

# Kolagen i utjecaj njegovih peptida na strukturu kože

---

Župić, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:986122>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-04**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet

Sara Župić

**KOLAGEN I UTJECAJ NJEGOVIH PEPTIDA NA STRUKTURU KOŽE**

Završni rad

Split, 2022.

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za kemiju

Sara Župić

**KOLAGEN I UTJECAJ NJEGOVIH PEPTIDA NA STRUKTURU KOŽE**

Završni rad

Split, 2022.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu

Završni rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

### KOLAGEN I UTJECAJ NJEGOVIH PEPTIDA NA STRUKTURU KOŽE

Sara Župić

Kolagen je najprisutniji protein u čovjekovu tijelu. Ima strukturu trostruke zavojnice i određeni sadržaj aminokiselina. Stanicama daje čvrstoću i potporu zbog stabiliziranosti unutar molekularnim interakcijama. Sintetiziraju ga fibroblasti. Fibroblasti sintetiziraju i druge komponente izvanstaničnog matriksa. Tijekom godina, zbog nakupljanja oštećenih i pogrešno strukturiranih proteina, koža gubi svoja svojstva te se različitim metodama pokušava taj proces usporiti. Najznačajnija je primjena peptida kolagena koji nastaju djelovanjem enzima na denaturirani kolagen koji zbog svojih svojstava potiču stvaranje kolagenih vlakana, potiču sintezu hijaluronske kiseline i diobu stanica fibroblasta.

**Ključne riječi:** kolagen, hidrolizirani kolagen, fibroblasti, struktura kože, aminokiseline

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu.

**Rad sadrži:** 24 stranice, 4 slike i 54 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** doc. dr. sc. Barbara Soldo

**Neposredni voditelj:** dr. sc. Roko Vladušić, v. pred.

**Ocjenjivači:** doc. dr. sc. Barbara Soldo

dr. sc. Roko Vladušić

doc. dr. sc. Matilda Šprung

Rad prihvaćen: Rujan, 2022.

## Basic documentation card

University of Split

Bachelor thesis

Faculty of Science

Department of Chemistry

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

### COLLAGEN AND THE INFLUENCE OF ITS PEPTIDES ON SKIN STRUCTURE

Sara Župić

Collagen is the most abundant protein in the human body. It has a structure of triple helix and a specific content of amino acids. It gives strength and support to cells as it is stabilized by intramolecular interactions. It is synthesized by fibroblasts. Fibroblasts also synthesize other components of the extracellular matrix. Over the years, the skin loses its properties due to the accumulation of damaged and misstructured proteins, and various methods are used to slow down this process. The most important method is the application of collagen peptides, which are produced by the action of enzymes on denatured collagen and due to their properties stimulate the formation of collagen fibers, the synthesis of hyaluronic acid and the division of fibroblast cells.

**Keywords:** collagen, hydrolyzed collagen, fibroblasts, skin structure, amino acids

Thesis deposited in the library of the Faculty of Science, University of Split.

**Thesis consists of:** 24 pages, 4 figures, 54 references. Original language: Croatian

**Mentor:** doc. dr. sc. Barbara Soldo

**Supervisor:** dr. sc. Roko Vladušić, v. pred.

**Reviewers:** doc. dr. sc. Barbara Soldo

dr. sc. Roko Vladušić

doc. dr. sc. Matilda Šprung

Thesis accepted: September, 2022.

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Razrada teme .....	2
2.1. Kolagen – općenite značajke .....	2
2.1.1. Struktura i stabilnost .....	2
2.2. Fibroblasti i sinteza kolagena.....	5
2.3. Zastupljenost kolagenskih vlakana u koži i utjecaj starenja na strukturu kože .....	8
2.4. Peptidi kolagena .....	11
2.4.1. Metaloproteinaze .....	11
2.4.2. Svojstva hidroliziranog kolagena .....	12
2.4.3. Izvori hidroliziranog kolagena .....	13
2.5. Oralna primjena peptida kolagena.....	15
2.5.1. Utjecaj na svojstva kože .....	15
3. Zaključak .....	18
4. Literatura.....	19

# 1. Uvod

Kolagen, odnosno kolagenska vlakna, osnovna su gradivna komponenta čovjekova tijela jer su prisutni u stanicama kože koja je najveći organ. Zbog svoje jedinstvene strukture daje mehaničku potporu dermalnim stanicama. Obzirom da je koža izložena različitim vanjskim utjecajima poput sunčeva (UV) zračenja, pušenju i zagađenosti zraka, struktura kože s vremenom se narušava. Na tržištu je prisutno mnoštvo suplemenata koji sadržavaju peptide kolagena za koje se pretpostavlja da utječu na stanice fibroblasta te sintezu kolagenskih vlakana, te da na taj način usporavaju proces starenja. Peptidi kolagena nastaju djelovanjem enzima na denaturirani nativni kolagen. Peptide kolagena koje još nazivamo i hidrolizirani kolagen možemo dobiti iz više izvora – biljnih i životinjskih. Posebno se ističu morski organizmi kao izvori hidroliziranog kolagena. U svrhu usporavanja vidljivih znakova starenja, zbog svoje male molekulske mase te specifičnih fizikalnih svojstava, peptidi kolagena koriste se najčešće kao oralni dodatak prehrani.

Cilj ovog rada je proučiti literaturne podatke o utjecaju peptida kolagena na sintezu kolagenskih vlakana i na ostale komponente izvanstaničnog matriksa poput elastina te hijaluronske kiseline. U radu će također biti riječi o svojstvima peptida kolagena kao i njihovim mogućim izvorima te o utjecaju ovih peptida na stanice fibroblasta. Ovaj rad doprinijet će boljem razumijevanju uloge peptida kolagena u zdravom funkcioniranju stanica kože te kako dodatak prehrani obogaćen ovim peptidima utječe na znakove starenja.

## 2. Razrada teme

### 2.1. Kolagen – općenite značajke

#### 2.1.1. Struktura i stabilnost

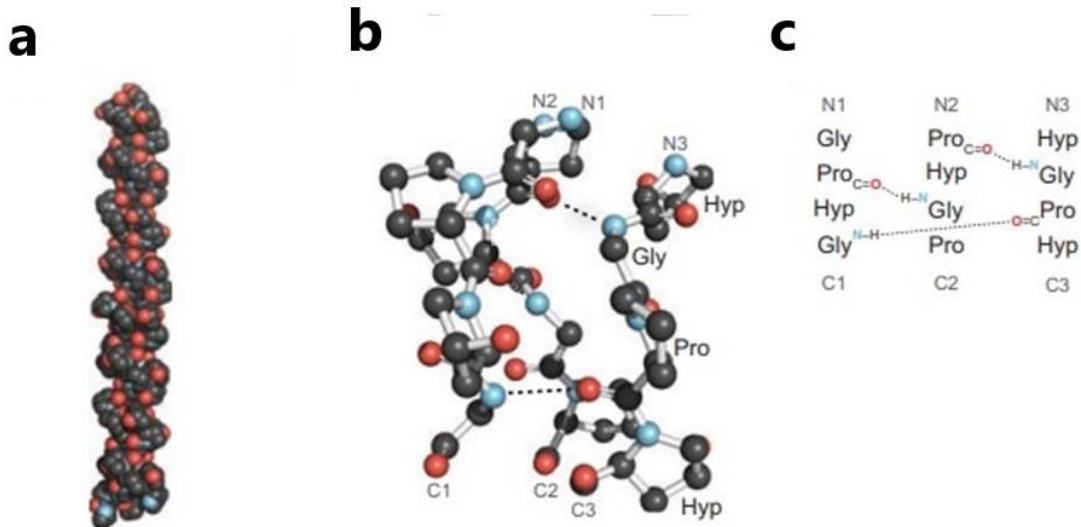
Protein kolagena ima molekulsku masu od približno 300 kDa, duljine je od oko 280 nm te je zavojnica promjera od oko 1,4 nm (León-López et al., 2019).

