

**Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**

**Wydział Medyczny
Katedra Biofizyki**

Krzysztof Kustra

**Dieta a wpływ suplementacji kolagenem na
zmiany stanu odżywienia, kondycji skóry u
zdrowych wolontariuszy**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

**Prof.zw.dr hab.n.med. Leszek Kubisz
Dr hab.n.med. Marta Stelmach-Mardas**

Poznań 2020

Panu Prof.zw.dr hab.n.med. Leszkowi Kubiszowi
za pomoc i życzliwość przy realizacji pracy
serdecznie dziękuję

Pani dr hab.n.med. Marcie Stelmach- Mardas
za okazaną pomoc, wyjątkową cierpliwość i cenne wskazówki
składam podziękowania

Pracę dedykuję moim Najbliższym,
którzy zawsze mnie wspierają

Spis treści

I. Wstęp.....	6
II. Część teoretyczna.....	9
1. Kolagen.....	9
1.1. Charakterystyka kolagenu.....	9
1.2. Typy kolagenu i jego źródła.....	11
1.3. Wchłanianie i metabolizm kolagenu w organizmie człowieka.....	16
2. Skóra a kolagen.....	18
2.1. Budowa skóry i zmiany zachodzące podczas procesu jej starzenia.....	18
2.2. Zmiany zachodzące w skórze w wyniku starzenia.....	20
2.3. Wpływ suplementacji kolagenem na zmiany parametrów fizyko-chemicznych skóry.....	24
2.4. Zastosowanie pomiarów impedancji elektrycznej tkanek w badaniach diagnostycznych – obiektywna ocena stanu skóry.....	26
III. Założenia badawcze i cel pracy.....	30
IV. Część doświadczalna.....	32
1.1. Metodyka badań i charakterystyka badanej grupy wolontariuszek.....	32
1.2. Ocena stanu skóry.....	35
1.2.1. Subiektywna ocena stanu skóry.....	35
1.2.2. Obiektywna ocena stanu skóry.....	35
1.3. Ocena stanu odżywienia.....	36
1.4. Ocena sposobu żywienia.....	37
1.5. Ocena sytuacji socjoekonomicznej.....	37
V. Analiza statystyczna.....	38
VI. Wyniki badań.....	39
1.1. Charakterystyka antropometryczna badanej grupie wolontariuszek.....	39
1.2. Charakterystyka parametrów fizyko-chemicznych skóry badanych wolontariuszek.....	40
1.3. Ocena sposobu żywienia badanych i ich aktywności fizycznej.....	46
1.4. Ocena częstości spożycia i preferencji pokarmowych badanych.....	49
VII. Dyskusja.....	53
VIII. Wnioski.....	60
IX. Streszczenie.....	61
X. Piśmiennictwo.....	65
XI. Spis Rycin.....	75
XII. Spis Tabel.....	76
XIII. Załączniki.....	77

Wykaz stosowanych skrótów:

bFGF - podstawowy czynnik wzrostu fibroblastów

BIA - analiza impedancji bioelektrycznej (ang. bioelectrical impedance analysis)

BMI – wskaźnik masy ciała (ang. Body Mass Index)

ER - wskaźnik rumienia (ang. erythema index)

FACIT - kolageny niefibrylarne (ang. Fibril-Associated Collagens with Interrupted Triple Helices)

HAS - syntazy hialuranianowe

HYAL, HYAL-1 i -2 – kwaso-aktywne enzymy w błonie komórkowej

KOLAGEN R – natywny, niezdenaturowany kolagen ze skór rybich

KOLAGEN W – hydrolizat kolagenu pochodzenia wieprzowego

MACIT - kolageny zawierające domeny transbłonowe (ang. Membrane-Associated Collagens with Interrupted Triple Helices)

MMP - metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej

MX - wskaźnik melaniny, pomiar pigmentacji (ang. melanin index)

NMF - naturalny czynnik nawilżający (ang. natural moisturizing factor)

PRO – prolina

PRO-HYP – prolina-hydroksyprolina

ROS - reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species)

SC - warstwa rogowa naskórka

TGF- β 1- transformujący czynnik wzrostu beta-1

TIMP - endogenne inhibitory tkankowe

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. World Health Organization)

WHR – iloraz obwodu tali do obwodu bioder (ang. waist to hip ratio)

I. Wstęp

Dobrze zachowana skóra, bez objawów zmęczenia i oznak starzenia się jest pożądana w społeczeństwie bez względu na przynależność społeczną, czy pochodzenie. Zachowanie jej odpowiednich parametrów fizyko-chemicznych ma kluczowe znaczenie dla zdrowia (1). Sucha skóra jest częstym problemem, którego występowanie nasila się wraz z wiekiem a pogorszenie się jej kondycji może wpływać również na jakość życia (2). W związku z tym znacząco rośnie zapotrzebowanie na zabiegi medycyny estetycznej poprawiające właściwości fizyko-chemiczne skóry i coraz częściej osoby dorosłe przyjmują suplementy diety takie jak: kolagen czy hydrolizaty kolagenu w celu poprawy kondycji skóry. W skórze właściwej występują dwa rodzaje włókien: kolagen (97,5%) i elastyna (2,5%) (3). Z upływem czasu młoda, jędrna, gładka i promienna skóra, na skutek zmian w strukturze skóry właściwej i naskórku, zmienia się w skórę mniej elastyczną i mniej jędrną, a gęstość kolagenu skóry właściwej maleje - co wiąże się również ze zmniejszeniem grubości skóry. Włókna kolagenowe, które odpowiedzialne są za utrzymanie trójwymiarowej struktury skóry ulegają uszkodzeniu, a ich liczba zmniejsza się wraz z procesem starzenia się (4).

Z punktu widzenia fizjologii żywienia, suplementacja produktami zawierającymi kolagen może potencjalnie stymulować anabolizm macierzy zewnątrzkomórkowej. Prowadzić to może do wzrostu biosyntezy kolagenu w skórze poprzez wykorzystanie wchłoniętych produktów degradacji jako substraty oraz do promowania procesów naprawczych (5,6). Te pozytywne efekty mogą wynikać z biochemicznych podobieństw egzogenego kolagenu, który zawiera unikalny aminokwas i zbliżony profil peptydowy do endogenego kolagenu w tkance łącznej, a w szczególności do głównego typu kolagenu (typu I) występującego w skórze. Biorąc pod uwagę, że poziom kolagenu typu I stopniowo maleje w ciągu całego życia przyczyniając się do starzenia skóry, zwiększenie syntezy kolagenu typu I po doustnym spożyciu kolagenu lub produktów zawierających kolagen jest pożądaną ze względu na jego właściwości zapobiegające starzeniu.

Wpływ korzystnego działania suplementacji kolagenem jest przedmiotem badań. Niestety w wielu przypadkach badania te mają charakter cząstkowy i dotyczą wąskich grup badawczych. Badania prowadzone na zdrowych wolontariuszach, którzy nie stosują zabiegów medycyny estetycznej są nowatorskie i pozwalają na prawidłową ocenę działania kolagenu. Dodatkowo, zaplanowane badanie jako krzyżowe daje możliwość idealnego dobrania grupy placebo, gdyż grupa badana jest dla siebie jednocześnie grupą kontrolną. Badanie interdyscyplinarne łączy elementy fizjologii żywienia i biofizyki dając pełny obraz

