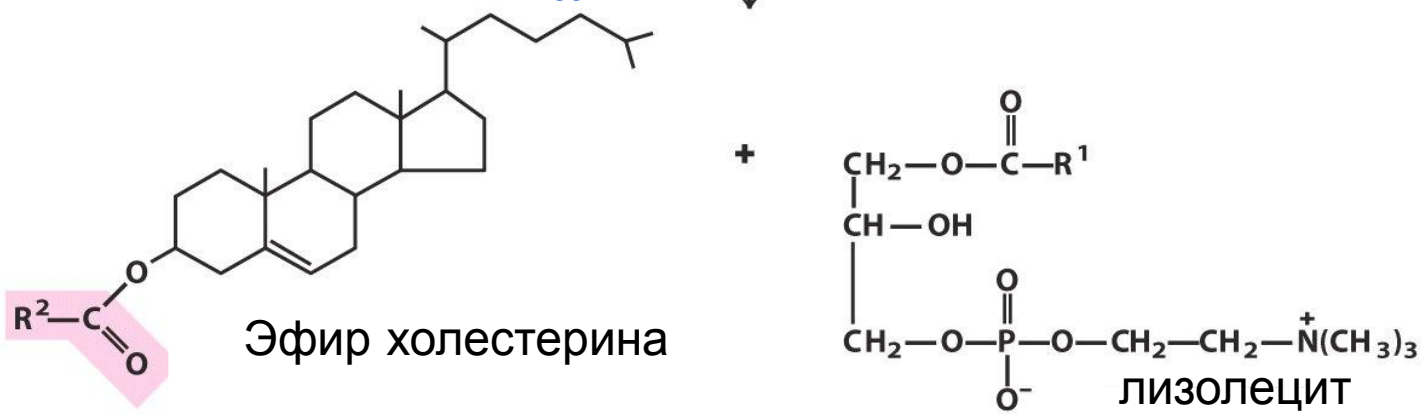
- Для освобождения холестерина из тканей нужны АТР-связывающие кассетные транспортеры А1 (ABCA1) и G1 (ABCG1), они обеспечивают также эффективную мобилизацию холестерина из макрофагов и предотвращают их трансформацию в пенистые клетки.

Перенос холестерина в ЛПВП осуществляется ферментативным путем

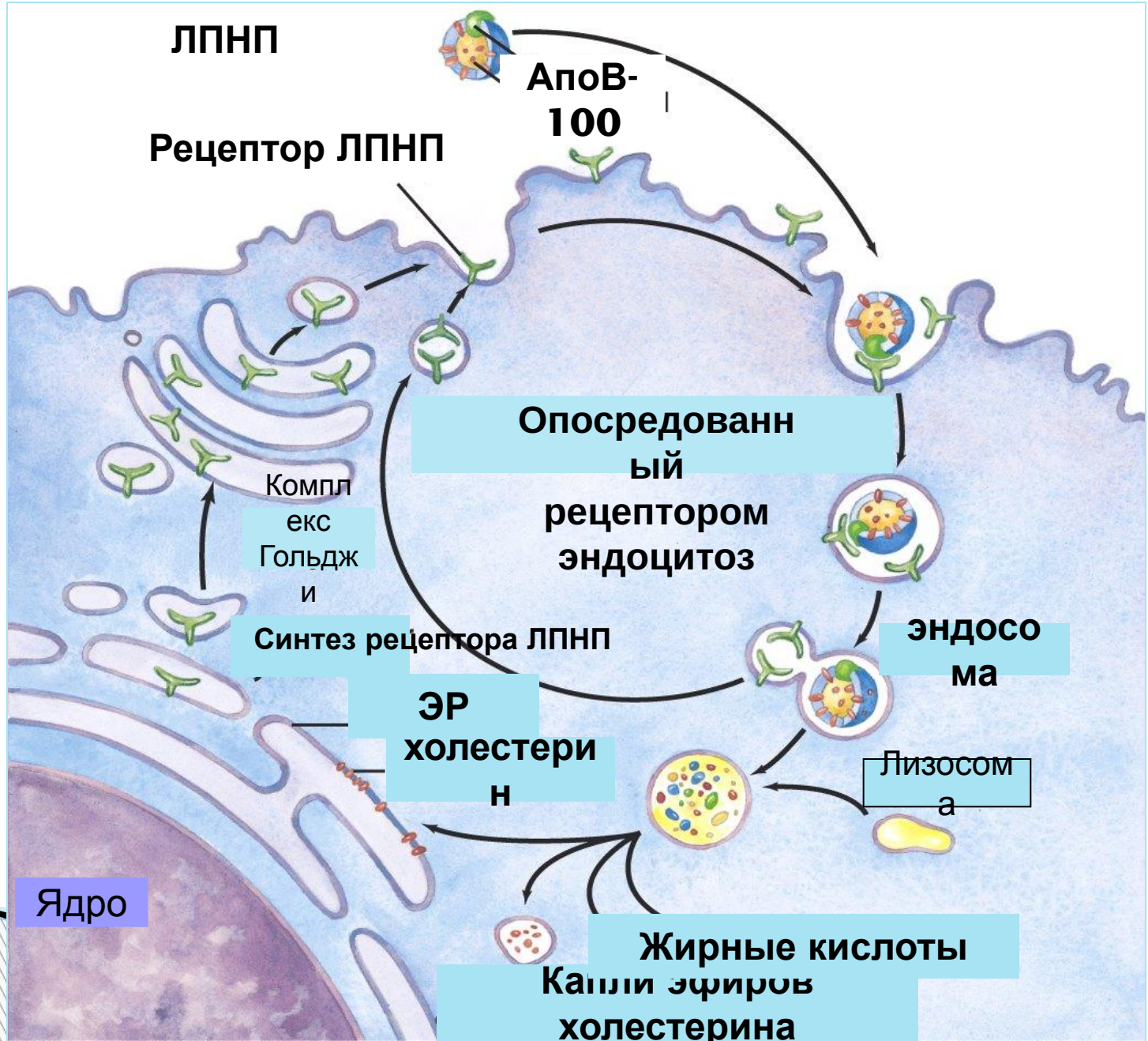


Лецитин-холестерин ацилтрансфераза

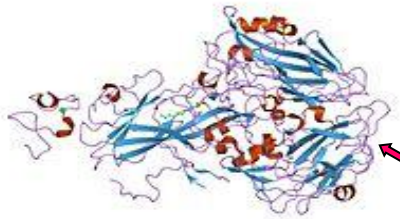
(ЛХАТ)



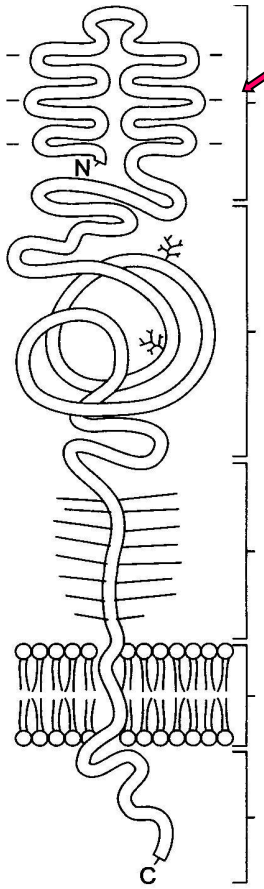
Аккумуляция холестерина клетками печени



Структура рецептора ЛПНП и его гена



Связывание ЛПНП



Рецептор ЛПНП - белок, опосредующий эндоцитоз этих липопротеидов, обогащённых холестерином. ЛПНП-рецептор представляет собой мембранный белок, специфически распознающий апоВ-100 и апоЕ.