Kolagen je najprisutniji protein u čovjekovu tijelu. Čini jednu trećinu ukupne količine proteina čovjeka. Kolagen je građen od tri polipeptidna lanca koja zauzimaju jedinstvenu prostornu strukturu trostruke zavojnice koja daje čvrstoću i mehaničku potporu stanicama (Slika 1 a). Aminokiseline koje su najzastupljenije u proteinu kolagena i koje čine njegovu primarnu strukturu su glicin (Gly), prolin (Pro) i hidroksiprolin (Hyp). Od navedene tri aminokiseline, u sastavu kolagena rjeđe se može naći aminokiselina hidroksilizin (Hyl). Hidroksiprolin i hidroksilizin općenito su slabije zastupljene aminokiseline u strukturama drugih proteina. Najveći udio u masi svih molekula kolagena čini glicin. Glicin je sterički nezahtjevna aminokiselina koja na mjestu bočnog ogranka sadrži samo atom vodika. Zbog toga zauzima malo prostora te omogućava zbližavanje susjednih polipeptidnih lanaca (Stryer, 1981).

Aminokiseline kolagenskih lanaca tvore ponavljajući aminokiselinski slijed  $(\text{Gly-X-Y})_n$  u tri paralelna polipeptidna lanca koji čine sekundarnu strukturu  $\alpha$ -heliksa. Aminokiseline prolin i hidroksiprolin, zauzimaju X i Y pozicije duž lanaca (Gelse, 2003). Prolin i hidroksiprolin su alifatske i cikličke prirode što stabilizira lance kolagena koji su lijevo zakrenuti (L-konformacija), a namatanjem jednog oko drugog čine trostruku zavojnicu koja je desno zakrenuta (D-konformacija). Trostruka zavojnica čini tercijarnu strukturu kolagena. Na oba kraja trostruke zavojnice nalaze se nestrukturirane regije (León-López et al., 2019, Kirkness et al., 2019).

Kolagenska vlakna stabilizirana su različitim intramolekularnim interakcijama, a najčešće su to vodikove veze i van der Waalove interakcije između lanaca. Vodikova veza formira se između amino skupine glicina i karboksilne skupine aminokiseline koja je na X poziciji susjednog lanca. Druga vodikova veza javlja se kada na X položaju peptidne sekvence nije prolin, a formira se između amino skupine te aminokiseline i karboksilne skupine glicina. Druga vodikova veza posredovana je molekulom vode (Brodsky and Persikov, 2005).





Slika 1. a) kristalna struktura trostruke zavojnice kolagena; b) model kuglica i štapića koji predstavlja dio molekule kolagena; c) prikaz vodikove veze između susjednih polipeptidnih lanaca. Slika preuzeta iz Shoulders et al (2009)

Također, kolagen je stabiliziran steričkim utjecajem aminokiselina koje svojim rasporedom u polipeptidnom lancu omogućavaju formiranje zavojnice. Sadržaj prolina i hidroksiprolina, koji su iminokiseline, stabilizira trostruku zavojnicu. Što je veći njihov sadržaj, zavojnica je stabilnija. Također, glicin zauzima svako treće mjesto u aminokiselinskom slijedu i zbog toga je superheliks sterički moguć. Temperatura mekšanja ( $T_m$ ) je temperatura pri kojoj se gubi pola zavojite strukture i mjera je stabilnosti molekule. Veći udio prolina i hidroksiprolina povećava i  $T_m$ . Na  $T_m$  utječe i posttranslacijska modifikacija koja dodatno stabilizira trostruku zavojnicu.

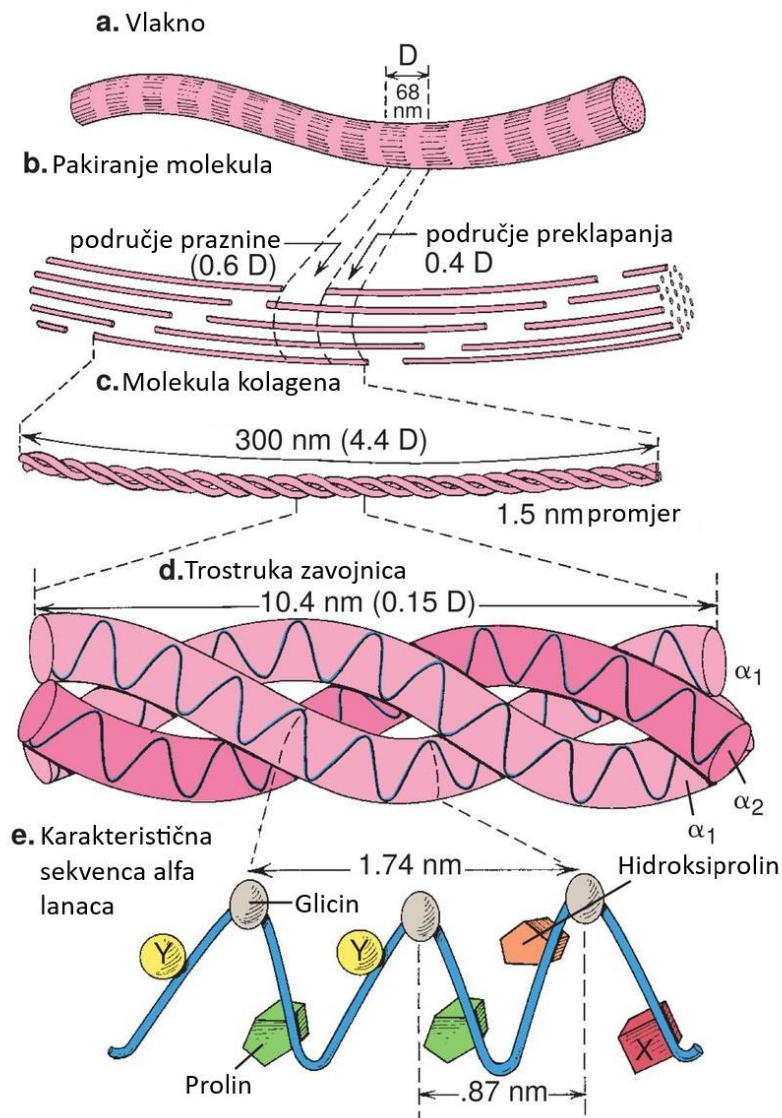
Posttranslacijske modifikacije kolagenskih vlakana su hidroksilacija, glikozilacija i fosforilacija, a najistaknutija je hidroksilacija prolinskih ostataka kada se on nalazi na Y poziciji koja povećava termičku stabilnost zavojnice (Fidler et al., 2018; Shoulders and Raines, 2009). Temperatura

mekšanja nehidroksiliranog kolagena je 24 °C, dok je temperatura mekšanja potpuno hidroksiliranog kolagena oko 39 °C (Myllyharju, 2005). Pretpostavlja se da molekule vode imaju važnu ulogu u stabilizaciji proteina kolagena. Zbog nemogućnosti aminokiseline hidroksiprolina da formira izravnu vodikovu vezu s drugom aminokiselinom, vodikova veza posredovana je molekulom vode te se može reći da je protein kolagena stabiliziran vodenim mostovima. Uloga vode u stabilizaciji trostruke zavojnice ovisi o aminokiselinama koje su prisutne u polipeptidnim lancima (Bella et al., 1995; De Simone et al., 2008).

## 2.2. Fibroblasti i sinteza kolagena

Kolagen proizvode mezenhimske dermalne stanice koje nazivamo fibroblasti. Fibroblasti su aktivni oblik stanice, dok se za stanice u mirovanju koristi naziv fibroцит. Fibroblasti osim kolagena sintetiziraju i elastin te glikozaminoglikane. U različitim ljudskim tkivima razlikuje se i količina fibroblasta. Također, u ljudskoj koži količina fibroblasta, te samim time i sinteza kolagenih vlakana, ovisi o sloju kože. Fibroblasti u dubljim slojevima kože proizvode manje kolagena u odnosu na površinske slojeve kože. U organizmu odraslih osoba dijele se kada je povećana potreba za fibroblastima, npr. prilikom zarastanja rana (Tracy et al., 2016).