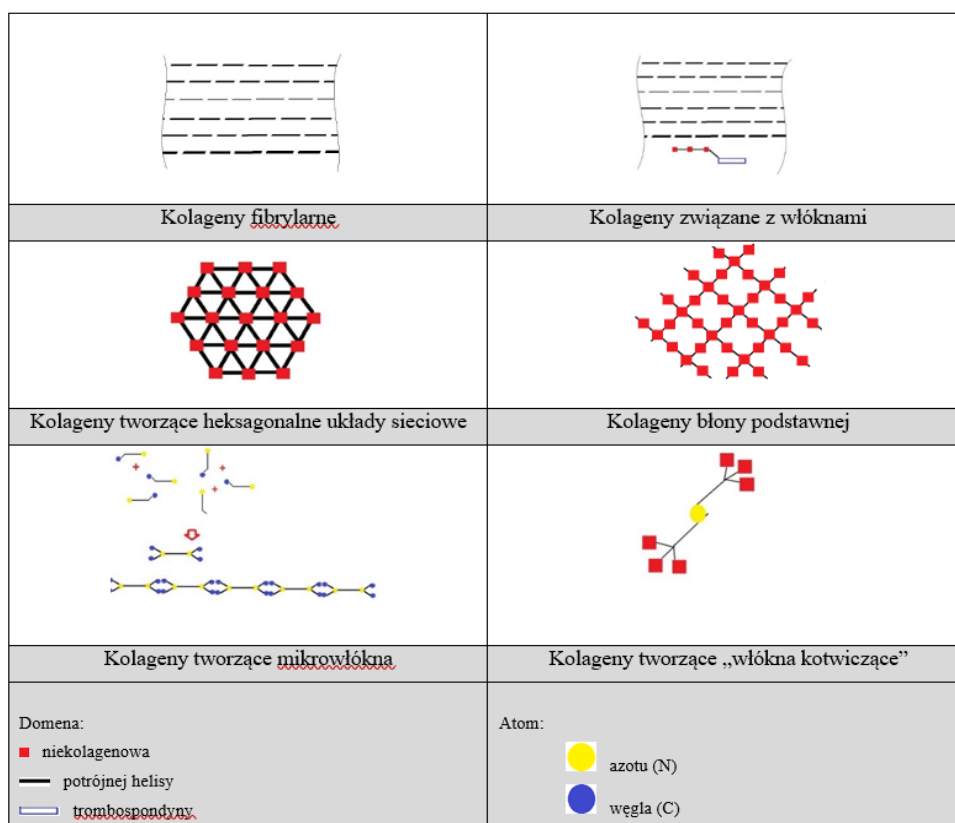
efektywności działania kolagenu rybiego oraz wieprzowego u osób zdrowych w krótko-terminowej suplementacji.

II. Część teoretyczna

1. Kolagen

1.1. Charakterystyka kolagenu

Nazwa „kolagen” jest używana jako ogólny termin dla określenia białek tworzących charakterystyczną potrójną spiralę trzech łańcuchów polipeptydowych (1). W oparciu o budowę białek i organizację można je podzielić na kolageny fibrylarne, kolageny błony podstawnej, kolageny tworzące mikrowłókna, kolageny tworzące włókna kotwiczące, kolageny tworzące heksagonalne układy sieciowe, kolageny związane z włóknami FACIT (*ang. Fibril-Associated Collagens with Interrupted Triple Helices*), kolageny zawierające domeny transbłonowe MACIT (*ang. Membrane-Associated Collagens with Interrupted Triple Helices*) czy inne multipleksy (Rycina 1.).



Rycina 1. Budowa i rodzaje poszczególnych grup kolagenów (7)

Pomimo dość dużego zróżnicowania strukturalnego różnych typów kolagenu, każdy z nich posiada jedną cechę wspólną – prawostronnie skręconą spiralę potrójną tzw. superhelisę,

złożoną z trzech pojedynczych, lewoskrętnych łańcuchów α (8). Superhelisa składać się może z trzech identycznych łańcuchów – wtedy taką strukturę nazywamy homotrimerem, jak w przypadku kolagenu typu II, III, VII, VIII, X i innych lub z dwóch lub więcej różnych łańcuchów – tworzących heterotrimer, jak w przypadku kolagenu typu I, IV, V, VI, IX i XI. Każdy z trzech łańcuchów α w obrębie cząsteczki tworzy wydłużoną spiralę lewoskrętną, która w odcinku odpowiadającym jednemu obrotowi zawiera 18 aminokwasów (3). Utworzenie tej unikalnej struktury przestrzennej związane jest ze specyficznym składem aminokwasowym łańcuchów polipeptydowych (9). Każdy z łańcuchów składa się z około 1000 aminokwasów o długości 300 nm i ma co najmniej jeden region zbudowany z powtarzającej się tripeptydowej sekwencji z najmniejszym aminokwasem - glicyną powtarzającym się n-razy (-Gly-X-Y-), gdzie w miejsce X i Y mogą być podstawiane dowolne aminokwasy (9–11) (Tabela 1.).

Tabela 1. Skład aminokwasowy dwóch łańcuchów polipeptydowych tworzących potrójną spiralę $\alpha 1(I)$ - $\alpha 1(I)$ - $\alpha 2(I)$ kolagenu typu ludzkiego (6)

Aminokwas	$\alpha 1(I)$ łańcuch	$\alpha 2(I)$ łańcuch
Alanina	124	111
Arginina	53	56
Asparagina	13	23
Kwas asparaginowy	33	24
Kwas glutaminowy	52	46
Glutamina	27	24
Glicyna	345	346
Histydyna	3	8
Hydroksylizyna	4	9
Hydroksypolina	114	99
Izoleucyna	9	18
Leucyna	22	33
Lizyna	34	21
Metionina	7	4
Fenylalanina	13	15
Prolina	127	108
Seryna	37	35

Najczęściej występującymi typami kolagenów są kolageny mające podstawione aminokwasy proliny – ok. 28% czy hydroksyproliny – ok. 38% (9). Istotnym faktem jest to, że łańcuchy α łączą się wokół osi centralnej w taki sposób, że wszystkie pozostałości glicyny znajdują się w centrum spirali potrójnej, tym samym większe łańcuchy boczne innych aminokwasów zajmują pozycje zewnętrzne.

Pod mikroskopem włókna kolagenowe są zwykle białe, nieprzeźroczyste i wyraźnie widoczne w tkankach. Kolagen jest uważany za materiał sprężysty, który ma wysoką wytrzymałość na rozciąganie i niską rozciągliwość. Posiada punkt izoelektryczny o pH 5,8 natomiast temperatura skurczu (T_s) większości włókienek kolagenowych ssaków wynosi od 62°C do 65°C, rybich jest niższa i waha się od 38°C do 54°C. Temperatura denaturacji (T_m) jest niższa: dla ssaków wynosi około 40°C (w tym wieprzowego 39°C (12) a dla ryb mieści się w przedziale między 30°C a 40°C (13,14) i jest zależna jest ona od temperatury żerowiska ryb.

1.2. Typy kolagenu i jego źródła

Jak dotąd w organizmie ludzkim opisano 29 różnych typów kolagenu pełniących różne funkcje, mających odrębną strukturę, różniących się lokalizacją i zawartością w tkankach (13). Zróżnicowanie to można wyjaśnić obecnością wielu genów kodujących poszczególne typy kolagenów. Z pewnością jest to rodzaj zabezpieczenia przed utratą przez organizmy tych istotnych makrocząstek (10). Nazewnictwo poszczególnych typów białek kolagenowych oparte jest na numeracji cyframi rzymskimi (I-XXIX), natomiast cyframi arabskimi oznacza się łańcuchy polipeptydowe ($\alpha 1$ - $\alpha 6$), z których są zbudowane (13). Przynależność białka kolagenowego do konkretnej grupy stanowi najważniejszy sposób jego charakterystyki, który

Tabela 2. Źródła występowania kolagenów fibrylarnych w organizmie ludzkim (8)

Typ	Skład podjednostkowy	Lokalizacja w genomie	Źródło występowania w organizmie ludzkim
I	$[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$	COL1A1 (17q21.31-q22) COL1A2 (7q22.1)	kości, skóra właściwa, rogówka, ścięgna, więzadła
II	$[\alpha 1(II)]_3$	COL2A1 (12q13.11-q13.2)	ciało szkliste, chrząstka hialinowa, jądro miażdżyste
III	$[\alpha 1(III)]_3$	COL3A1 (2q31)	ściany naczyń krwionośnych, skóra, włókna siateczkowe płuc, wątroby, śledziony itp.
V	$\alpha 1(V),\alpha 2(V),\alpha 3(V)$	COL5A1 (9q34.2-q34.3) COL5A2 (2q31) COL5A3 (19p13.2)	błony płodowe, kości, płuca, rogówka, łożysko
XI	$\alpha 1(XI)\alpha 2(XI)\alpha 3(XI)$	COL11A1 (1p21) COL11A2 (6p21.3) COL11A3=COL2A1	chrząstka, ciało szkliste

dostarcza informacji o jego złożoności strukturalnej, obecności niehelikalnych fragmentów czy zdolności budowania struktur nadcząsteczkowych (15). Dodatkowo poszczególne typy

kolagenów należą do jednej z dwóch głównych grup: kolageny fibrylarne lub kolageny niefibrylarne.