Типы мутаций в гене рецептора ЛПНП

1. **Уменьшение связывания ЛПНП**
2. **Уменьшение транспорта внутрь клетки**
3. **Уменьшение обратного транспорта рецептора**
4. **Уменьшение транспорта внутрь клетки**
5. **Нарушение связи рецептора с мембраной**
6. **Снижение эндоцитоза рецептора**
7. **Уменьшение синтеза мРНК рецептора**

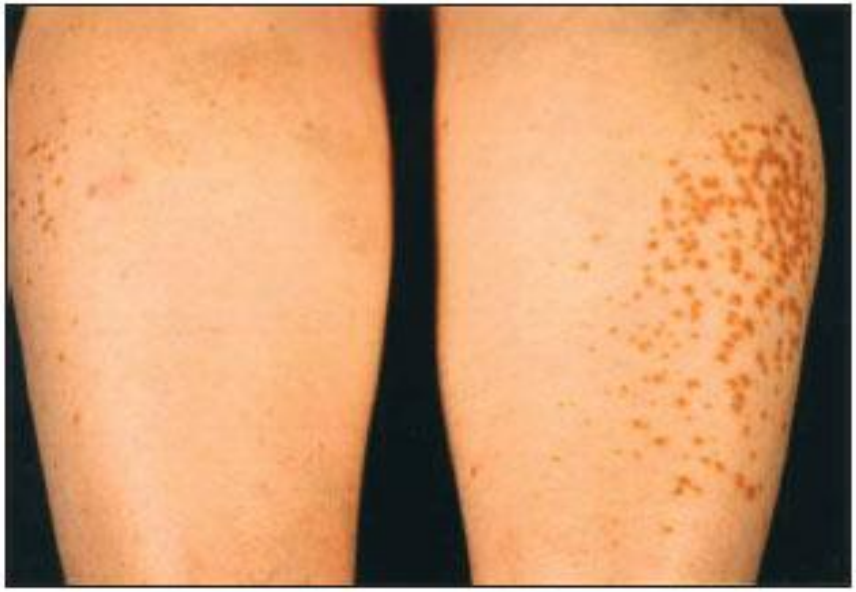
Рецептор ЛПНП

Дислипопротеидемии

Тип и название дислипопротеинемии	Генетический дефект	Изменения липидного обмена
Тип I (наследственная недостаточность ЛП-липазы)	Дефект структуры ЛП-липазы Дефект структуры апоС-II	↑ в крови ХМ и ЛПОНП, нет риска атеросклероза, гипертриглицеролемия
Тип II (семейная гиперхолестеролемия)	Дефект рецепторов ЛПНП или мутация гена апоВ-100	↑ концентрации ЛПНП, гиперхолестеролемия, ранний атеросклероз, ксантоматоз
Тип III (семейная комбинированная гиперлипидемия, нарушение удаления остаточных липопротеинов из крови)	Дефект в структуре апоЕ, синтез изоформы апоE_2, которая не взаимодействует с рецепторами	↑ концентрации остаточных ХМ, ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП Гиперхолестеролемия, гипертриглицеролемия, ранний атеросклероз, ксантоматоз
Типы IV и V (семейная гипертриглицеролемия)	Генетически гетерогенная группа заболеваний. Избыточная продукция ЛПОНП как результат гиперинсулинемии	↑ концентрации ЛПОНП, ЛПНП, гипертриглицеролемия, умеренная гиперхолестеролемия Атеросклероз, снижение толерантности к глюкозе, ксантоматоз

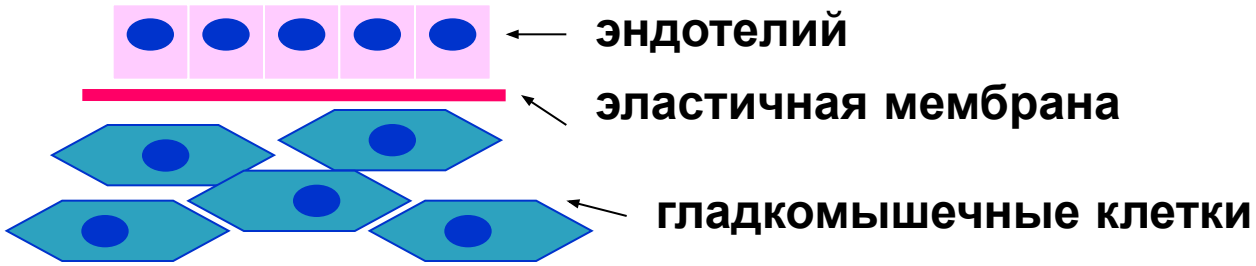
Ксантомы

При дефекте рецепторов ЛПНП избыток холестерина откладывается в других клетках, например, в фибробластах, где имеются молекулы адгезии, с которыми способны взаимодействовать лимфоциты. На рисунке представлена ксантома (отложение холестерина) на сухожилиях у 14-летней девочки и туберозная ксантома ахилловых сухожилий.

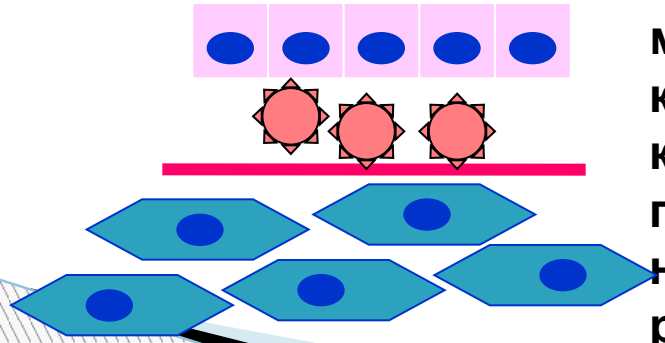


Развитие атеросклеротической бляшки в клетках эндотелия (1-2)

1. Норма



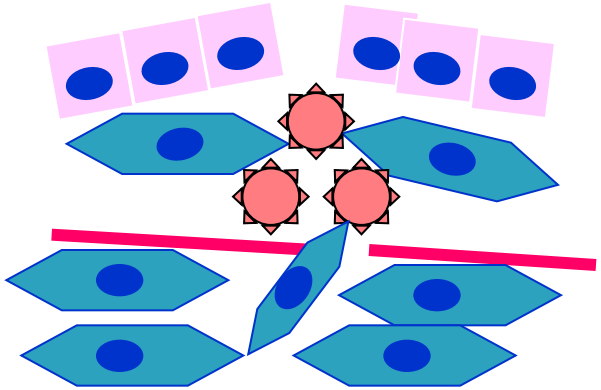
2. Формирование жировых полосок



За счет захвата окисленных ЛПНП макрофагами образуются «пенистые клетки», которые содержат большое количество холестерина. Они проникают под эндотелий благодаря наличию на поверхности эндотелиальных клеток скэвенджер рецепторов, которые, связывая окисленные липопротеиды низкой плотности, вызывают активацию и дисфункцию клеток эндотелия.