Sinteza kolagena tipa I, kao i sinteza drugih tipova kolagena, započinje transkripcijom mRNA molekula. Sintezom  $\alpha$ -lanaca koji nastaju na poliribosomima hrapavog endoplazmatskog retikuluma (ER) formiraju se molekule preprokolagena koje prolaze kroz cisterne ER i iz njih izlaze kao prokolagen odbacivanjem signalnog peptida. Prokolagen je biosintetska preteča kolagena. Nakon nastanka prokolagena odvijaju se procesi hidroksiliranja prolina i lizina djelovanjem enzima hidroksilaze. Sljedeći proces je glikoliziranje hidroksilizina koji će na sebe vezati molekule šećera. Na amino (N-terminalni) i karboksilnom (C-terminalni) kraju  $\alpha$ -lanaca nalaze se dodatna peptidna područja. Lanci koji sadržavaju dodatna peptidna područja nazvani su pro- $\alpha$ -lanci. Dodatna peptidna područja imaju drugačiji sastav aminokiselina u odnosu na ostatak lanca jer ne sadrže mnogo glicina, prolina i hidroksiprolina. C-terminalna propeptidna područja sadržavaju aminokiselinu cistein. Cistein omogućava povezivanje pro- $\alpha$ -lanaca disulfidnim vezama koje nisu prisutne u kolagenu. U izvanstaničnom matriksu prokolagen-peptidaze odcjepljuju propeptidna područja te nastaje molekula tropokolagena. Tropokolagen osnovna je gradivna jedinica kolagena i omogućava udruživanje u vlaknaca. Vlakna kolagena nastaju spontanom udruživanjem topokolagena u vlaknaca u izvanstaničnom matriksu. Za biosintezu kolagena značajno je da ona započinje na N-kraju lanca, a formiranje trostruke zavojnice započinje na C-kraju. Također,  $\alpha$ -lanci moraju ostati razmotani do završetka njihove translacije što omogućavaju brojni enzimi (Junqueira and Carneiro, 2005; Soroushanova et al., 2019). Slika 2. prikazuje pakiranje molekula kolagena u kolageno vlakno.



Slika 2. Prikaz građe kolagenog vlakna. a) vlakno; b) vlaknaca; c) molekula kolagena; d) trostruka zavojnica; e) aminokiselinski lanac. Slika preuzeta s poveznice [https://www.researchgate.net/figure/a-Atomic-force-microscopic-image-of-type-I-collagen-fibrils-in-the-connective-tissues\\_fig1\\_337923466](https://www.researchgate.net/figure/a-Atomic-force-microscopic-image-of-type-I-collagen-fibrils-in-the-connective-tissues_fig1_337923466) (20. kolovoza 2022.) i prilagođena

Najvažnije posttranslacijske modifikacije kolagena, glikozilacija i hidroksilacija, odvijaju se u endoplazmatskom retikulumu. Hidroksiprolin, koji je karakteristična aminokiselina za protein kolagena, derivat je prolina. Nastaje djelovanjem enzima prolil-4-hidroksilaze. Količina hidroksiprolina važna je za formiranje vodikovih veza te zbog toga omogućava stabilnost molekule. S obzirom na to da je kolagen tip I glikoprotein, sadržava i jako mali udio ugljikohidrata vezanih na lanac, a to su najčešće monomer galaktoze ili dimer galaktoze i glukoze. Molekule navedenih ugljikohidrata O-glikozidnom vezom vežu se na hidroksilizin. Hidroksilizin također nastaje posttranslacijskom modifikacijom lizina djelovanjem enzima lizil-hidroksilaze (Sorushanova et al., 2019).

Kako su fibroblasti najbrojnije stanice izvanstaničnog matriksa (eng. *Extracellular matrix, ECM*), proizvode i većinu komponenti od kojih je izgrađen.

Izvanstanični matriks građen je od prethodno spomenutih glikozaminoglikana (GAG) i elastina te također proteoglikana i glikoproteina. Elastin je protein koji gradi elastična vlakna. Uz kolagen, elastin se nalazi u većini vezivnih tkiva. Aminokiselina koja je najprisutnija u njegovom sastavu je glicin kao i u proteinu kolagena. Sadrži također i prolin. Ostale aminokiseline koje su zastupljene u proteinu elastina su nepolarne i alifatske aminokiseline poput alanina, valina, leucina i izoleucina. Elastinska vlakna omogućavaju elastičnost tkiva i pružaju mu otpornost (Tracy et al., 2016). Glikozaminoglikani sastoje se od ponavljajućih disaharidnih jedinica. Oni koji su vezani na središnji proteinski lanac nazivaju se proteoglikani, a najčešće su to dematan sulfat te hondroitin sulfat. Hijaluronan (hijaluronska kiselina, HA) jedini je iz skupine GAG koji nije vezan na središnji proteinski lanac. Pripada skupini mukopolisaharida. Kada nije vezan na druge molekule, veže se na molekule vode što mu daje viskoznu strukturu. Smatra se jednom od najhidrofilnijih molekula prisutnih u prirodi (Necas et al., 2008). Obzirom da su GAG u interakcijama s molekulama vode, sadržaj i koncentracija njih uvelike utječe na hidrataciju kože, posebice sadržaj hijaluronana (Waller and Maibach, 2006). Svi GAG, osim hijaluronana i keratan sulfata, mogu se vezati na protein kolagena elektrostatskim interakcijama pri fiziološkom pH. Bolje se vežu oni GAG koji imaju veću gustoću naboja i veličinu (Lindahl and Hook, 1978).

Sve interakcije između GAG i proteina, kao i sadržaj proteina, utječu na sintezu kolagenih vlakana jer su fibroblasti osjetljivi na interakcije koje se odvijaju unutar izvanstaničnog matriksa. Sadržaj i

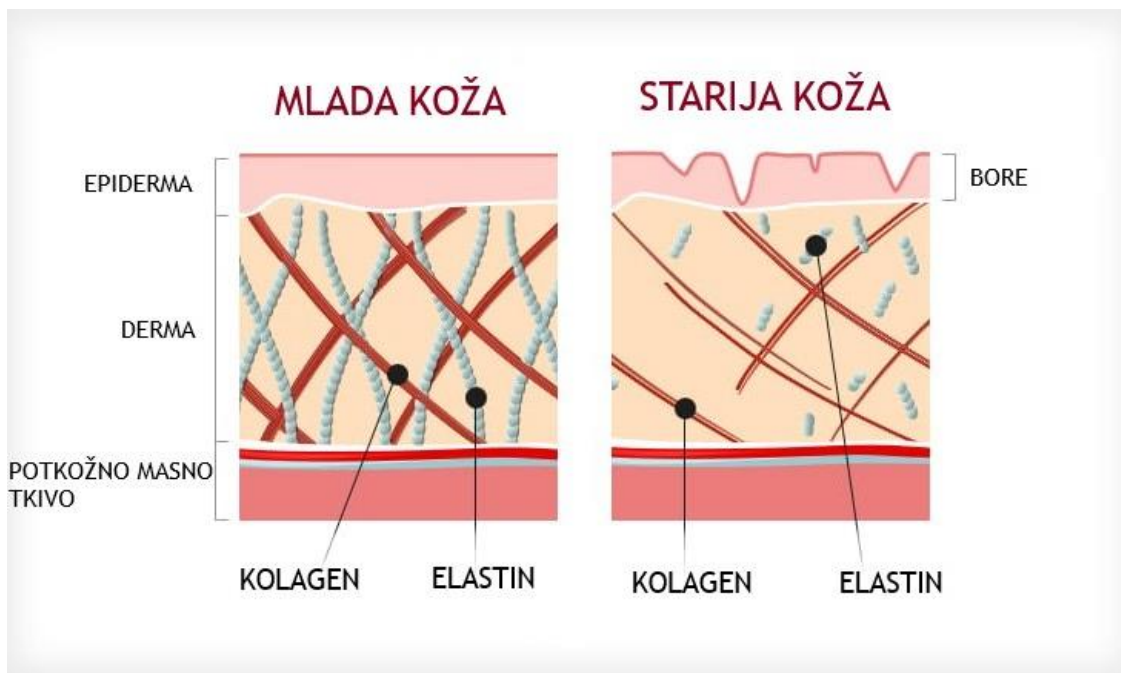
različnost svih tvari prisutnih u izvanstaničnom matriksu daje koži određenu teksturu, te o njima ovisi njena elastičnost, hidratacija i naboranost (Bell et al., 1979; Reilly and Lozano, 2021).