Poszczególne typy kolagenów należące do grupy kolagenów fibrylarnych zestawiono w Tabeli 2. Kolagen typu I jest typem kolagenu, który występuje w największej ilości w organizmie człowieka i tym samym jest najlepiej poznanym kolagenem. Tworzy ponad 90% masy organicznej kości i jest głównym kolagenem ścięgien, skóry, więzadeł, rogówki i wielu śródmiąższowych tkanek łącznych z wyjątkiem bardzo niewielu tkanek, takich jak chrząstka hialinowa, mózg i ciało szkliste. Kolagen typu I o potrójnej spirali jest zazwyczaj tworzony jako heterotrimer przez dwa identyczne łańcuchy $\alpha 1(I)$ - łańcuchowe i jeden łańcuch $\alpha 2(I)$ - łańcuchowy (16). Ten typ kolagenu odpowiedzialny jest za wytrzymałość tkanek na rozciąganie w których występuje, warunkuje również sztywność kości oraz poprawia biomechaniczne właściwości kości (15). Kolagen typu I występuje często w połączeniu z innymi typami kolagenów: w strukturach skóry i siatkówki z kolagenem typu III (15) lub w kościach, ścięgnach czy rogówce z kolagenem typu V (17).

Kolagen tworzący włókna typu II jest charakterystycznym i głównym składnikiem chrząstki hialinowej. Jednocześnie jego występowanie nie ogranicza się tylko do chrząstki, w której stanowi około 80% całkowitej zawartości kolagenu, ponieważ znajduje się on również w ciele szklistym, nabłonku rogówki, jądrze miażdżycowym dysków międzykręgowych i zarodkowych przejściach nabłonkowo-mesenchymalnych (18). W chrząstce kolagen tego typu występuje dodatkowo w towarzystwie typów kolagenu IX i XI, które to ograniczają średnicę włókna do około 14-50 nm (19) oraz innych białek niekolagenowych. Potrójna spirala kolagenu typu II jest homotrimerem, który składa się z trzech identycznych łańcuchów $\alpha 1(II)$ - tworzących cząsteczkę o wielkości i właściwościach biomechanicznych zbliżonych do kolagenu typu I (20). Ten typ kolagenu ma podobne właściwości i rozmiar jak kolagen typu I, ale charakteryzuje się dodatkowo wyższą zawartością hydroksylizyny oraz reszt glukozy i galaktozy (15).

Kolagen typu III jest również homotrimerem zbudowanym z trzech łańcuchów $\alpha 1(III)$ i jest głównym typem kolagenu, który występuje razem z kolagenem typu I tworząc włókna mieszane. Jego występowanie jest bardzo różnorodne we wszystkich tkankach z wyjątkiem kości (21). Jest to ważny składnik włókien siatkowych w tkance śródmiąższowej płuc, wątroby, skóry właściwej, śledziony i naczyń (22), który jest odpowiedzialny za właściwości elastyczne tych tkanek.

Kolageny typu V i XI tworzą się jako heterotrimery trzech różnych łańcuchów α ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$). Na uwagę zasługuje fakt, że łańcuch $\alpha 3$ kolagenu typu XI jest kodowany przez ten sam gen co łańcuch $\alpha 1$ kolagenu typu II i jedynie zakres glikozylacji i hydroksylacji różni się od

zakresu $\alpha 1(\text{II})$ (18). Kolageny typu V i XI tworzą podrodzinę należącą do kolagenów fibrylotwórczych, które to są odpowiedzialne za fibrylogenezę kolagenu (11). Jak wspomniano wcześniej, kolagen typu V tworzy zazwyczaj heterofibryle z kolagenami typu I i III i przyczynia się do powstania organicznego szkieletu kostnego, struktur rogówki oraz szkieletu dla struktur mięśni, wątroby, płuc i łożyska (23).

Jedynym przedstawicielem grupy kolagenów tworzących mikrowłókna jest kolagen typu VI (Tabela 3). Każda jego makrocząsteczka jest heterotrimerem posiadającym długość 100 nm i składa się z 3 domen: jednej superhelisy i dwóch rozbudowanych globularnych zakończeń (24). Wyróżnikiem tego typu kolagenu jest występowanie struktur wyższego rzędu poprzez wydzielanie tetramerów, które wcześniej uległy agregacji wewnątrzkomórkowej (24). W przeciwieństwie do kolagenów fibrylarnych w grupie tej nie zachodzi enzymatyczna obróbka N- i C-końcowych odcinków niekolagenowych, dlatego podczas budowy powstają włókna koralikowe (25), a mikrowłókna tworzone przez te białka są dodatkowo połączone dzięki występowaniu mostków disiarczkowych (15). Sieć mikrowłókien tworzona przez ten typ kolagenu występuje praktycznie we wszystkich tkankach łącznych, z wyjątkiem kości (26).

Tabela 3. Źródła występowania kolagenów błony podstawnej tworzących mikrowłókna, włókna kotwiczące lub układy sieciowe w organizmie ludzkim (8)

Typ	Skład podjednostkowy	Lokalizacja w genomie	Źródło występowania w organizmie ludzkim
Kolageny błony podstawnej			
IV	$[\alpha 1(\text{IV})]_2\alpha 2(\text{IV}); \alpha 1-\alpha 6$	COL4A1 (13q34)	błony podstawne, naczynia włosowate
		COL4A2 (13q34)	
		COL4A3 (2q36-q37)	
		COL4A4 (2q36-q37)	
		COL4A5 (Xq22.3)	
		COL4A6 (Xp22.3)	
Kolageny tworzące mikrowłókna			
VI	$\alpha 1(\text{VI}), \alpha 2(\text{VI}), \alpha 3(\text{VI})$	COL6A1 (21q22.3)	skóra właściwa, chrząstka, płuca, łożysko, dysk międzykręgowy
		COL6A2 (21q22.3)	
		COL6A3 (2q37)	
Kolageny tworzące włókna kotwiczące			
VII	$[\alpha 1(\text{VII})]_3$	COL7A1 (3p21.3)	skóra, szyjka macicy, błona śluzowa jamy ustnej, pępowina, owodnia
Kolageny tworzące heksagonalne układy sieciowe			
VIII	$[\alpha 1(\text{VIII})]_2\alpha 2(\text{VIII})$	COL8A1 (3q12-q13.1)	komórki śródbłonka, membrany, mózg, serce, nerki
		COL8A2 (1p34.3-p32.3)	
X	$[\alpha 3(\text{X})]_3$	COL10A1 (6q21-q22.3)	Chrząstka

Głównym składnikiem budującym błonę podstawną jest typ kolagenu IV, który pełni rolę rusztowania dla innych elementów występujących w tej strukturze (Tabela 3.) (5). Typ ten jest heterotrimerem, który tworzy unikalną strukturę powstającą z połączenia sześciu

łańcuchów $\alpha 1-6$ w różnorodnych konfiguracjach. Dominującą formę reprezentują heterotrimery $\alpha 1(\text{IV})2\alpha 2(\text{IV})$ tworzące podstawową sieć w większości błon podstawnych w okresie embrionalnym i u dorosłych (9). Za stabilną strukturę sieciową kolagenu typu IV odpowiedzialne są specyficzne oddziaływania 4 domen: helikalnej nazywanej kolagenem 7-S w N-końcu, globularnej NC2 w N-końcu, NC w C-końcu i segmentu centralnego zawierającego krótkie przerwy występującego w postaci superhelisy (24).

Nieco innym typem kolagenu jest typ VII, który jest typem reprezentującym kolagenu tworzące włókna kotwiczące (10). Jest to białko posiadające najdłuższą domenę trójhelikalną ze wszystkich typów kolagenu, osiągającą długość 420 nm (25). Częsteczka ta zbudowana jest z dwóch łańcuchów $\alpha 1$ i jednego łańcucha $\alpha 2$ (9). Każdy z łańcuchów składa się z 2 domen globularnych i odcinka trójhelikalnego. Domena karboksyloterminalna jest znacząco większa niż występująca w odcinku aminoterminalnym a region występujący w C-końcu tworzy skomplikowaną trójramienną strukturę zawierającą domeny globularne i 3 pałeczkowate. Ten typ kolagenu jest głównym elementem hemidesmosomów, czyli łączników błony podstawnej z blaszką podstawną (10). Występuje on w organizmie ludzkim głównie w skórze, błonie śluzowej jamy ustnej, pępowinie i owodni (Tabela 3.).