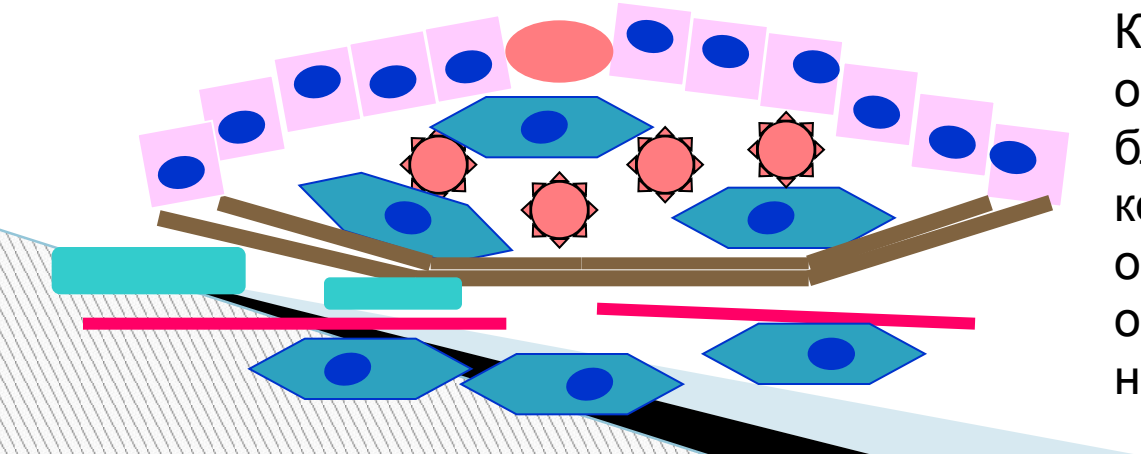
Развитие атеросклеротической бляшки в клетках эндотелия (3-4)

3. Миграция ГМК в область бляшки



Эндотелий повреждается, активируется агрегация тромбоцитов, в область, где находятся пенистые клетки, мигрируют гладкомышечные клетки

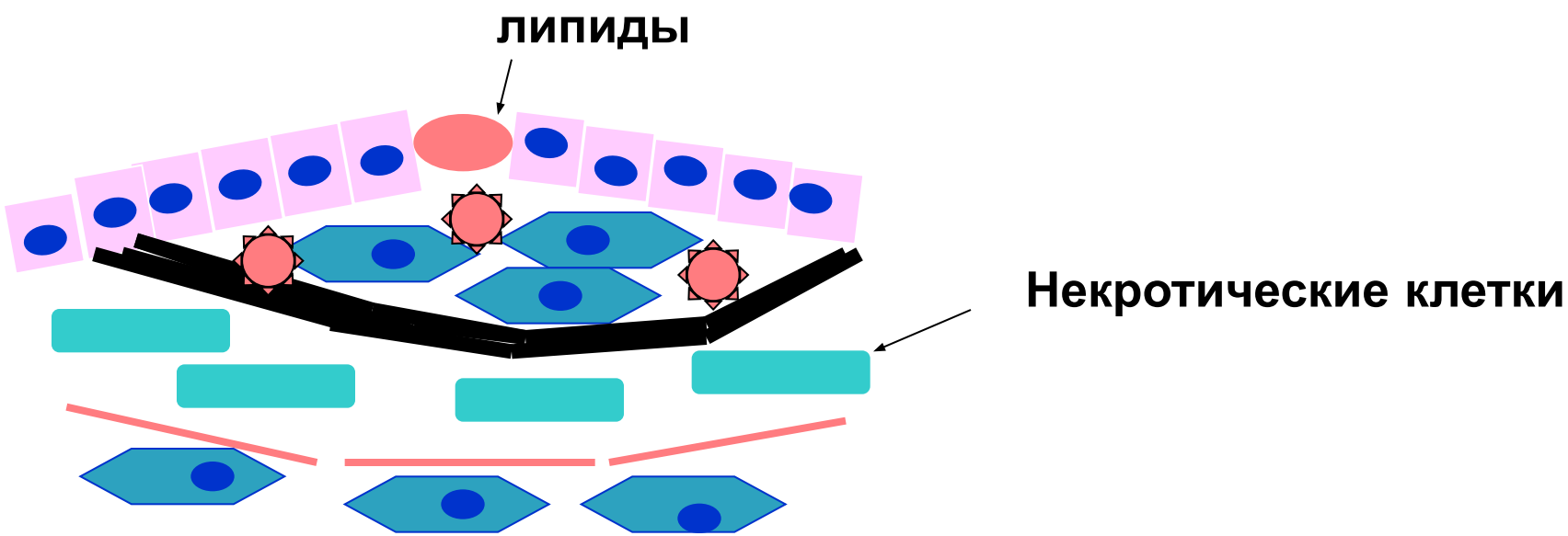
4. Образование фиброзной бляшки



Клетки, находящиеся в области формирующейся бляшки, секретируют коллаген и другие белки, образующие фиброзную оболочку, внутри которой идет некроз клеток

Развитие атеросклеротической бляшки в клетках эндотелия (5)

5. В бляшке накапливаются омертвевшие ткани, пропитанные холестерином. Происходит кальцификация бляшки



Атеросклероз – это хроническое прогрессирующее воспалительное заболевание артериальной стенки, для которого в начальной стадии характерны дисфункция эндотелия и наличие отложений окисленных липопротеидов низкой плотности в интиме артерии

Почему макрофаги фагоцитируют липопротеиды низкой плотности?

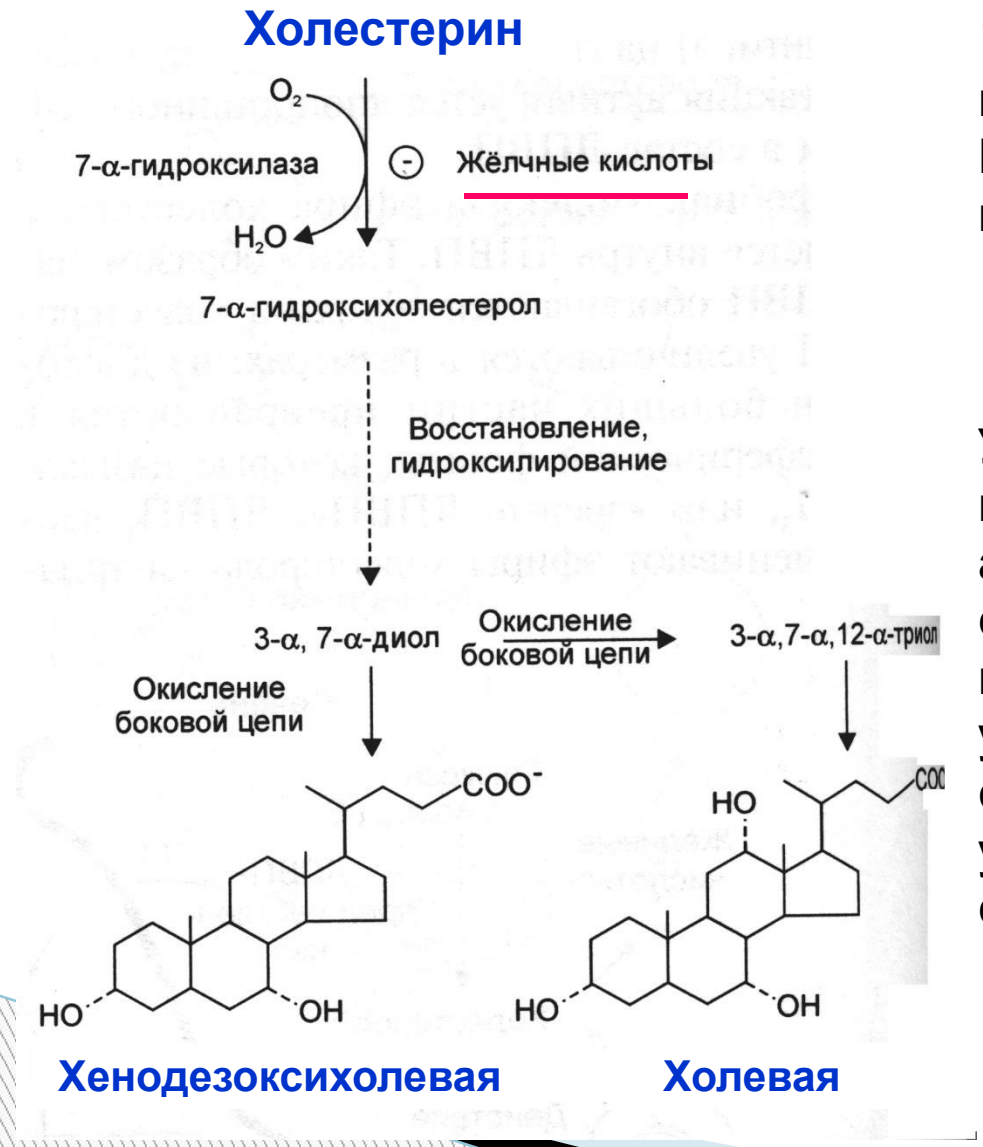
В патогенезе атеросклероза важную роль играют макрофаги. Они распознают окисленные ЛПНП с помощью скэвенджер рецепторов класса А, толл-рецепторов (TLR) или кластеров дифференциации 36 (CD36), которые располагаются на их поверхности. Затем макрофаги поглощают ЛПНП, формируют пенистые клетки и обеспечивают инициацию иммунного ответа. Макрофаги, поглощающие ЛПНП, секретируют различные воспалительные цитокины и ускоряют развитие атеросклероза. Окисленные ЛПНП активируют клетки эндотелия, продуцирующие фактор, который привлекает моноциты из просвета сосуда в субэндотелиальное пространство и ускоряют дифференциацию моноцитов в макрофаги.