### **2.3. Zastupljenost kolagenskih vlakana u koži i utjecaj starenja na strukturu kože**

Postoji oko 28 tipova kolagena prisutnih u tijelu čovjeka. Razlikujemo ih na temelju duljine ponavljajućih sekvenci u polipeptidnim lancima te ponavljanju određenih aminokiselina. Također, podijeljeni su u više grupa ovisno o tome formiraju li vlakna, mrežu ili neke druge oblike. Kolagen tipa I najzastupljeniji je u ljudskom tijelu te ga nalazimo u koži, tetivama, kostima i drugim organima. Kod tog tipa kolagena više molekula kolagena udruženo je u vlakanca. Kolagen tipa I građen je od dva istovrsna polipeptidna lanca koji su nazvani  $\alpha 1(I)$  i jednog polipeptidnog lanca koji se razlikuje te je nazvan  $\alpha 2$ . Koži pruža potporu i čvrstoću, a čvrstoća samih vlakana moguća je zbog prisutnosti vodikovih i hidrofobnih međumolekulskih veza. Također, kolagen tipa I ključan je u održavanju elastičnosti kože (Reilly and Lozano, 2021; Soroushanova et al., 2019).

Sinteza kolagena započinje još u fetalnom razdoblju. Tijekom prvog tromjesečja u stanicama kože fetusa počinju se formirati vlakna izvanstaničnog matriksa (Smith et al., 1986). Enzimi koji potiču sintezu kolagenih vlakana nisu jednako aktivni tijekom svih razdoblja života. Glukoziltransferaza i hidroksilaza najaktivnije su u fetalnom razdoblju prilikom razvoja fetusa, a njihova aktivnost opada tijekom godina. Također je veća aktivnost tih enzima u koži djece nego u koži odraslih (Anttinen et al., 1977).

Promjene na koži poput naboranosti i gubitka elastičnosti neki su od znakova starenja (Slika 3.). Pojavljuju se zbog promjena u sintezi kolagena, elastina te GAG. Na te promjene utječu i vanjski i unutarnji faktori. Unutarnji faktori uključuju genetički i hormonski utjecaj, dok u vanjske faktore ubrajamo pušenje, konzumaciju alkohola, pretjerano izlaganje sunčevim zrakama (UV zračenje) i izloženost stresu. Obilježja starenja kože javljaju se zbog oštećenja komponenti izvanstaničnog matriksa, odnosno kolagenih i elastičnih vlakana (Ogawa and Hsu, 2013).



Slika 3. Slika prikazuje komponente izvanstaničnog matriksa u pravilnom rasporedu u mladoj koži (lijevo) te njihov nepravilan raspored i nastanak bora u starijoj koži (desno). Slika preuzeta s poveznice <https://pariserderm.com/2021/03/11/do-collagen-supplements-work/collagen-diagram-3/>, (21.kolovoza 2022.) i prilagođena

Kod djece u ranoj pubertetskoj dobi ravnoteža sinteze i razgradnje kolagenih vlakana je pod utjecajem spolnih hormona. U tom razdoblju pojačana je sinteza kolagenih vlakana. Prvi gubitak kolagenih vlakana počinje u ranoj adolescentskoj dobi (oko osamnaeste godine života), a kasnije se gubi oko 1% kolagena godišnje. Za razgradnju kolagena zaslužni su enzimi metaloproteinaze (MMP). Zbog pretjerane izloženosti sunčevim zrakama tijekom godina, kolagena vlakna postaju zadebljanija. Takva zadebljana vlakna karakteristična su za stariju kožu i organizirana su u snopove poput užeta. Vlakna se neuredno raspoređuju u izvanstaničnom matriksu, što nije slučaj kod mlađe kože gdje imaju uređeniji raspored (Baumann, 2007).

Elastin također pokazuje promjene povezane sa starenjem kože. Dolazi do njegove usporene sinteze te nakupljanja oštećenja u već postojećem elastičnom tkivu. Također, dolazi i do njegove prekomjerne sinteze u područjima koja su bila više izložena UV zračenju. To dovodi do

nakupljanja oštećenog elastina koji nema funkciju kao kod mlade kože. Koža na taj način gubi svoju gipkost što rezultira formiranjem bora (Waller and Maibach, 2006).

Sinteza glikozaminoglikana intenzivnija je kod starije kože. Novosintetizirani GAG u svom sastavu imaju više hidrofobnih aminokiselina u odnosu na GAG prisutne u mladoj koži. Takvi GAG nisu u mogućnosti vezati molekule vode te se gubi njihova funkcija (Ogawa and Hsu, 2013; Reilly and Lozano, 2021). U koži koja je bila izložena UV zračenju, prisutna je smanjena razina hijaluronana, ali povećana razina hondroitin sulfata (Baumann, 2007). Zbog svih prethodno navedenih faktora, s godinama se nakupljaju oštećeni proteini izvanstaničnog matriksa. Na taj se način gubi i mehanička potpora kože te ona gubi svoju strukturu i hidratiziranost.



## 2.4. Peptidi kolagena

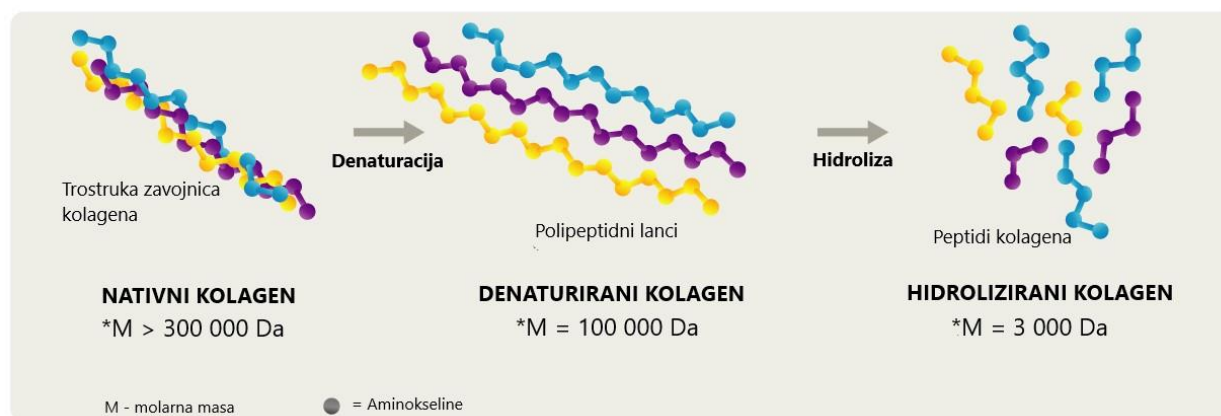
S obzirom na to da je starenje kože prirodan proces uvjetovan mnogim faktorima, različitim metodama utječe se na usporavanje tog procesa. Trenutno je u širokoj primjeni korištenje oralnih suplemenata koji se nude na tržištu kao proizvod protiv starenja kože. Takvi suplementi u svom sastavu imaju peptide kolagena. Peptidi kolagena mali su fragmenti proteina kolagena koji se sastoje od dvije ili tri aminokiseline. Nastaju djelovanjem enzima metaloproteinaza na denaturirani protein kolagena. Fotostarenje kože potiče aktivnost metaloproteinaza te samim time i razgradnju kolagena u koži.