Kolagenu o krótkich łańcuchach są reprezentowane przez kolagen typu VIII i X, który tworzy charakterystyczne heksagonalne układy sieciowe, a długość ich łańcuchów stanowi połowę łańcuchów kolagenów fibrylarnych. Białka te występują w tkankach w specyficznym i charakterystycznym dla tej grupy kolagenów miejscu – u podstawy komórek śródbłonna (25). Ponadto, kolagen typu X jest składnikiem przerostowej chrząstki występującej w okresie płodowym i młodocianym w żebrach i kręgach. Jest to kolagen homotrimeryczny z długą domeną C-końcową i krótką N-końcową, a eksperymenty przeprowadzone *in vitro* wskazują na jego połączenie w sieci heksagonalne (27). Funkcja kolagenu typu X nie jest całkowicie znana, pełni on istotną rolę w mineralizacji endochondrycznym i zwapnieniu matrycy. W chrząstce płodowej kolagen typu X został zlokalizowany w drobnych włóknach, jak również obserwuje się częste występowanie tego kolagenu z włóknami typu II (28). Kolagen typu VIII jest bardzo podobny do kolagenu typu X w budowie, ale wykazuje wyraźny rozkład i dlatego może pełnić dodatkowe zróżnicowane funkcje (29). Jest on obecny w skórze, mózgu, sercu czy nerkach w postaci homo- i heterotrimerów (9). Zdolność to tworzenia sieci heksagonalnych w tego typach kolagenów jest skutkiem występowania w ich strukturach fragmentów amino- i karboksyloterminalnych, które to jako obszary niekolagenowe nie ulegają modyfikacjom proteolitycznym (25).

Tabela 4. Źródła występowania kolagenów FACITs, MACITs i multipleksów w organizmie ludzkim (8)

Typ	Skład podjednostkowy	Lokalizacja w genomie	Źródło występowania w organizmie ludzkim
Kolageny FACITs			
IX	$\alpha 1(\text{IX})\alpha 2(\text{IX})\alpha 3(\text{IX})$	COL9A1 (6q13) COL9A2 (1p33–p32.2)	chrząstka, rogówka, ciało szkliste
XII	$[\alpha 1(\text{XII})]_3$	COL12A1 (6q12–q13)	ochrzęstna, ścięgna, więzadła
XIV	$[\alpha 1(\text{XIV})]_3$	COL9A1 (8q23)	łożysko, płuca, wątroba, ścięgna, ściany naczyń krwionośnych
XIX	$[\alpha 1(\text{XIX})]_3$	COL19A1 (6q12–q14)	pas błon podstawowych w mięśniach szkieletowych, śledziona, gruczoł krokowy, łożysko,
XX	$[\alpha 1(\text{XX})]_3$		ścięgna, rogówka, chrząstka mostkowa
XXI	$[\alpha 1(\text{XXI})]_3$	COL21A1 (6p12.3–11.2)	ściany naczyń krwionośnych, żołądek, nerki, łożysko
Kolageny MACITs – kolageny zawierające domeny transbłonowe			
XIII	$[\alpha 1(\text{XIII})]_3$	COL13A1 (10q22)	płuca, wątroba, jelita, chondrocyty, komórki śródbłonna, mięśnie szkieletowe
XVII	$[\alpha 1(\text{XVII})]_3$	COL17A1 (10q24.3)	węzły chłonne, skóra
Multipleksy			
XV	$[\alpha 1(\text{XV})]_3$	COL15A1 (9q21–q22)	naczynia kapilarne, komórki mięśni gładkich, nerki, trzustka
XVI	$[\alpha 1(\text{XVI})]_3$	COL16A1 (1p34)	fibroblasty, keranytocyty
XVIII	$[\alpha 1(\text{XVIII})]_3$	COL18A1 (21q22.3)	płuca, wątroba, nerki

Kolageny typu FACIT czyli kolageny niefibrylarne, zdolne do wiązania na powierzchni włókien kolagenowych stanowią dużą grupę kolagenów, do której zaliczamy kolageny typu: IX, XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII i XXVI (Tabela 4.) (1). Struktura potrójnej helisy tych kolagenów nie jest ciągła i jednorodna, gdyż składają się na nią zarówno krótkie i długie odcinki potrójnej superhelisy połączone odcinkami niehelikalnymi (10). Podkreślenia wymaga fakt, że ta grupa kolagenów nie ma zdolności samodzielnego budowania włókien (25). Nadal nie wiele wiadomo na temat funkcji tej grupy kolagenu, aczkolwiek współwystępowanie kolagenów FACITs w kolagenami fibrylarnymi przekłada się na interakcje z różnymi białkami macierzy oraz błonowymi komórek, co przyczynia się do stabilizacji i integracji macierzy zewnątrzkomórkowej (5,7, 23).

Najlepiej poznanym i opisanym kolagenem w tej grupie jest kolagen typu IX, który jest heterotrimerem o składzie podjednostkowym $\alpha 1(\text{IX})$, $\alpha 2(\text{IX})$ i $\alpha 3(\text{IX})$. Jego strukturę tworzą trzy potrójne krótkie segmenty spiralne otoczone czterema domenami globularnymi (NC1-NC4): 2 występujące wewnątrz struktury i po jednym na każdym z końców terminalnych (25). Kolageny typu XII i XIV są podobne pod względem struktury do kolagenu typu IX. Oba typy wiążą się z kolagenem typu I i współwystępują w skórze, okostnej, ścięgnach, płucach, wątrobie, łożysku i ścianach naczyń (22).

Tabela 5. Źródła występowania kolagenu z uwzględnieniem jego typów (31)

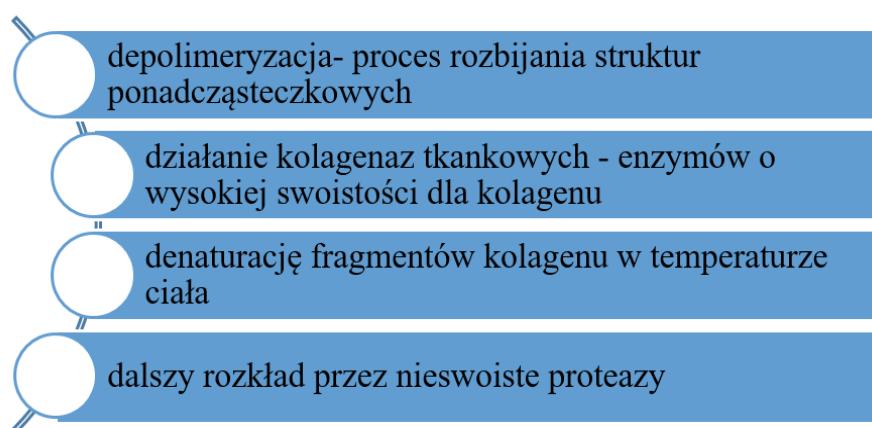
Typ kolagenu	Źródła jego występowania
I i II	Skóra końska, chrząstka zginacza
I, II, III i V	Szyja kurczaka
IX	Chrząstka mostkowa zarodka kurczaka
I i III	Skóra kurczaków
IV	Tkanka mięśniowa kurczaków
I	Rybie skóry, płetwy, łuski i kości
I i IV	Morskie gąbki (głównie <i>Geodia cydonium</i> , <i>Speriditae</i> i <i>Icinia fusca</i>)
IV, V i II	Medyzy (głównie <i>Rhopilema Asamushi</i> , <i>meleagris StomolopHus</i> , <i>Catostylus tagi</i> , a <i>Rhizostoma Pulmo</i>)