Скэвенджер рецепторы класса А связывают преимущественно модифицированные ЛПНП, ацилированные или окисленные. Эти белки содержат также коллаген-связывающий домен, который необходим для их связывания коллагеном после миграции в ткань.

Функции желчи

- Желчные кислоты обеспечивают эмульгирование жиров, выполняя функции детергентов, увеличивая поверхность липидных мицелл, что необходимо для эффективного действия липаз. Кроме того, желчь активирует сокращение тонкого кишечника, стимулирует продукцию слизи, а также холецистокинина и секретина.
- Холестерин и билирубин из-за нерастворимости этих молекул в воде не могут экскретироваться с мочой, поэтому они выделяются из организма с желчью (холестерин в виде желчных кислот).

Синтез желчных кислот

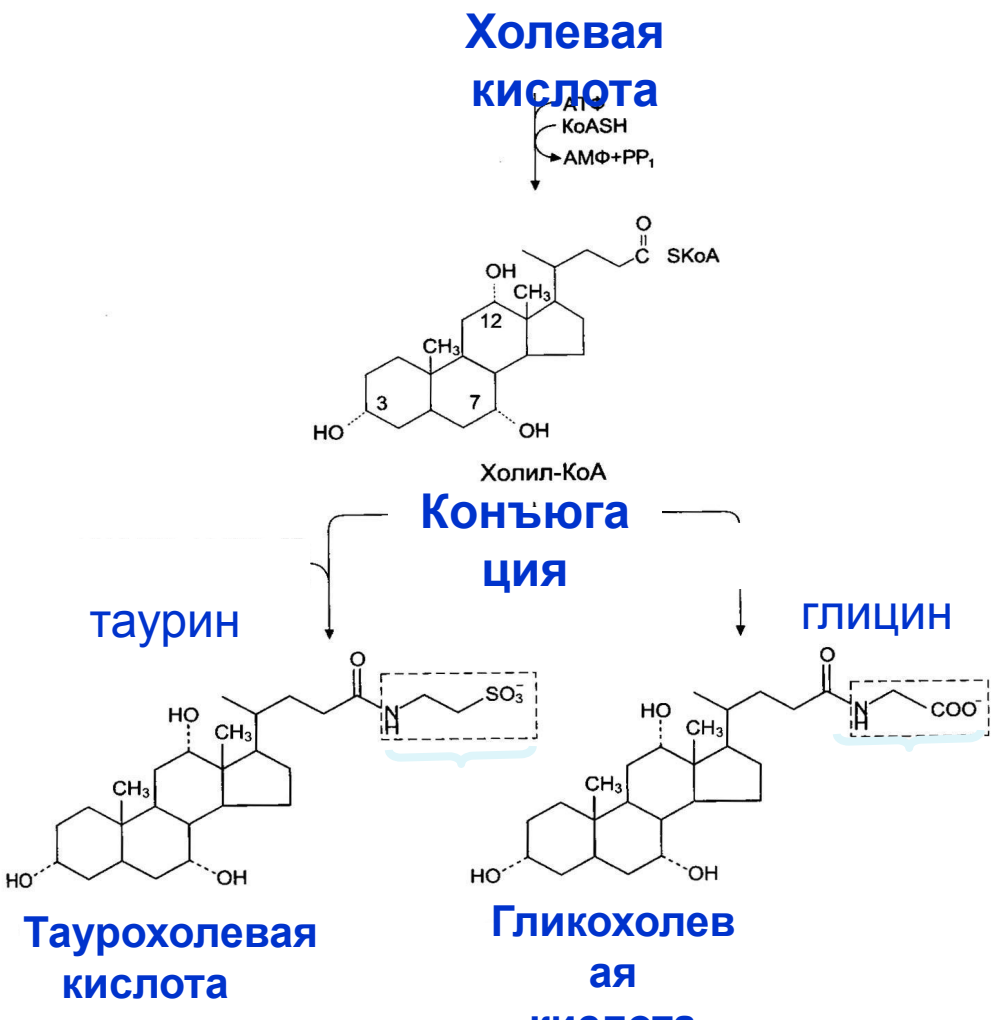


7-альфа-гидроксилаза холестерина ингибируется желчными кислотами. Прерывание циркуляции желчных кислот активирует этот фермент.

У большинства больных желчно-каменной болезнью повышена активность ГМК-КоА-редуктазы и снижена активность 7-альфа-гидроксилазы. В результате увеличен синтез холестерина и снижен синтез желчных кислот,что увеличивает долю холестрина, секретируемого в желчь.

Конъюгация желчных кислот

Конъюгация – присоединение молекул таурина или глицина к карбоксильной группе желчных кислот, усиливает их детергентные свойства. Эти желчные кислоты называются первичными.

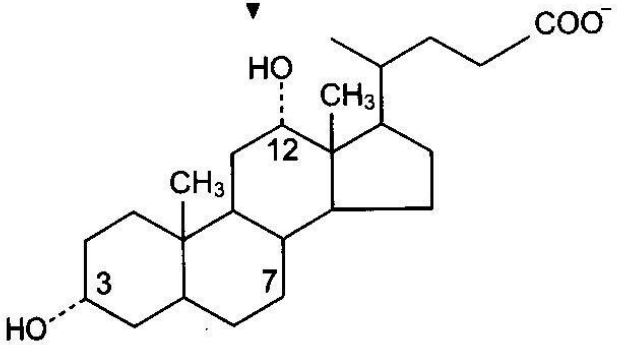


Конъюгация происходит в клетках печени. Большая часть первичных желчных кислот всасывается и возвращается через воротную вену в печень (энтерогепатическая циркуляция).

Образование вторичных желчных кислот в кишечнике

Гликохолевая кислота

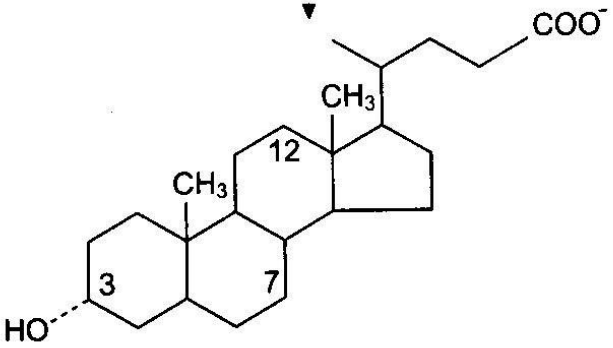
Таухолевая кислота



Дезоксихолевая кислота

Гликохенодезоксихолевая кислота

Таурохенодезоксихолевая кислота



Литохолевая кислота

Часть желчных кислот (около 5%) в кишечнике подвергается действию бактерий, которые отщепляют глицин и таурин, а также гидроксильную группу в положении 7. Образуются вторичные желчные кислоты, которые выводятся с фекалиями. Путь выведения желчных кислот – основной путь выведения холестерина из организма

Профилактика и лечение атеросклероза

1. Одной из причин атеросклероза является повышение уровня холестерина в ЛПНП, что приводит к увеличению его встраивания не в печень, а и в другие ткани. Один из способов профилактики – это **снижение синтеза холестерина и увеличение его выведения из организма.** Для этого необходимо снижать синтез (а значит, **уменьшать количество потребляемых липидов и углеводов**) и увеличивать расход **энергии (физические упражнения), а также** увеличивать выведение холестерина в виде желчных кислот (что достигается путем увеличения их сорбции в кишечнике).