### 2.4.1. Metaloproteinaze

Metaloproteinaze (*eng. metalloproteinase; matrix metalloproteinase, MMP*) skupina su enzima koji sadržavaju cinkove katione u svojoj strukturi i odgovorni su za razgradnju proteina izvanstaničnog matriksa. U organizmu su prisutni u obliku neaktivnih enzimskih prekursora koji se nazivaju zimogeni. Na zimogene djeluju proteolitički enzimi kao što su serinska proteaza, furin ili plazmin. Proteolitički enzimi svojim mehanizmom zimogene pretvaraju u aktivan oblik enzima (Verma and Hansch, 2007).

Metaloproteinaze imaju četiri strukturne domene: N-terminalni propeptid, katalitičku domenu, povezič (eng. *linker*) i C-terminalnu domenu (Hagmann et al., 1996). S obzirom na njihovu građu i sklonosti prema različitim supstratima, razlikujemo više tipova metaloproteinaza. MMP-1 je intersticijska kolagenaza, odnosno kolagenaza 1 koja cijepa kolagen izvanstaničnog matriksa (tipovi kolagena I, II i III) (Lauer-Fields et al., 2002). MMP-2 (želatinaza) cijepa kolagen tipa I na sličan način kao i MMP-1. MMP-13 (kolagenaza 3) cijepa ponajviše kolagen tipa II. Navedene metaloproteinaze, uz ostale tipove, djeluju na prethodno denaturirani kolagen jer nemaju dovoljnu sposobnost sami razmotati trostruku zavojnicu (Lauer-Fields et al., 2000). Denaturirani kolagen naziva se želatina. Denaturacija kolagena odvija se pri višim temperaturama (otprilike 40 °C) te nastaju tri slobodna  $\alpha$ -polipeptidna lanca. Nakon denaturacije  $\alpha$ -lanci su pod utjecajem metaloproteinaza koje polipeptidne lance razgrađuju na manje sekvence, tripeptide ili dipeptide

(Slika 4.). Tripeptidi odnosno dipeptidi koji nastaju hidrolizom polipeptidnih lanaca nazivaju se hidrolizirani kolagen (*eng. Hydrolyzed collagen, HC*).



Slika 4. Denaturacijom nativnog kolagena nastaju tri slobodna polipeptidna lanca koja se nazivaju denaturirani kolagen ili želatina. Djelovanjem proteolitičkih enzima na denaturirani kolagen nastaju peptidi kolagena. Slika preuzeta s poveznice <https://www.proteinsa.com/collagen-peptides/> (20.kolovoza 2022.) i prilagođena

#### 2.4.2. Svojstva hidroliziranog kolagena

Hidrolizirani kolagen razlikuje se od nativnog kolagena u mnogim značajkama. Hidroliza utječe na različita fizikalna svojstva u odnosu na nativni kolagen. Jedna od bitnih razlika je razlika u veličini molekula. Peptidi koji nastaju hidrolizom kolagena najčešće su molarne mase od 3 do 6 kDa iako mogu biti i nešto manji ili veći od toga, ovisno o duljini peptida. Nativni kolagen ima molarnu masu od oko 300 kDa (Li et al., 2013; Zhang et al., 2017). Izoelektrična točka (pI) važan je faktor u određivanju proteina. Izoelektrična točka je pH vrijednost otopine pri kojoj je neto naboj molekule jednak nuli, a aminokiseline pod utjecajem električnog polja neće se gibati prema elektrodama. Kod peptida kolagena ona je ovisna o sadržaju aminokiselina odnosno njihovim ostacima, a njihov sadržaj ovisi i o vrsti hidrolize. Kod nativnog kolagena pI je između 7 i 8, što nam ukazuje na to da je kolagen amfoterna molekula (Zhang et al., n.d.). Zbog jakih elektrostatskih veza, molekule nativnog kolagena imaju izraženu viskoznost neovisno o koncentraciji, što nije slučaj kod peptida kolagena. Opadanjem molarne mase, odnosno veličine molekule, opada i viskoznost (SUN Pan et al., 2018). Stupanj hidrolize (*eng. degree of hydrolysis, DH*) značajno utječe na molekulsku masu peptida kolagena. Funkcionalna svojstva HC-a poput antimikrobnog

djelovanja, bioraspoloživosti te antioksidativnog kapaciteta povezana su s veličinom molekula. Zbog male molekulske mase HC topljiv je i visoko probavljiv. Također, lako se apsorbira i prenosi u ostala tkiva u organizmu. Zbog svih navedenih karakteristika, hidrolizirani kolagen u širokoj je primjeni kao sredstvo protiv starenja kože (Sibilla et al., 2015; Wang et al., 2018).

### **2.4.3. Izvori hidroliziranog kolagena**

Postoji više izvora kolagena. Mogu biti prirodni i sintetički. Kolagen koji se dobiva iz prirodnih izvora može biti biljnog i životinjskog podrijetla. Od životinjskih izvora najčešće je to govedo, svinja, ljudski kolagen te neki morski organizmi. Sintetički dobiven kolagen u upotrebi je kako bi se izbjegli imunološki problemi (Avila Rodríguez et al., 2018).

Svinjski hidrolizat kolagena može se dobiti na različite načine. Jedan od njih je hidrotermalna obrada i ultrafiltracija (Choi et al., 2018). Prisutnost peptida poput Pro-Hyp-a potiče rast stanica, sintezu hijalurona i ostalih čimbenika koji smanjuju starenje kože te se zbog toga svinjski hidrolizat kolagena često koristi kao sastojak pripravaka protiv starenja kože (Yazaki et al., 2017). Drugi izvor je govedo. Goveđi hidrolizat kolagena može se dobiti djelovanjem enzima alkalaze, tripsina, pepsina i kolagenaze (Zhang et al., 2013). Obje vrste pokazuju brojna svojstva, npr. svinjski hidrolizat pokazuje antioksidativna svojstva, svojstva protiv starenja kože te svojstva lakšeg prodiranja kroz kožu, dok goveđi hidrolizat uz antioksidativna svojstva pokazuje također antimikrobno djelovanje te protuupalna svojstva (Arruda et al., 2012; Choi et al., 2018; O'Sullivan et al., 2017). Iako su navedeni izvori jeftini i lako dostupni, nakon produljene primjene peptidi iz ovih izvora pokazali su se kao alergeni te mogući prenositelji bolesti poput goveđe spongiformne encefalopatije. Kao bolja opcija pokazali su se peptidi iz morskih izvora zbog jako male prisutnosti toksina te manje mogućnosti prenošenja bolesti (Avila Rodríguez et al., 2018).

Kolagen iz morskih izvora najčešće se izolira iz organizama poput riba, meduza, morskih trava i spužvi. Prednosti morskih izvora su jednostavnost izolacije i topljivost u vodi. Kao i goveđi i svinjski hidrolizat, također ima antioksidativna i antimikrobna svojstva te svojstva protiv starenja kože (Lim et al., 2019). Uspoređujući ga s goveđim ili svinjskim hidrolizatom, hidrolizat iz morskih izvora ima veća apsorpcijska svojstva. Također, zbog slabijeg mirisa i veće mehaničke čvrstoće bolji je odabir kao sastojak kozmetičkih proizvoda (Venkatesan et al., 2017).

Kako bi se izbjegli mogući problemi uzrokovani konzumacijom goveđeg ili svinjskog hidrolizata, u primjeni je i sintetički dobiven hidrolizat kolagena. Najčešći takav izvor kolagena su sintetički dobiveni proteini koji na neki način oponašaju protein kolagena (*eng. collagen mimetic peptides, CMPs*) – oponašaju njegovu strukturu trostruke zavojnice ili njegova svojstva. Jedan od tako dobivenih proteina sastoji se od 36 aminokiselina te oponaša prirodni kolagen. U ponavljajućim sekvencama polipeptidnog lanca sadržava lizin (Lys ili K), hidroksiprolin (Hyp ili O) te asparaginsku kiselinu (Asp ili D). Zbog slova kojim su označene aminokiseline taj sintetički protein naziva se KOD. Druga mogućnost dobivanja sintetičkog kolagena je upotreba tehnika rekombinacije proteina. Nedostatci sintetičkih izvora su visoke cijene te manjak enzima i kofaktora koji su ključni za stabilno formiranje funkcionalnih kolagenskih vlakana (Avila Rodríguez et al., 2018; Xu and Kirchner, 2021).