Kolageny typu MACIT stanowią grupę kolagenów zawierających domeny transbłonowe, do której należą homotrimery: XIII, XVII, XXIII i XXV. Białka wchodzące w skład tej grupy charakteryzują się N-końcem zakotwiczonym wewnątrz komórki, który przechodzi przez warstwę lipidową błony pojedynczą domeną hydrofobową oraz obecnością kilku zewnątrzkomórkowych domen, których liczba zależy od rodzaju kolagenu (10,30). Kolagenowe białka błonowe występujące na powierzchni komórki mogą pełnić funkcję jako receptory lub po prostu występować wewnątrz komórek (30). Kolageny XIII, XXIII i XXV wykazują duże podobieństwo strukturalne (15), natomiast w przeciwieństwie do nich kolagen typu XVII jest znacznie większy (7). Z kolei kolageny XV i XVIII należą do grupy multipleksów i są homotrimerami charakteryzującymi się wysoką homologią strukturalną w obrębie odcinka C-terminalnego, któremu to przypisuje się właściwości antygenowe (30). Grupa ta składa się z kilku domen kolagenowych. Kolagen typu XV zawiera w swojej cząsteczce 9 domen trójhelikalnych, a kolagen typu XVIII – 10 domen. Makrocząsteczki te zaliczane są do grupy proteoglikanów z powodu ich zdolności do wiązania m.in. glikozaminoglikanów (30). Nadrzędną funkcją kolagenu XV jest stabilizacja mięśni szkieletowych i mikronaczyń, natomiast kolagenu typu XVIII – utrzymanie strukturalnej integralności błony podstawnej, rozwój i prawidłowe funkcjonowanie oczu oraz udział w procesie organogenezy (30). Jest kilka możliwych źródeł pozyskiwania kolagenu do celów przemysłowych zarówno ze źródeł zwierzęcych jak i roślinnych. Dobre źródła kolagenu przedstawiono w Tabeli 5.

1.3. Wchłanianie i metabolizm kolagenu w organizmie człowieka

Glicyna, prolina czy hydroksyprolina należą do łatwo przyswajalnych aminokwasów – niemniej jednak skomplikowana struktura kolagenu, którego są istotną częścią sprawia, że

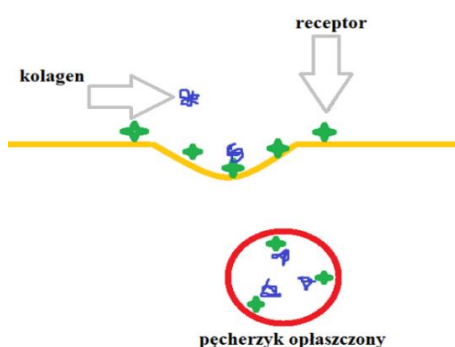
kolagen jest odporny na działanie typowych proteaz, które odpowiedzialne są za rozkład białek. Jedynie fibroblasty wytwarzają specjalne enzymy, które mają zdolność degradacji wysoko zorganizowanych struktur kolagenu. W organizmie ludzkim wyróżnia się dwie drogi biodegradacji białek kolagenowych: drogę zewnątrz- i wewnątrzkomórkową (32). Zewnątrzkomórkowy szlak degradacji kolagenu opiera się na działaniu enzymów zwanych metaloproteinazami macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP). Enzymy te są endopeptydazami, zawierającymi w swojej budowie atom cynku, który to pełni dodatkowo rolę katalityczną. W obrębie tej grupy wyróżnia się: koleganazy, żelatynazy, stromelizyny, matrylizyny, metaloproteinazy błonowe oraz inne metaloproteinazy. Aktywność każdej metaloproteinazy jest hamowana przez endogenne inhibitory tkankowe (TIMP). Ponadto enzymy te wydzielane są jako wrażliwe na pH proenzymy, które ulegają aktywacji w określonym środowisku (33). W strukturach proenzymów charakterystyczne jest związanie z atomem cynku cysteiny N-końcowego fragmentu łańcucha polipeptydowego. Aktywacja enzymu polega na rozerwaniu tego wiązania, następnie w kaskadowej reakcji polegającej na zmianach przestrzennych w budowie enzymu następuje odsłonięcie miejsca aktywnego metaloproteinazy i obniżenie jej masy cząsteczkowej. Każda metaloproteinaza ma zdolność trawienia tylko określonych białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Proces degradacji cząsteczek kolagenu zapoczątkowują metaloproteinazy, które należą do kolagenaz (MMP-1, MMP-8, oraz MMP-13), żelatyna z (MMP-2 i MMP-9), stromelizyn (MMP-10), matrylizyn (MMP-7) oraz innych metaloproteinaz (MMP14, MMP-15 i MMP-16), a każdy z tych enzymów trawi tylko określone typy białka. Zdolności enzymatyczne metaloproteinaz zależą od: pH środowiska, innych enzymów proteolitycznych, oksydantów, jonów metali, a także detergentów, ilości danego substratu oraz tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (33).



Rycina 2. Etapy degradacji kolagenu w drodze zewnątrzkomórkowej (33)

Z kolei aktywna kolagenaza poprzez rozrywanie wiązania pomiędzy glicyną a izoleucyną (lub leucyną) ma zdolność degradowania potrójnej helisy kolagenu. Tak powstają dwie duże molekuly, z których pierwsza stanowi około 75%, druga natomiast 25% pierwotnego związku. Ze względu na to, że produkty tego rozpadu nie mają już właściwości złożonej struktury, stają się mniej odporne na działanie temperatury. Temperatura ciała nasila proces denaturacji, co prowadzi do zaburzenia struktur superheliksy i poprawia zdolności rozpuszczania w wodzie. Dalsze trawienie łańcucha białkowego zachodzi już pod wpływem działania nieswoistych proteaz i prowadzi do powstania krótkich peptydów lub nawet pojedynczych aminokwasów (Rycina 2)(34).

Szlak wewnątrzkomórkowy ma zdecydowanie mniejszy udział w biodegradacji kolagenu. Główną rolę w tym szlaku pełnią receptory na powierzchni komórek, które wiążą się z cząsteczką kolagenu. Tak zapoczątkowany proces degradacji prowadzi poprzez endocytozę do wchłonięcia cząsteczki kolagenu i jej transportu do lizosomów (Rycina 3.). W lizosomach kwaśne pH denaturuje superhelisę, dzięki czemu staje się ona łatwa do strawienia przez obecne w nich enzymy proteolityczne (32).

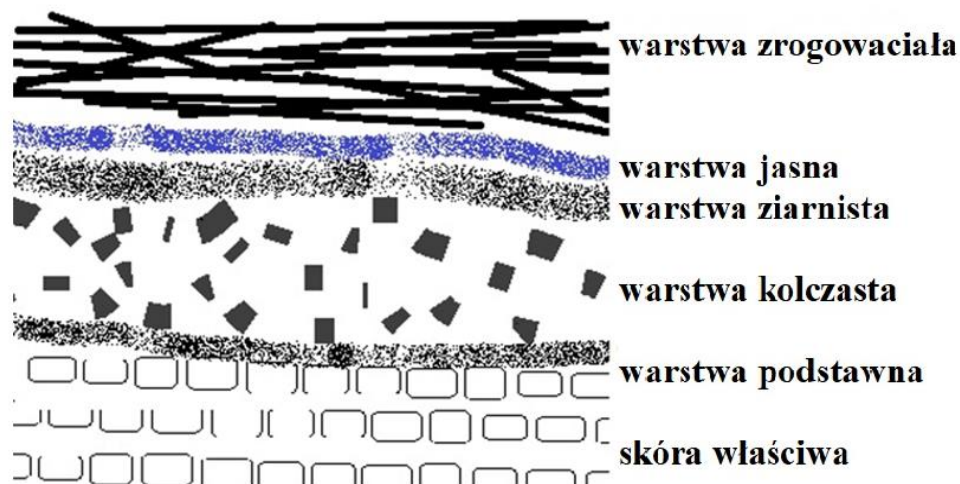


Rycina 3. Endocytoza receptorowa w komórce (35)

2. Skóra a kolagen

2.1. Budowa skóry i zmiany zachodzące podczas procesu jej starzenia

Skóra jest największym organem w organizmie ludzkim, którego ogólna powierzchnia wynosi około 1,5–2 m². Grubość skóry waha się od 0,3 do 2,4 mm i jest zależna od miejsca ciała na jakim występuje. Jej głównym celem jest ochrona organizmu i jego wnętrza przed urazami zewnętrznymi i zakażeniami spowodowanymi mikroorganizmami (36). Składa się ona



Rycina 4. Warstwy naskórka (31)

z trzech warstw: warstwy zewnętrznej zwanej naskórką, grubszej i elastycznej warstwy środkowej zwanej skórą właściwą oraz warstwy wewnętrznej zwanej podskórą (32). Naskórek pomimo niewielkiej grubości (0,4-1,5mm) stanowi bezpośrednią barierę między środowiskiem zewnętrznym a organizmem i jest on najbardziej zewnętrzną warstwą skóry. Wielowarstwowy nabłonek płaski, który tworzy tę warstwę skóry ulega nieustannym procesom rogowacenia, keratynizacji oraz bierze udział w rozwoju przydatków skóry, takich jak: włosy, paznokcie oraz gruczoły. Ponadto, w jego obrębie występują komórki Langerhansa i komórki Merkla – receptory dotyku, melanocyty – komórki barwnikowe oraz komórki dendrytyczne.