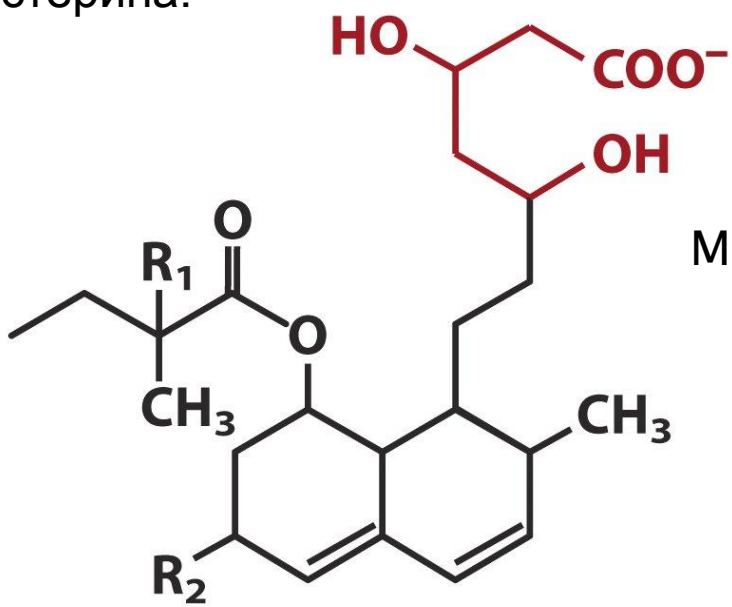
2. Поскольку макрофаги (предшественники пенистых клеток) играют существенную роль в развитии атеросклероза, одно из направлений профилактики – **снижение уровня воспаления**. Макрофаги поглощают преимущественно ацилированные и окисленные формы ЛПНП, поэтому профилактика включает **увеличение уровня антиоксидантов.**

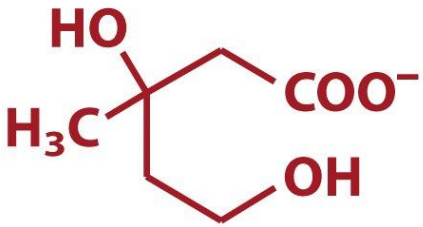
Что нужно делать для профилактики атеросклероза?

- Сбалансированная диета с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот по сравнению с насыщенными (морепродукты), высокое потребление антиоксидантов (ягоды, фрукты, витамины, сухое вино – так называемая средиземноморская диета).
- Умеренные занятия спортом (преимущественно плавание и ходьба).

Лечение атеросклероза

В настоящее время медицина использует для лечения атеросклероза конкурентные ингибиторы ГМК-КоА-редуктазы, статины. Эти соединения являются аналогами мевалоновой кислоты. Введение этих соединений снижает синтез холестерина.





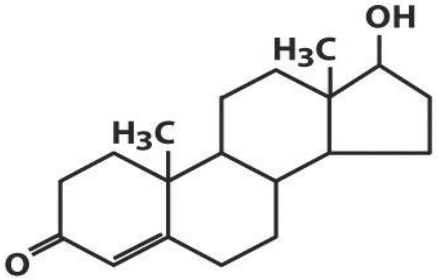
Mevalonic acid

$R_1 = H$	$R_2 = H$	Компастатин
$R_1 = CH_3$	$R_2 = CH_3$	Симвастатин
$R_1 = H$	$R_2 = OH$	Правастатин
$R_1 = H$	$R_2 = CH_3$	Ловастатин

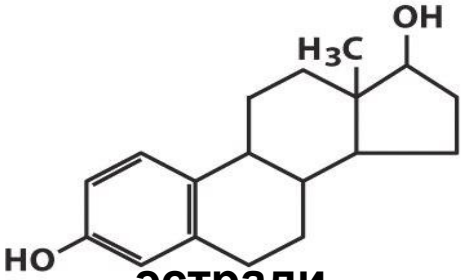
Чем опасен низкий уровень холестерина?

- Низкий уровень холестерина в крови приводит к возникновению других заболеваний, в частности, к возникновению бесплодия вследствие снижения уровня половых гормонов.
- Кроме того, низкий уровень холестерина может приводить к или ухудшать развитие нейродегенеративных заболеваний и других ментальных заболеваний, в частности, депрессий с суицидальным концом.

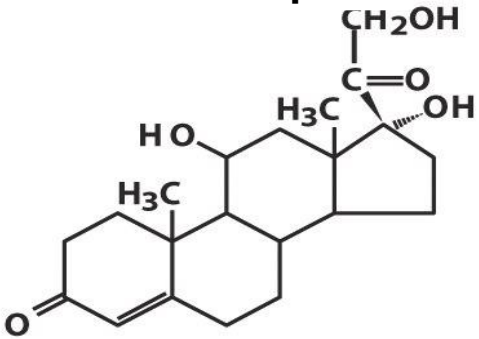
Стероидные гормоны



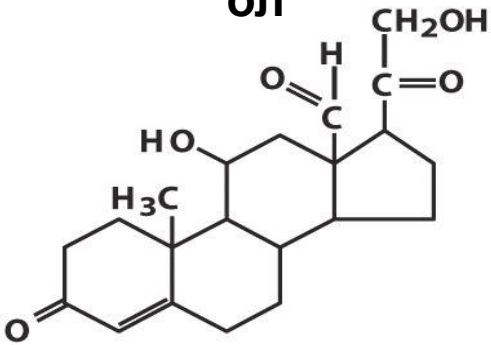
тестостерон



эстрадиол



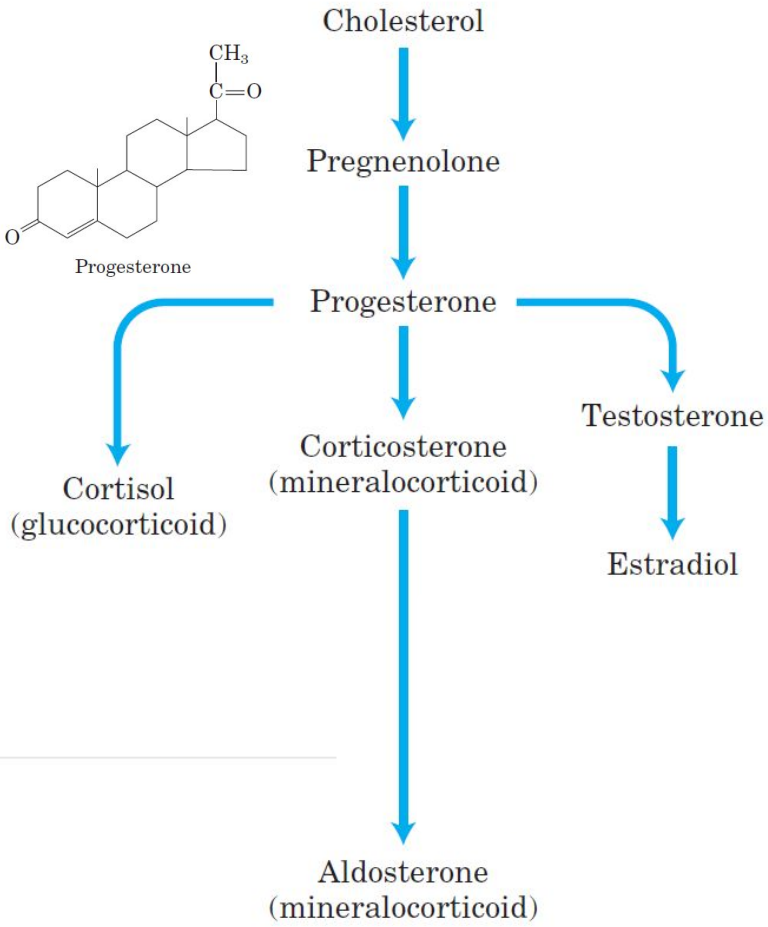
кортизол



альдостерон

Вверху – половые гормоны
Внизу – гормоны коры надпочечников: глюкокортикоид кортизол и минералокортикоид альдостерон