Prema nekim istraživanjima, u porastu je proizvodnja kolagena iz biljnih izvora putem rekombinantnog ekspresijskog sustava. Ekspresija gena *rhCOL1* u biljci duhana važna je jer se smatra da potiče sintezu kolagena tipa I. Zbog toga je duhan nov i važan izvor za sintezu kolagena. U budućnosti, biljni kolagen mogao bi nadvladati životinjske izvore kolagena zbog manjeg utjecaja na okoliš i nemogućnosti prenošenja bolesti (Binlatah et al., 2022).

## 2.5. Oralna primjena peptida kolagena

Zbog svojih karakteristika, u posljednje vrijeme zabilježeni su različiti pozitivni učinci primjene peptida kolagena. Posebno se ističe primjena navedenih peptida u svrhu poboljšanja kožne barijere, odnosno smanjenja znakova starenja. HC najčešće je prisutan kao oralni dodatak prehrani, iako njegova primjena može biti i direktno na kožu, putem krema.

HC mora se lako apsorbirati u crijevu kako bi ušao u krvotok te postao aktivan u koži (Zague, 2008). Kako bi dospjeli u krvotok, svi proteini moraju biti u hidroliziranom obliku. Probavni sustav djelovanjem svojih enzima, nakon konzumacije suplemenata koji sadržavaju HC, razgrađuje iste na još manje molekule. Pepsin u želucu razgrađuje peptidne veze aromatskih aminokiselina, dok u crijevu djeluju enzimi tripsin, kimotripsin, elastaza i karboksipeptidaza (Kiela and Ghishan, 2016). Poznato je da HC na dva načina utječe na sintezu kolagenih vlakana. Aminokiseline koje se oslobode hidrolizom u probavnom sustavu – glicin, prolin i hidroksiprolin, zalihe su koje koriste fibroblasti za sintezu novih vlakana. Također, oligopeptidi bogati hidroksiprolinom stimuliraju fibroblaste da sintetiziraju kolagen (Reilly and Lozano, 2021).

### 2.5.1. Utjecaj na svojstva kože

Kim i suradnici (2018) su proučavali kako primjena peptida kolagena male molekulske mase (*eng. low-molecular-weight collagen peptide, LMWCP*) utječe na svojstva kože. Eksperimentalno su dokazali da kontinuirana primjena suplemenata koji sadržavaju peptide kolagena značajno poboljšava hidrataciju i elastičnost kože te smanjuje njenu naboranost. U svojem su eksperimentu koristili hidrolizat kolagena dobiven iz kože šarenog morskog psa (*Pangasius hypophtalamus*). Eksperiment je imao nasumičan, dvostruko slijepi, placebo kontrolirani dizajn. Dvostruko slijepi dizajn podrazumjeva vrstu ispitivanja u kojemu ni ispitanici ni istraživači ne znaju koji je preparat primijenjen na pojedinoj skupini ispitanika, a provodi se kako bi se uklonila pristranost u procjeni učinka nekog lijeka. Eksperiment se izvodio na 64 žene u dobi od 40 do 60 godina koje su bile nasumično raspoređene u dvije skupine, testnu i placebo skupinu. Skupina na kojoj su se primjenjivali LMWCP tijekom 6 i 12 tjedana pokazala je značajno povećanje hidratacije kože u odnosu na placebo skupinu. Mjereni parametri naboranosti kože – prosječna hrapavost, hrapavost kože i glatkoća kože bili su značajno poboljšani kod testne skupine. Od parametara elastičnosti

kože – ukupna elastičnosti, neto elastičnosti, omjer elastičnog oporavka i ukupne elastičnosti samo je neto elastičnost kože bila značajno poboljšana.

Schwartz i Park, (2012) su također došli do eksperimentalnih rezultata koji pokazuju da se povećava hidratacija i sadržaj kolagena u stanicama kože. Proveli su eksperiment otvorenog tipa. U eksperimentu otvorenog tipa i istraživači i ispitanici upoznati su sa suplementom kojeg uzimaju. U svom su eksperimentu primjenjivali suplement koji je dobiven iz zglobne hrskavice pileće prsne kosti te sadržava hidrolizirani kolagen tipa II, HA male molekulske mase i hidroitin sulfat. Kako bi istražili učinkovitost suplementa, primjenjivali su ga na skupini od 26 žena tijekom 12 tjedana čija je koža imala vidljive znakove starenja. Istraživanje je pokazalo da se navedeni suplement može koristiti u suzbijanju prirodnih procesa starenja kože. Za provjeru navedenih opažanja potrebno je još provesti kontroliranu studiju.

S obzirom na to da je hidratacija kože povezana sa količinom HA, može se pretpostaviti da primjena peptida kolagena utječe na njezinu sintezu. Sadržaj HA opada pri izloženosti kože sunčevu zračenju. Kang i suradnici, (2018) u svojoj su studiji istraživali utječe li oralno primijenjen HC na gubitak hidratiziranosti kože izazvane UVB zračenjem, eksperiment je proveden na miševa bez dlake. Primjenjivali su peptide kolagena dobivene iz ljuske tilapije (*Oreochromis mossambicus*). U eksperimentu su miševi bili tretirani s dvije različite doze peptida kolagena (500 i 1000 mg/kg) tijekom 9 tjedana, a njihovo dorzalno područje kože bilo je izloženo UVB zračenju. Rezultati ovog tima upućuju da bi se oralnom primjenom peptida kolagena moglo ublažiti stvaranje bora koje su inducirane UVB zračenjem. Njihovo istraživanje upućuje na korištenje peptida kolagena kao potencijalnih sastojaka nutritivne kozmetike koji bi na blag način djelovali na fotostarenje kože regulacijom HA.

Nadalje, Ohara i suradnici, (2010) proučavali su utjecaj peptida kolagena na komponente izvanstaničnog matriksa i diobu stanica. Utjecaj peptida proučavan je na kulturi humanih fibroblasta iz stanica kože. Iako su na stanice primjenjivali različite peptide kolagena, zabilježili su da je dipeptid Pro-Hyp pri koncentraciji od 200 nmol/mL potaknuo diobu stanica fibroblasta i sintezu HA.

Inoue i suradnici, (2016) proveli su nasumično, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje. U svom su istraživanju koristili dva oblika hidrolizata kolagena dobivenog iz riblje želatine koji se razlikuju po udjelu peptida Pro-Hyp i Hyp-Gly. U istraživanju je sudjelovalo 85

žena u dobi 35-55 godina koje su podijelili u tri skupine – i to one koje su izložene manjem udijelu peptida, većem udijelu peptida i placebo skupina. Ispitanice su bile podvrgnute primjeni suplemenata tijekom 8 tjedana. Rezultati su pokazali veću hidratiziranost kože i to kod obje testne skupine u odnosu na placebo skupinu. Skupina na kojoj se primjenjivao hidrolizat s većim udjelom navedenih peptida pokazala je značajno bolje rezultate prilikom mjerenja vlažnosti kože, elastičnosti, naboranosti i hrapavosti.

Proksch i suradnici, (2014) proveli su istraživanje na 69 žena koje su nasumično podijelili u 4 skupine i to: 2,5 g hidrolizata kolagena, 5,0 g hidrolizata kolagena, 2,5 g placeba i 5,0 g placeba. Suplementi su se primjenjivali tijekom 8 tjedana. Svrha istraživanja bila je istražiti utjecaj hidroliziranog kolagena koji se sastoji od specifičnih peptida na parametre povezane sa starenjem kože. Na kraju istraživanja, kod obje skupine koje su primjenjivale hidrolizat kolagena uočeno je povećanje elastičnosti kože u odnosu na placebo skupine.