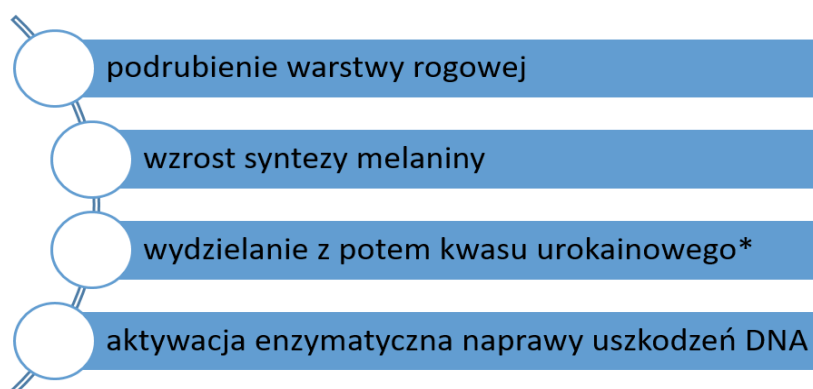
Naskórek zbudowany jest z 5 pięciu warstw (Rycina 4). Warstwa rogowa jest najbardziej zewnętrzną warstwą i zbudowana jest z martwych i zrogowaciałych komórek zawierających substancję rogową – keratynę. Warstwa ta ulega ciągłemu złuszczeniu a jej głównym celem jest funkcja ochronna przed urazami mechanicznymi i chemicznymi. Najsilniej rozwinięta jest ta warstwa w miejscach narażonych na częsty kontakt z ciałami obcymi jak dłonie czy stopy (37,38). Kolejna warstwa tzw. jasna stanowi wąską, bezjądrzastą i silnie spłaszczoną warstwę komórek, która jest warstwą pośrednią między warstwą rogową a warstwą ziarnistą. Warstwę ziarnistą tworzy kilka szeregów wrzecionowatych komórek, które to w cytoplazmie zawierają ziarna keratohialiny, biorące udział w powstawaniu keratyny. Kolejne 2 warstwy stanowią tzw. „żywy naskórek” i są aktywne metabolicznie. Warstwa podstawna jest najgłębszą warstwą naskórka (9,32). Na warstwę tę składa się pojedyncza warstwa komórek cylindrycznych, które biorą udział w codziennym procesie odnowy naskórka i w końcowym etapie przechodzą na powierzchnię naskórka. W tej warstwie położone są również melanocyty odpowiedzialne za syntezę melaniny. Z kolei komórki warstwy kolczastej zbudowane są z kilku rzędów komórek wielobocznych, które ulegają spłaszczeniu w momencie przechodzenia w

kierunku powierzchni naskórka (38,39). Skóra właściwa składa się z tkanki łącznej zwartej i to właśnie ta warstwa skóry nadaje skórze siłę i elastyczność, dzięki wysokiej zawartości włókien kolagenowych i elastynowych (3). Naskórek ze skórą właściwą łączy się poprzez błonę podstawną. Tuż pod błoną podstawną znajdują się naczynia włosowate, limfatyczne i zakończenia nerwowe, które odpowiedzialne są za odbiór wrażeń takich jak: ciepło, zimno, dotyk czy ból. Skóra właściwa składa się zasadniczo z 2 warstw: brodawkowatej i siateczkowatej, które są ze sobą połączone (39). Warstwa brodawkowata jest silnie pofałdowana, graniczy z naskórkiem, z którym jest ściśle związana. Zbudowana jest z elastycznych włókien kolagenowych, sprężystych, pętli naczyniowych i ciałek dotykowych. Druga z kolei warstwa siateczkowata składa się grubych włókien kolagenowych, włókien nerwowych i naczyń włosowatych ułożonych równoległe. Zawiera również gruczoły potowe i mieszki włosowe. Główne składniki skóry właściwej: kolagen i elastyna, związane ze sobą tworzą skuteczną ochronę skóry przed nadmiernym rozciąganiem i nadają skórze elastyczność. Włókna tkanki łącznej tworzone są przez fibroblasty zawierające włóknisty kolagen - główne białko budulcowe skóry właściwej, z kolei elastyna wchodzi w skład włókien sprężystych. W warstwie skóry właściwej występują również mięśnie poprzecznie prążkowane i mięśnie gładkie (37). Ostatnią, najgłębiej położoną warstwą skóry jest tkanka podskórna. Zbudowana ona jest z tkanki łącznej, w której znajdują się włókna kolagenowe oraz ze zrazików tłuszczowych, które pełnią funkcję ochronną. Tkanka podskórna chroni przed utratą wody, magazynuje składniki odżywcze i pełni rolę izolatora. Znajduje się w niej także płyn tkankowy, którego ilość wraz z wiekiem się zmniejsza - co powoduje pojawianie się zmarszczek (40).

2.2. Zmiany zachodzące w skórze w wyniku starzenia

Starzenie się skóry jest złożonym procesem biologicznym wpływającym na różne warstwy skóry, ale główne procesy związane z starzeniem się skóry mają miejsce w skórze właściwej (41). Istnieją dwa rodzaje procesów starzenia się skóry, które zachodzą jednocześnie i niezależnie od siebie: kliniczne i biologiczne. Pierwszy z nich dotyczy starzenia wewnętrznego związanego z powolnym lecz nieodwracalnym zwyrodnieniem tkanek. Drugi proces to starzenie zewnętrzne zwane fotostarzeniem, które jest wynikiem oddziaływania czynników zewnętrznych takich jak promieniowanie ultrafioletowe. Skutki wewnętrznego starzenia się mogą być obserwowane na całej skórze, w tym również w miejscach nienarażonych na oddziaływanie słoneczne. W miejscach wystawionych na działanie słońca uszkodzenia spowodowane fotostarzeniem współistnieją z uszkodzeniami związanymi z degeneracją tkanek. Tym samym najbardziej zauważalne zmiany występują na skórze twarzy i

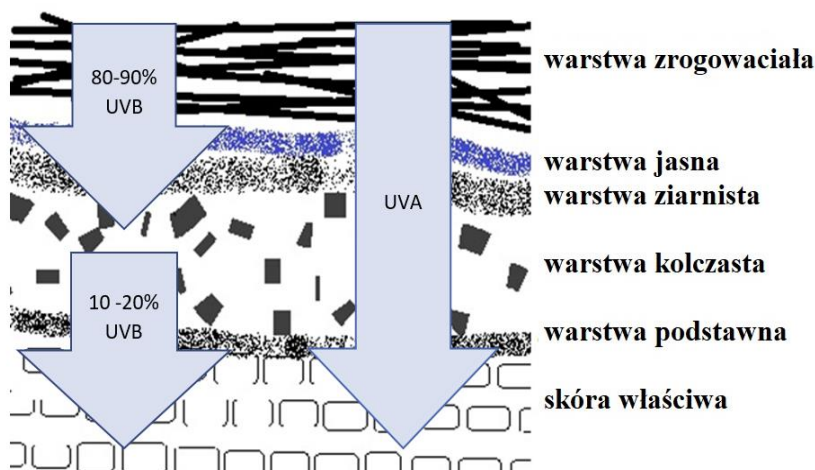
szy, czyli w miejscach najbardziej widocznych. Niektóre badania sugerują, że aż 80% starzenia się twarzy wynika z ekspozycji na słońce, chociaż nie bez znaczenia pozostają inne czynniki, takie jak choćby palenie papierosów (42). Wrażliwość na promieniowanie UV jest uwarunkowana ilością melaniny w skórze – fotoprotektora, który absorbuje promieniowanie UV w zakresie UVA i UVB i przekształca je w mniej destrukcyjną dla organizmu energię cieplną. Tym samym podwyższona synteza melaniny stanowi dodatkowy filtr ochronny osłabiający penetrację UV przez naskórek oraz tworzy granicę fizyczną przed przenikaniem UV w głąb skóry (43,44).