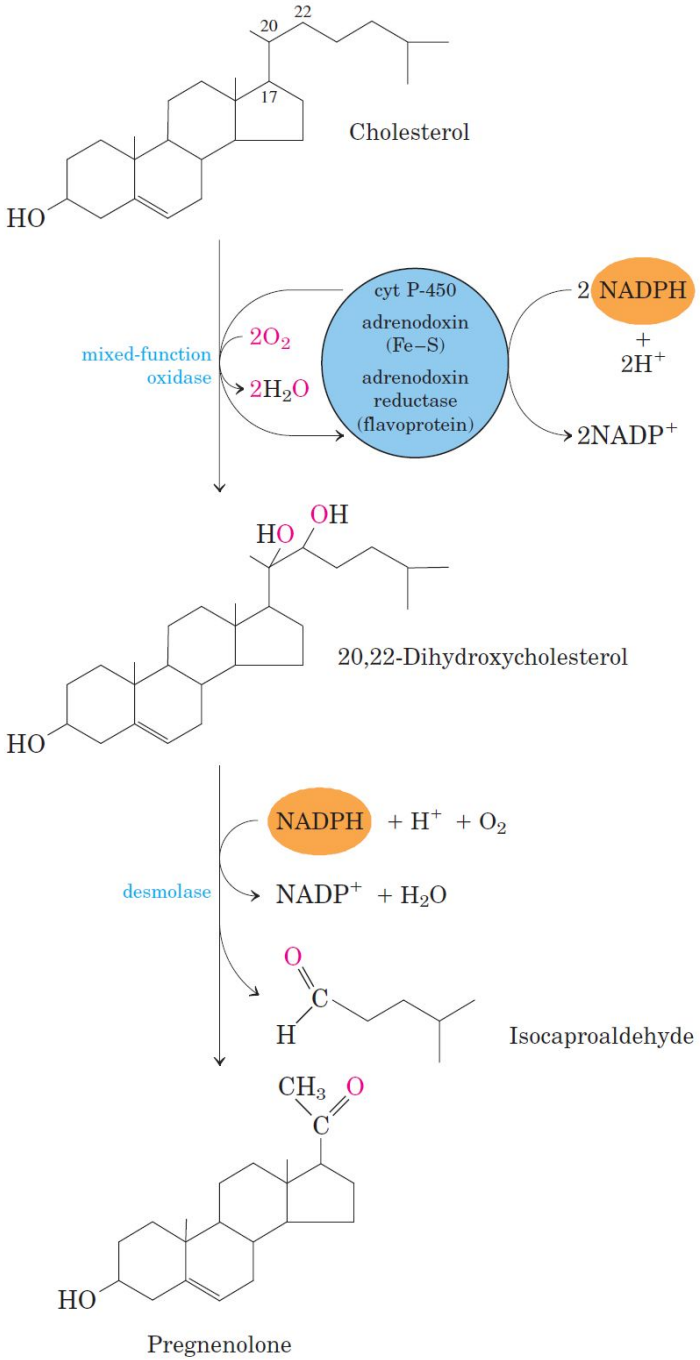
Стероидные гормоны синтезируются путем окисления и отщепления боковой цепи холестерина



Из холестерина в надпочечниках синтезируется два класса гормонов: м**инералокортикоиды,** которые регулируют реабсорбцию неорганических ионов (Na+, Cl- и HCO_3-) почками, и **глюкокортикоиды,** которые регулируют глюконеогенез и ингибируют воспалительный ответ.

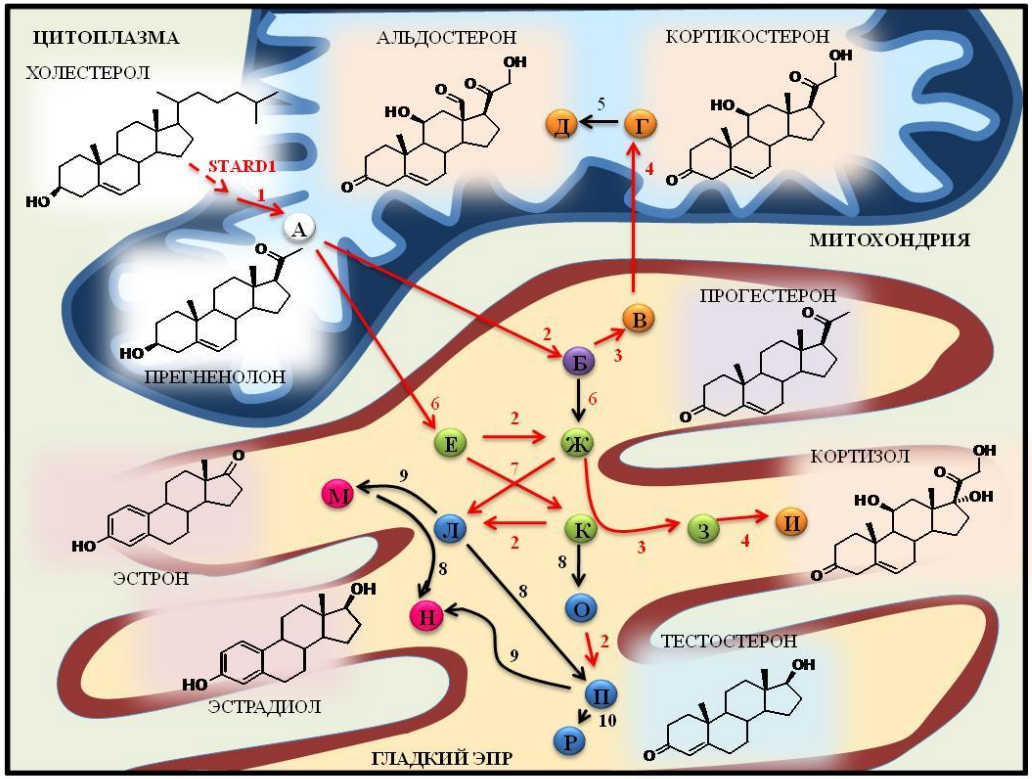
Половые гормоны синтезируются у мужчин и женщин в половых железах и плаценте.

Это **прогестерон**, регулирующий репродуктивнй цикл у женщин, и **андрогены (тестостерон) и эстрогены** (**эстрадиол**), которые оказывают влияние на развитие вторичных половых признаков у мужчин и женщин соответственно.