Iako navedeni eksperimenti pokazuju djelotvornost suplemenata koji sadržavaju peptide kolagena na strukturu i stanice kože, njihovi rezultati su limitirajući. Većina dosadašnjih istraživanja provedena su na manjim skupinama ljudi i na različitim dobnim skupinama. Unatoč postojećim dokazima o njihovoj djelotvornosti, i dalje nije poznato je li kolagen koji je unesen u organizam djelotvorniji od bilo kojeg prehranom unesenog proteina, ponajviše jer se aminokiseline lizin i prolin konzumiraju kao dio svakodnevne prehrane. Također, nije ni u potpunosti objašnjen mehanizam djelovanja na stanice kože kao ni sama činjenica pruža li oralno primijenjeni kolagen prednost stanicama kože u odnosu na druge dijelove tijela, npr. tetive ili kosti (Spiro and Lockyer, 2018).

S druge strane, ne postoje studije u kojima je uočen negativan učinak oralne primjene navedenih suplemenata, kao ni nuspojave zbog prekomjernog uzimanja istih.

Moguće opasnosti kao i ograničavajuća primjena suplemenata vezana je uz odabir izvora kolagena. Goveđi kolagen može biti potencijalna opasnost zbog prenošenja goveđe spongiformne encefalopatije (kravlje ludilo). Također, može doći i do alergijskih reakcija ako je izvor kolagena neka vrsta školjkaša.

### **3. Zaključak**

Zbog sve veće želje za očuvanjem kožne barijere te hidratacije kože, peptidi kolagena su sve više prisutni u kozmetici i dodacima prehrani. Najčešće se nalaze kao sastojak oralnih suplemenata koji svojim djelovanjem poboljšavaju strukturu kože. Peptidi kolagena molekule su male molekulske mase, koje zbog svojih karakteristika poput antimikrobnog djelovanja, antioksidativnih svojstava, lake apsorpcije i topljivosti koristimo kao kozmetičke pripravke. Njihovi izvori mogu biti sintetički i prirodni (životinjski, biljni).

Postoje mnogobrojna istraživanja u kojima je uočen utjecaj peptida kolagena na diobu stanica fibroblasta koja je njihovim djelovanjem više izražena. Također, uočen je i utjecaj na produkciju hijaluronske kiseline koja osigurava hidratiziranost kože. Tijekom njihove primjene zabilježen je i značajan porast kolagena u stanicama. Međutim većina ovih istraživanja provedena je na manjim skupinama ispitanika različitih starosti. Također, u provedenim istraživanjima nije uočen negativan učinak primjene ovih suplemenata. Mogući rizici su opasnost od alergijske reakcije na određeni izvor peptida kolagena i mogućnost prenošenja nekih bolesti.

Zbog navedenih učinaka, smatra se da su peptidi kolagena učinkovit dodatak prehrani koji, u određenoj mjeri, smanjuje vidljive znakove starenja. Također, treba uzeti u obzir da su suplementi koji sadržavaju peptide kolagena relativno nov kozmetički proizvod. U budućnosti je potrebno još istraživanja koja će u potpunosti dokazati njihovu učinkovitost i apsorpciju u organizmu.



## 4. Literatura

- Anttinen, H., Oikarinen, A., Kivirikko, K.I., 1977. Age-related changes in human skin collagen galactosyltransferase and collagen glucosyltransferase activities. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* 76, 95–101. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(77\)90122-x](https://doi.org/10.1016/0009-8981(77)90122-x)
- Arruda, M.S., Silva, F.O., Egito, A.S., Silva, T.M.S., Lima-Filho, J.L., Porto, A.L.F., Moreira, K.A., 2012. New peptides obtained by hydrolysis of caseins from bovine milk by protease extracted from the latex *Jacaratia corumbensis*. *LWT* 49, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.001>
- Avila Rodríguez, M.I., Rodríguez Barroso, L.G., Sánchez, M.L., 2018. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *J. Cosmet. Dermatol.* 17, 20–26. <https://doi.org/10.1111/jocd.12450>
- Baumann, L., 2007. Skin ageing and its treatment. *J. Pathol.* 211, 241–251. <https://doi.org/10.1002/path.2098>
- Bell, E., Ivarsson, B., Merrill, C., 1979. Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76, 1274–1278. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.3.1274>
- Bella, J., Brodsky, B., Berman, H.M., 1995. Hydration structure of a collagen peptide. *Structure* 3, 893–906.
- Binlateh, T., Thammanichanon, P., Rittipakorn, P., Thinsathid, N., Jitprasertwong, P., 2022. Collagen-Based Biomaterials in Periodontal Regeneration: Current Applications and Future Perspectives of Plant-Based Collagen. *Biomimetics* 7, 34. <https://doi.org/10.3390/biomimetics7020034>
- Brodsky, B., Persikov, A.V., 2005. Molecular Structure of the Collagen Triple Helix, in: *Advances in Protein Chemistry*. Elsevier, pp. 301–339. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(05\)70009-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(05)70009-7)
- Choi, D., Min, S.-G., Jo, Y.-J., 2018. Functionality of porcine skin hydrolysates produced by hydrothermal processing for liposomal delivery system. *J. Food Biochem.* 42, e12464. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12464>

- De Simone, A., Vitagliano, L., Berisio, R., 2008. Role of hydration in collagen triple helix stabilization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 372, 121–125. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.04.190>
- Fidler, A.L., Boudko, S.P., Rokas, A., Hudson, B.G., 2018. The triple helix of collagens – an ancient protein structure that enabled animal multicellularity and tissue evolution. *J. Cell Sci.* 131, jcs203950. <https://doi.org/10.1242/jcs.203950>
- Gelse, K., 2003. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55, 1531–1546. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>
- Hagmann, W.K., Lark, M.W., Becker, J.W., 1996. Chapter 24. Inhibition of Matrix Metalloproteinases., in: *Annual Reports in Medicinal Chemistry*. Elsevier, pp. 231–240. [https://doi.org/10.1016/S0065-7743\(08\)60463-7](https://doi.org/10.1016/S0065-7743(08)60463-7)
- Inoue, N., Sugihara, F., Wang, X., 2016. Ingestion of bioactive collagen hydrolysates enhance facial skin moisture and elasticity and reduce facial ageing signs in a randomised double-blind placebo-controlled clinical study. *J. Sci. Food Agric.* 96, 4077–4081. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7606>
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2005. *Osnove histologije*, 10th ed. Školska knjiga, Zagreb.
- Kang, M., Yumnam, S., Kim, S., 2018. Oral Intake of Collagen Peptide Attenuates Ultraviolet B Irradiation-Induced Skin Dehydration In Vivo by Regulating Hyaluronic Acid Synthesis. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 3551. <https://doi.org/10.3390/ijms19113551>
- Kiela, P.R., Ghishan, F.K., 2016. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 30, 145–159. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.007>
- Kim, D.-U., Chung, H.-C., Choi, J., Sakai, Y., Lee, B.-Y., 2018. Oral Intake of Low-Molecular-Weight Collagen Peptide Improves Hydration, Elasticity, and Wrinkling in Human Skin: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Nutrients* 10, 826. <https://doi.org/10.3390/nu10070826>
- Kirkness, M.W., Lehmann, K., Forde, N.R., 2019. Mechanics and structural stability of the collagen triple helix. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 53, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.08.001>
- Lauer-Fields, J.L., Juska, D., Fields, G.B., 2002. Matrix metalloproteinases and collagen catabolism. *Biopolymers* 66, 19–32. <https://doi.org/10.1002/bip.10201>