*endogenny związek wytwarzany w rogowej warstwie naskórka, jest czynnikiem o działaniu supresorowym.

Rycina 5. Mechanizmy obronne skóry na działanie promieni słonecznych (45)

Organizm ludzki wykształcił szereg strategii obronnych zapobiegających przed nadmiernym promieniowaniem UV (Rycina 5). Proces oksydacji istniejącej w skórze melaniny ma miejsce kilka minut po opalaniu i zwykle ustępuje po 1-2 godzinach. Natomiast biosynteza nowej melaniny staje się widoczna po 2-3 dniach i skutkuje powstaniem tzw. opalenizny.



Rycina 6. Przenikanie poszczególnych pasm promieniowania przez kolejne warstwy skóry (44)

Najsilniejsza pigmentacja skóry występuje 7-10 dni po opalaniu i obecna jest przez kilka tygodni (44). Część promieniowania UV docierającego do skóry ulega odbiciu lub rozproszeniu, natomiast skóra całkowicie absorbuje pozostałą część powodując skuteczną ochronę przed wnikaniem promieniowania do wewnątrz organizmu. Poszczególne warstwy skóry odpowiedzialne są za absorpcję różnych długości fal (Rycina 6).

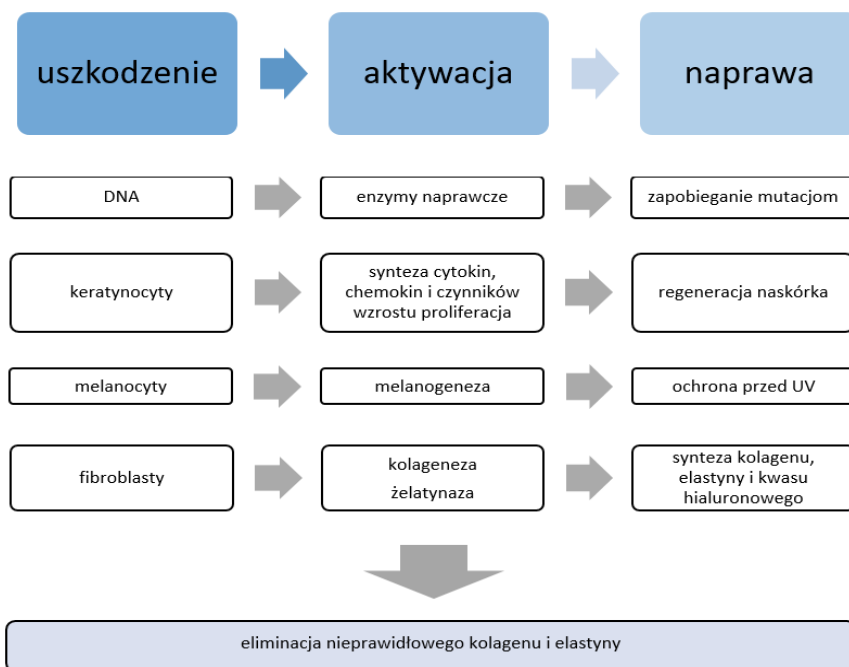
Tabela 6. Zmiany wczesne i późne zachodzące w skórze pod wpływem promieniowania słonecznego (43)

Objawy starzenia się skóry	
Wczesne	Późne
Fotouszkodzenie rumień oparzenia słoneczne pogrubienie naskórka występowanie mutacji DNA biosynteza witaminy D zmniejszenie aktywności układu immunologicznego	powstanie opalenizny powstanie piegów fotostarzenie się rozwój nowotworów skóry, zmiany przednowotworowych w tym niebarwnikowych raków skóry (non-melanoma skin cancers – NMSC) i czerniaka złośliwego skóry (cutaneous malignant melanoma – CMM)

Naskórek pochłania 80-90% promieniowania UVB przepuszczając pozostałe 10-20% do warstwy podstawnej i warstwy brodawkowej skóry właściwej. Przeciwnie promieniowanie UVA penetruje głębsze warstwy skóry właściwej, z tym, że 30-50% energii tego promieniowania pochłaniane jest przez warstwę brodawkowatą skóry właściwej (46). Skutki wpływu promieniowania na skórę można podzielić na wczesne i późne (Tabela 6). Fotostarzenie się zależne jest również od zmniejszenia się wraz z wiekiem wydajności naprawy uszkodzeń DNA, a tym samym zmniejszeniem aktywności komórek skóry takich jak keratynocyty, melanocyty, fibroblasty (Rycina 7).

Z kolej zmniejszona aktywność tych komórek skutkuje zmniejszoną syntezą cytokin, chemokin oraz enzymów biorących udział w naprawie foto uszkodzeń. Wszystkie te zmiany powodują w rezultacie wzrost ilości mutacji DNA, uszkodzeń włókien kolagenowych i elastyny. To właśnie masywne nagromadzenie materiału włókien elastyny w górnej i środkowej warstwie skóry właściwej jest charakterystyczną cechą histopatologiczną fotostarzenia się skóry - nazywaną inaczej zwyrodnieniem tkanki sprężystej. Oprócz elastyny, zmiany te dotyczą także, różnych składników macierzy pozakomórkowej normalnie obecnych w skórze, których to ogólna organizacja i funkcja zostają w tym procesie zaburzone (5). U osób spędzających dużo czasu na zewnątrz, bez odzieży ochronnej i filtrów przeciwsłonecznych uszkodzona skóra charakteryzuje się brakiem elastyczności i żółtawą barwą. Badania nad fotostarzeniem skupiają

się na metabolizmie elastyny i związanych z nią włókien kolagenu. Ekspresja genu elastyny jest wyraźnie aktywowana w komórkach skóry właściwej uszkodzonej przez słońce. Niektóre badania wskazują na transkrypcyjną aktywację tego genu, być może kontrolowaną częściowo przez cytokiny, takie jak transformujący czynnik wzrostu β i różne interleukiny (48).

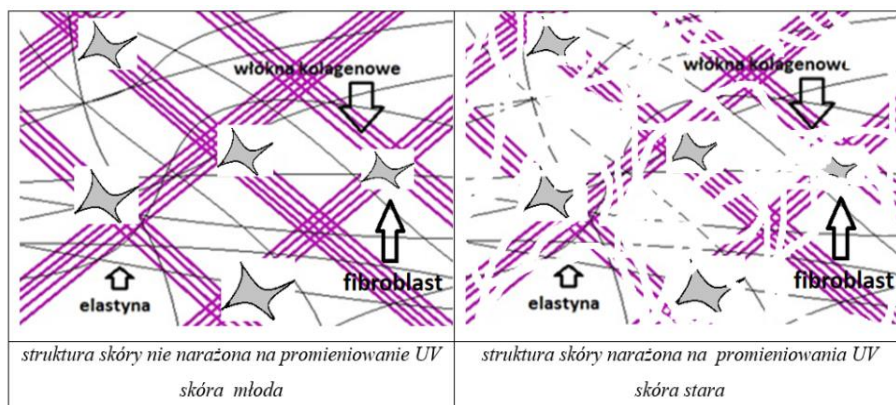


Rycina 7. Mechanizmy ochronne puli kolagenu zachodzące w tkankach (47)

Dodatkowo proces pogłębia fakt, że nagromadzeniu elastyny towarzyszy degeneracja otaczającej siatki kolagenowej. Głównym czynnikiem wpływającym na rozkład siatki kolagenowej jest występowanie i aktywność metaloproteinaz, które działają jako mediatory uszkodzeń kolagenu. Ta rodzina enzymów odpowiedzialnych za degradację składa się z co najmniej 14 różnych proteinaz, które wykazują dość szerokie spektrum działania (49). Na przykład, wiele z nich może rozkładać włókna kolagenowe, włókna elastyny, różne proteoglikany lub fibronektyny. Nawet pojedyncze wystawienie skóry na promieniowanie ultrafioletowe zwiększa aktywność metaloproteinaz macierzy, a zwiększona aktywność enzymatyczna wiąże się z istotną degradacją włókien składających się z kolagenu typu I – głównego kolagenu w skórze człowieka (4). Tak więc wydaje się, że te enzymy degradacyjne mogą odgrywać ważną rolę patologiczną i przyczyniać się do utraty kolagenu.