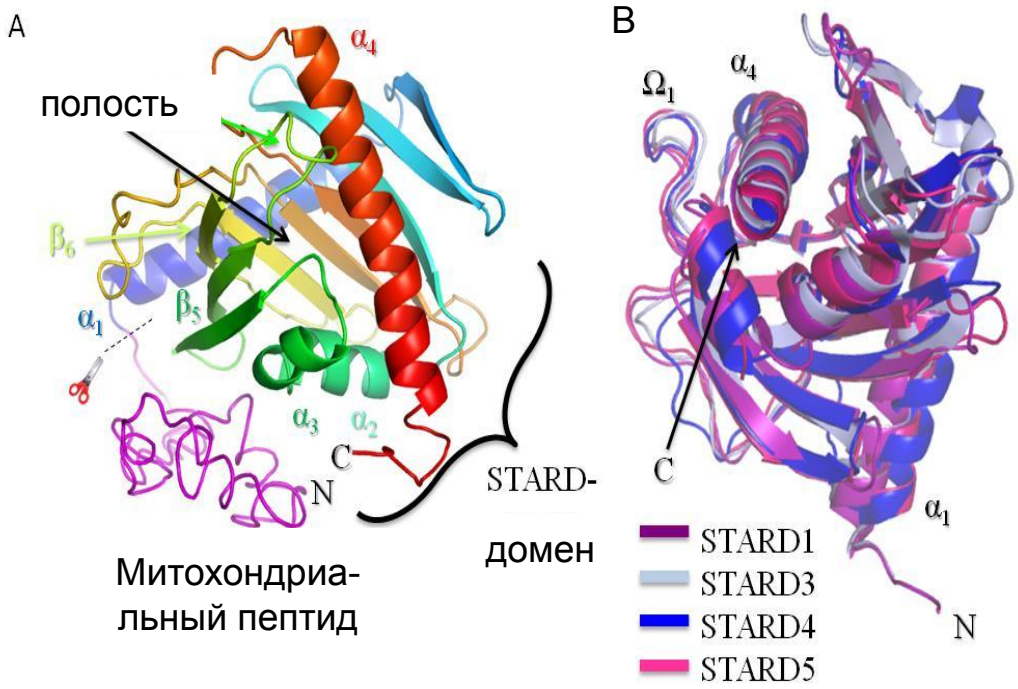
- **Для синтеза стероидных гормонов необходимо удалить некоторые или все атомы углерода боковой цепи в положении C-17 кольца D молекулы холестерина.**
- **Удаление боковой цепи происходит в митохондриях стероидогенных клеток. При этом происходит гидроксилирование двух прилегающих атомов боковой цепи (C-20 и C-22) с последующим расщеплением связи между ними.**
- **При синтезе различных гормонов необходимо также введение атомов кислорода. Все процессы гидрокислирования и окислительные реакции биосинтеза стероидов катализируются оксидазами со смешанной функцией, которые используют NADPH, O2 и митохондриальную оксидазу с цитохромом P-450.**
- **Для начальных этапов синтеза стероидов необходим их транспорт в митохондрии. Этот транспорт осуществляется белком STARD1.**

Схема стероидогенеза в клетке, синтезирующей стероидные гормоны



Представлен фрагмент цитоплазмы клетки с митохондрией и гладким эндоплазматическим ретикулумом (ЭПР). Кружками отмечены интермедиаты (А – прегненолон; Б – прогестерон; В – дезоксикортикостерон; Г – кортикостерон; Д – альдостерон; Е – 17α-гидроксипрегненолон; Ж – 17α-гидроксипрогестерон; З – 11-дезоксикортизол; И – кортизол; К – дегидроэпиандростерон; Л – андростенедион; М – эстрон; Н – эстрадиол; О – эстриол; П – андростенедиол; Р – тестостерон; С – дегидротестостерон). Цифрами обозначены ферменты, катализирующие соответствующие реакции (1 – фермент, удаляющий боковую цепь холестерола, P450scc; 2 – 3β-гидростероид дегидрогеназа; 3 – 21-гидроксилаза; 4 – 11β-гидроксилаза; 5 – альдостерон синтаза; 6 – 17α-гидроксилаза; 7 – 17,20-лиаза; 8 – 17β-гидроксистероид дегидрогеназа; 9 – ароматаза; 10 – 5α-редуктаза).

Структура белка STARD1 и его гомологов



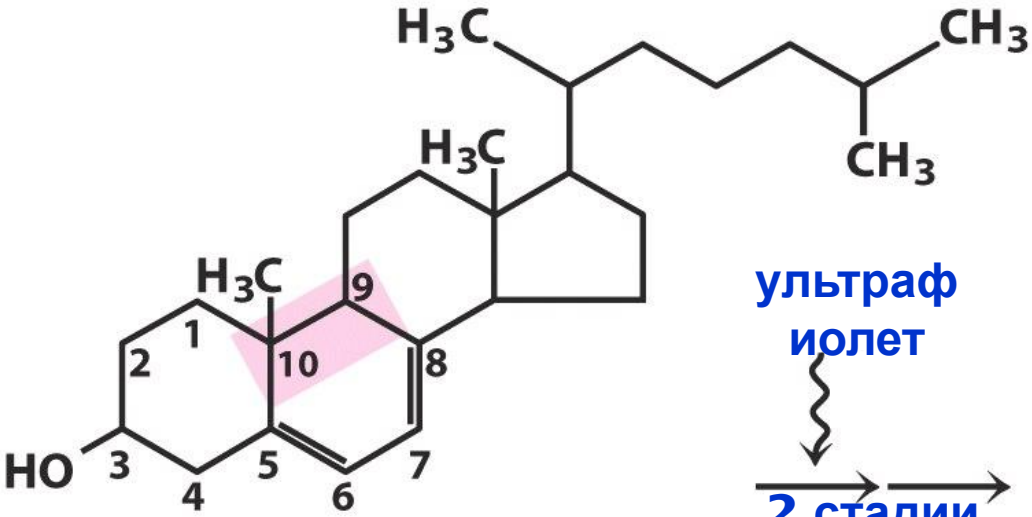
A. Структура белка STARD1 (Steroidogenic Acute Regulatory Protein 1).

B. Сравнение структур различных связывающих холестерин белков: STARD3 (человек), STARD4 (мышь), STARD5 (человек) and STARD1 (человек). Все белки имеют полость объемом 470^2 A, в которую можно упаковать молекулу холестерина (430^2 A).

Заболевания, связанные с нарушением стероидогенеза

- Непосредственно в стероидогенез вовлечено десять ферментов, мутации в шести из них приводят к заболеваниям, объединенным в группу врожденных гиперплазий. В 95% случаев стероидогенез нарушается на стадии превращения прогестерона или 17α-гидроксипрогестерона в дезоксикортикостерон или 11-деоксикортизол, соответственно, ферментом 21-гидроксилазой (на слайде обозначен цифрой 3).
- Вторую по распространенности и наиболее тяжелую форму -- липоидную врожденную гиперплазию надпочечников, вызывают мутации не в ферментах, а в белке, который «снабжает» первый фермент стероидогенеза P450scc холестерином (STARD1).