- Lauer-Fields, J.L., Tuzinski, K.A., Shimokawa, K., Nagase, H., Fields, G.B., 2000. Hydrolysis of Triple-helical Collagen Peptide Models by Matrix Metalloproteinases. *J. Biol. Chem.* 275, 13282–13290. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.18.13282>
- León-López, A., Morales-Peñaloza, A., Martínez-Juárez, V.M., Vargas-Torres, A., Zeugolis, D.I., Aguirre-Álvarez, G., 2019. Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Molecules* 24, 4031. <https://doi.org/10.3390/molecules24224031>
- Li, Z., Wang, B., Chi, C., Gong, Y., Luo, H., Ding, G., 2013. Influence of average molecular weight on antioxidant and functional properties of cartilage collagen hydrolysates from *Sphyrna lewini*, *Dasyatis akjei* and *Raja porosa*. *Food Res. Int.* 51, 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.031>
- Lim, Y.-S., Ok, Y.-J., Hwang, S.-Y., Kwak, J.-Y., Yoon, S., 2019. Marine Collagen as A Promising Biomaterial for Biomedical Applications. *Mar. Drugs* 17, 467. <https://doi.org/10.3390/md17080467>
- Lindahl, U., Hook, M., 1978. Glycosaminoglycans and Their Binding to Biological Macromolecules. *Annu. Rev. Biochem.* 47, 385–417. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.47.070178.002125>
- Myllyharju, J., 2005. Intracellular Post-Translational Modifications of Collagens, in: Brinckmann, J., Notbohm, H., Müller, P.K. (Eds.), *Collagen, Topics in Current Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 115–147. <https://doi.org/10.1007/b103821>
- Necas, J., Bartosikova, L., Brauner, P., Kolar, J., 2008. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Vet. Med. (Praha)* 53, 397–411.
- Ogawa, R., Hsu, C., 2013. Mechanobiological dysregulation of the epidermis and dermis in skin disorders and in degeneration. *J. Cell. Mol. Med.* 17, 817–822. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12060>
- Ohara, H., Ichikawa, S., Matsumoto, H., Akiyama, M., Fujimoto, N., Kobayashi, T., Tajima, S., 2010. Collagen-derived dipeptide, proline-hydroxyproline, stimulates cell proliferation and hyaluronic acid synthesis in cultured human dermal fibroblasts. *J. Dermatol.* 37, 330–338. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2010.00827.x>
- O’Sullivan, S.M., Lafarga, T., Hayes, M., O’Brien, N.M., 2017. Bioactivity of bovine lung hydrolysates prepared using papain, pepsin, and Alcalase. *J. Food Biochem.* 41, e12406. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12406>

- Proksch, E., Schunck, M., Zague, V., Segger, D., Degwert, J., Oesser, S., 2014. Oral Intake of Specific Bioactive Collagen Peptides Reduces Skin Wrinkles and Increases Dermal Matrix Synthesis. *Skin Pharmacol. Physiol.* 27, 113–119. <https://doi.org/10.1159/000355523>
- Reilly, D.M., Lozano, J., 2021. Skin collagen through the lifestages: importance for skin health and beauty. *Plast. Aesthetic Res.* 2021. <https://doi.org/10.20517/2347-9264.2020.153>
- Schwartz, S.R., Park, J., 2012. Ingestion of BioCell Collagen®, a novel hydrolyzed chicken sternal cartilage extract; enhanced blood microcirculation and reduced facial aging signs. *Clin. Interv. Aging* 7, 267–273. <https://doi.org/10.2147/CIA.S32836>
- Shoulders, M.D., Raines, R.T., 2009. Collagen Structure and Stability. *Annu. Rev. Biochem.* 78, 929–958. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833>
- Sibilla, S., Godfrey, M., Brewer, S., Budh-Raja, A., Genovese, L., 2015. An Overview of the Beneficial Effects of Hydrolysed Collagen as a Nutraceutical on Skin Properties: Scientific Background and Clinical Studies. *Open Nutraceuticals J.* 8, 29–42. <https://doi.org/10.2174/1876396001508010029>
- Smith, L.T., Holbrook, K.A., Madri, J.A., 1986. Collagen types I, III, and V in human embryonic and fetal skin. *Am. J. Anat.* 175, 507–521. <https://doi.org/10.1002/aja.1001750409>
- Sorushanova, A., Delgado, L.M., Wu, Z., Shologu, N., Kshirsagar, A., Raghunath, R., Mullen, A.M., Bayon, Y., Pandit, A., Raghunath, M., Zeugolis, D.I., 2019. The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development. *Adv. Mater.* 31, 1801651. <https://doi.org/10.1002/adma.201801651>
- Spiro, A., Lockyer, S., 2018. Nutraceuticals and skin appearance: Is there any evidence to support this growing trend? *Nutr. Bull.* 43, 10–45. <https://doi.org/10.1111/nbu.12304>
- Stryer, L., 1981. *Biokemija*, 2nd ed. W. H. Freeman and Comp., San Francisco.
- SUN Pan, B., EN Chen, H., Sung, W.C., 2018. Molecular and thermal characteristics of acid-soluble collagen from orbicular batfish: effects of deep-sea water culturing. *Int. J. Food Prop.* 21, 1080–1090. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1476873>
- Tracy, L.E., Minasian, R.A., Caterson, E.J., 2016. Extracellular Matrix and Dermal Fibroblast Function in the Healing Wound. *Adv. Wound Care* 5, 119–136. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0561>
- Venkatesan, J., Anil, S., Kim, S.-K., Shim, M.S., 2017. Marine Fish Proteins and Peptides for Cosmeceuticals: A Review. *Mar. Drugs* 15, 143. <https://doi.org/10.3390/md15050143>

- Verma, R.P., Hansch, C., 2007. Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical–biological functions and (Q)SARs. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 2223–2268. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.01.011>
- Waller, J.M., Maibach, H.I., 2006. Age and skin structure and function, a quantitative approach (II): protein, glycosaminoglycan, water, and lipid content and structure. *Skin Res. Technol.* 12, 145–154. <https://doi.org/10.1111/j.0909-752X.2006.00146.x>
- Wang, L., Jiang, Y., Wang, X., Zhou, J., Cui, H., Xu, W., He, Y., Ma, H., Gao, R., 2018. Effect of oral administration of collagen hydrolysates from Nile tilapia on the chronologically aged skin. *J. Funct. Foods* 44, 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.03.005>
- Xu, Y., Kirchner, M., 2021. Collagen Mimetic Peptides. *Bioengineering* 8, 5. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8010005>
- Yazaki, M., Ito, Y., Yamada, M., Goulas, S., Teramoto, S., Nakaya, M., Ohno, S., Yamaguchi, K., 2017. Oral Ingestion of Collagen Hydrolysate Leads to the Transportation of Highly Concentrated Gly-Pro-Hyp and Its Hydrolyzed Form of Pro-Hyp into the Bloodstream and Skin. *J. Agric. Food Chem.* 65, 2315–2322. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05679>
- Zague, V., 2008. A new view concerning the effects of collagen hydrolysate intake on skin properties. *Arch. Dermatol. Res.* 300, 479–483. <https://doi.org/10.1007/s00403-008-0888-4>
- Zhang, Y., Olsen, K., Grossi, A., Otte, J., 2013. Effect of pretreatment on enzymatic hydrolysis of bovine collagen and formation of ACE-inhibitory peptides. *Food Chem.* 141, 2343–2354. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.058>
- Zhang, Yehui, Zhang, Yousheng, Liu, X., Huang, L., Chen, Z., Cheng, J., 2017. Influence of hydrolysis behaviour and microfluidisation on the functionality and structural properties of collagen hydrolysates. *Food Chem.* 227, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.049>
- Zhang, Z., Li, G., Shi, B., n.d. Properties of Collagen 6. Collagen, an essential protein for our health, mobility and appearance: <https://www.proteinsa.com/collagen-peptides/> (pristupljeno 20. kolovoza 2022.)
- Pariser Dermatology Specialists: <https://pariserderm.com/2021/03/11/do-collagen-supplements-work/collagen-diagram-3/> (pristupljeno 21. kolovoza 2022.)

Osman Gueltekin, ResearchGate, Computational Inelasticity of Fibrous Biological Tissues with a Focus on Viscoelasticity, Damage and Rupture [https://www.researchgate.net/figure/a-Atomic-force-microscopic-image-of-type-I-collagen-fibrils-in-the-connective-tissues\\_fig1\\_337923466](https://www.researchgate.net/figure/a-Atomic-force-microscopic-image-of-type-I-collagen-fibrils-in-the-connective-tissues_fig1_337923466)  
(pristupljeno 20. kolovoza 2022.)