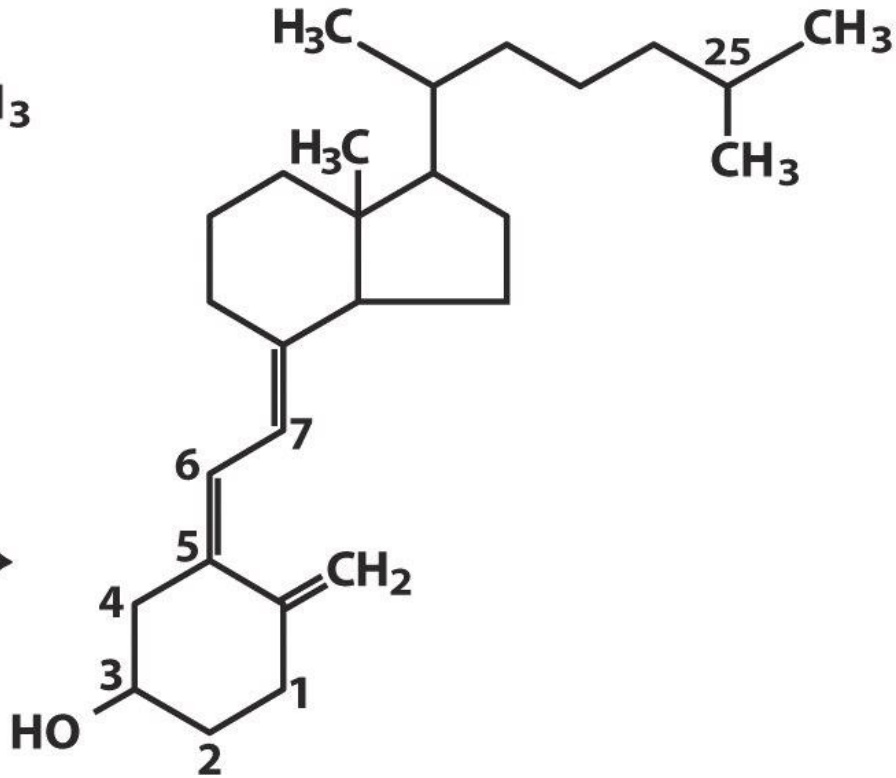
Синтез витамина D3 из холестерина



7-дегидрохолестерин

ультраф
иолет

2 стадии
(кожа)



Холекальциферол (витамин D3)

Дефицит витамина D

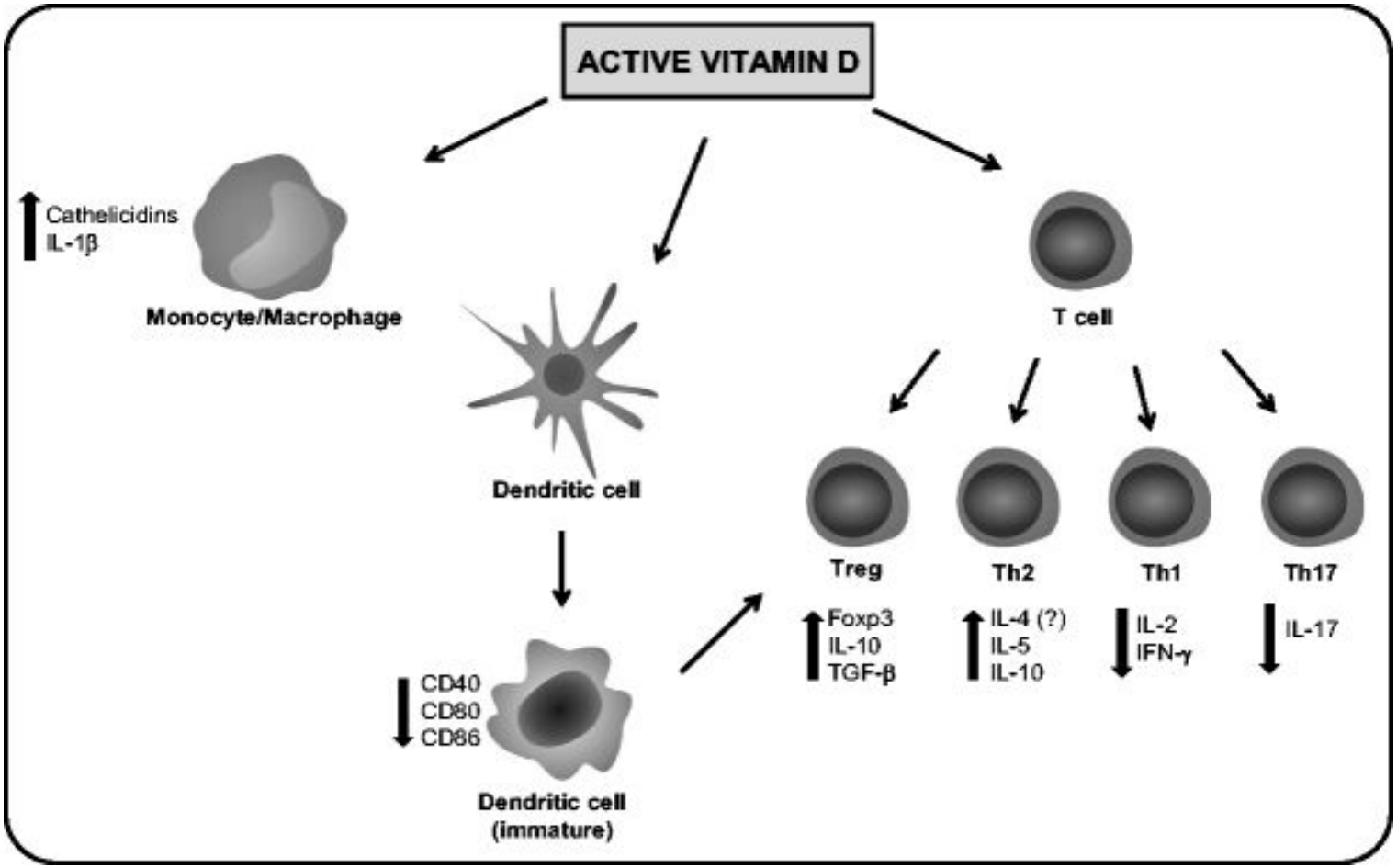
- Витамин D есть в пищевых продуктах, таких как грибы, молоко, яйца, однако пища покрывает лишь 5% потребностей в витамине D. Источником витамина D является 7-дегидрохолестерол, который в больших количествах находится в коже человека. Под действием ультрафиолета 7-дегидроксихолестерол превращается в про-витамин D3, который в свою очередь изомеризуется в холекальциферол (витамин D).
- Затем витамин D транспортируется к тканям, где экспрессируется 1α-гидроксилаза (CYP27B1, в основном, к почкам). Там происходит второе гидрокислирование, что приводит к появлению активного метаболита 1,25-дигидроксивитамина D3, называемого кальциферол.
- Хотя нет консенсуса относительно уровня витамина D в организме (что связано с большой скоростью его обмена) у здоровых индивидуумов концентрация витамина D в плазме крови составляет 30 - 100 нг/мл, концентрация 21- 29 нг/мл характеризуется как гиповитаминоз, а уровень ниже 20 нг/мл – это выраженный дефицит.

Метаболизм витамина D3

Витамин D3 регулирует метаболизм Ca2+ в почках, кишечнике и костной ткани, действуя как фактор регуляции транскрипции. Витамин D предотвращает у **детей** развитие рахита, заболевания, которое характерно для в северных районов с ограниченным световым днем в зимнее время. Симптомы рахита – искривление костей, их переломы, проблемы со сном, спазмы мышц и отставание в умственном развитии. Подсчитано, что для синтеза достаточного количества витамина D необходимо проводить под солнцем 5-10 минут 2-3 в неделю. Однако витамин D быстро распадается, по этой причине его нельзя запасать.

Получение 1200 ед. витамина D в день в течение 4 зимних месяцев снижает риск заболеваний гриппом более чем на 40%. Низкий уровень витамина D ассоциирован также с более высоким риском возникновения и тяжестью аллергических заболеваний, включая астму, атопический дерматит и экзему. **У взрослых** дефицит витамина D **осложняет течение остеопороза**. При этом заболевании снижается плотность костей и наблюдается мышечная слабость. Это заболевание поражает людей старшего поколения (женщин после 55 и мужчин старше 65 лет). Кроме того, при дефиците витамина D увеличивается риск возникновения рака простаты и диабета второго типа

Влияние витамина D на иммунную систему



Один из наиболее известных эффектов витамина D3 на иммунную систему – это усиление антимикробной деятельности моноцитов и макрофагов. Кальцитриол стимулирует секрецию моноцитами и макрофагами интерлейкинов IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α.