Jak wynika z Ryciny 8 w młodej skórze, nienaruszony kolagen w macierzy pozakomórkowej skóry zapewnia miejsca przylegania fibroblastów i ich mechaniczną odporność. Fibroblasty są zdolne do rozciągania a przy stosunkowo wysokim napięciu mechanicznym, wykazują zdolność do nasilonej produkcji kolagenu. Na skutek ekspozycji na

promieniowanie UV (fotostarzenie) lub stres oksydacyjny (starzenie chronologiczne), następuje zmniejszenie syntezy i rozszczepienie kolagenowej macierzy pozakomórkowej.



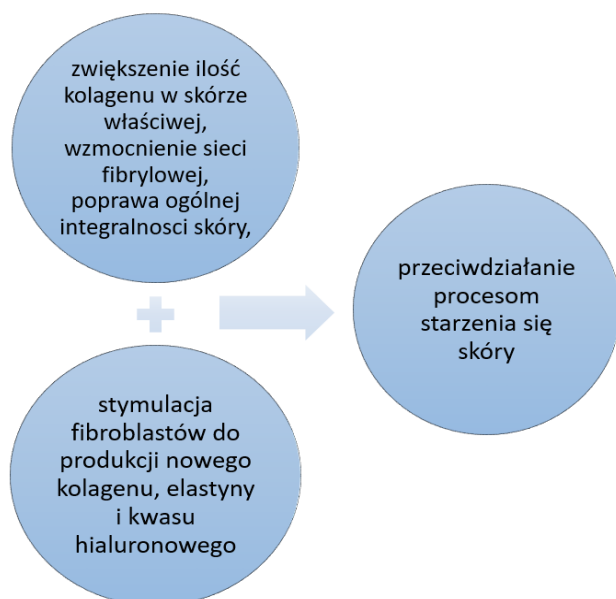
Rycina 8. Zmiany zachodzące w strukturze włókien kolagenowych i elastyny pod wpływem fotostarzenia się skóry (4)

Nagromadzenie fragmentów kolagenu i elastyny podczas chronicznej ekspozycji na promieniowanie UV i upływu czasu, upośledza właściwości mechaniczne i funkcjonalne macierzy pozakomórkowej skóry. Fibroblasty tracą swój kształt, oraz efektywność (4).

2.3. Wpływ suplementacji kolagenem na zmiany parametrów fizyko-chemicznych skóry

Suplementacja doustnymi preparatami kolagenu może być wykorzystywana w przeciwdziałaniu zmianom zachodzącym podczas starzenia się skóry. Zachowanie dobrej kondycji i witalności skóry jest bowiem związane z dostarczeniem jej niezbędnych składników budulcowych i odżywczych. Jak wynika z badań naukowych (44) wprowadzenie doustnej suplementacji hydrolizowanego kolagenu z chrząstek nóg kurcząt oraz skóry świńskiej skutkuje obecnością jej we krwi nawet po 12 godzinach od spożycia. Warto podkreślić, że w przypadku tej suplementacji ilość peptydów zawierających hydroksyprolinę we krwi wzrasta, osiągając swój szczyt po 2 godzinach od pobrania doustnego, a następnie zmniejsza się do połowy maksymalnego poziomu po 4 godzinach od spożycia (6). W innych badaniach (45) potwierdzono również obecność w osoczu krwi (25-60 nmol/mL) niewielkiego dipeptydu: prolino-hydroksyprolina (Pro-Hyp), po spożyciu zhydrolizowanego kolagenu w ilości od 9,4 do 23 g. Zaobserwowane zwiększone stężenie peptydu Pro-Hyp we krwi można częściowo tłumaczyć jego zwiększoną ilością w kolagenie. Sugeruje się dodatkowo, że Pro-Hyp może być uważany za „niestrawny” peptyd, ponieważ ponad 75% dipeptydu Pro-Hyp utrzymuje się we krwi przez 24 godziny po reakcji *in vitro* z ludzką surowicą. Potwierdzeniem faktu, iż peptydy

powstające w wyniku hydrolizy dużej cząsteczki kolagenu mogą przyczyniać się do poprawy parametrów fizyko-chemicznych skóry mogą być badania Oesser i wsp. (47), w których poprzez zastosowanie w badaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej i elektroforezy siarczanu sodu w żelu poliakryloamidowym wykazano, że peptydy w zakresie ciężaru cząsteczkowego 1-10 kDa mogą być wchłaniane. Z kolei, w badaniach Watanabe-Kamiyama i wsp. (50) udowodniono nie tylko wchłanianie pochodzących z kolagenu peptydów, ale również obecność ich w całym organizmie. W badaniu tym dla potwierdzenia rozmieszczenia peptydów kolagenowych w skórze i innych tkankach wykorzystano model zwierzęcy (szczury Wistar) i znakowane ^{14}C peptydy prolinowe lub kolagenowe. Promieniotwórczość mierzono w różnych tkankach w ciągu 0-6 godzin po spożyciu przez okres 14 dni. Wyniki wykazały jednoznacznie, że radioaktywność pozostawała w tkance skóry zwierząt na wysokim poziomie przez okres do 14 dni. Z kolei w innym badaniu (51) peptydy były degradowane w krótkim czasie przez peptydazy gospodarza, a czas półtrwania wynosił 0,8; 2,0; 2,5 i 8,6 minut dla odpowiednio Ala-Tyr, Gly-Tyr, Ala-Gln, i Gly-Gln. Fakty te wskazują na zdolność peptydów kolagenowych do migracji aż do skóry właściwej, a więc miejsc, w którym ich wpływ na parametry fizyko-chemiczne skóry jest znaczący. Odpowiednia podaż peptydów pochodzących z suplementowanego kolagenu wpływa na zawartość w niej kolagenu, elastyny i kwasu hialuronowego (poprzez stymulację fibroblastów) jaki i poprawę struktur skóry (Rycina 9.). Chen i wsp. (6) potwierdził także wpływ różnych stężeń hydrolizatów kolagenu pochodzących od ryb na fibroblasty i keratynocyty wskazując, że stężenie kolagenu od 48 do 97 $\mu\text{g/ml}$ wpływa na optymalizację procesu proliferacji (191%).



Rycina 9. Działanie peptydów hydrolizatów kolagenowych w procesach zapobiegających starzeniu się skóry

Suplementacja hydrolizatami kolagenu wpływa na skórę poprzez poprawę jej właściwości biofizycznych. Potwierdzono, że doustne suplementowanie 5000mg hydrolizowanego kolagenu typu I (52) wpływa na znaczną poprawę linii twarzy, poprawę nawilżenia skóry u 82% badanych, wzrost gęstości kolagenu skórniego o 19% już po 12 tygodniach suplementacji czy wzrost jędrności skóry u 37% badanych już po 80 dniach. Z kolei w badaniu Kim i wsp. (53) przeprowadzonym w grupie 53 uczestników, którzy suplementowali 1000 mg czystego kolagenu rybiego 1 raz dziennie przez okres 12 tygodni odnotowano 7-krotny wzrost nawilżenia skóry w stosunku do grupy placebo już po 6 tygodniach badania i prawie 3-krotnie wyższy po 12 tygodniach suplementacji wraz z redukcją liczby zmarszczek w ocenie wizualnej badanych. W badaniu Schlippe i wsp. (54) 3-miesięczna suplementacja preparatem zawierającym 2,5 grama peptydów kolagenowych, 50µg biotyny i witamin C oraz E trwająca wpłynęła na poprawę wilgotności skóry u zdrowych osób. Niemniej jednak już 4 tygodnie od zakończenia przyjmowania preparatu nawilżenie skóry zmniejszyło się znacząco, choć nadal nawilżenie skóry badanych osób było wyższe w stosunku do tego przed rozpoczęciem suplementacji. Podobną zależność obserwowano w przypadku oceny elastyczności skóry. Pozytywne efekty przekładały się również na pozytywną, subiektywną ocenę w zakresie nawilżenia i elastyczności przez większość osób badanych (70%). Pozytywne efekty przyniosło również przyjmowanie przez 3 miesiące suplementu diety zawierającego specjalnie opracowaną formułę składająca się z: 2,5 g peptydów kolagenowych, 666 mg ekstraktu z owoców aceroli, 80 mg witaminy C, 3 mg cynku, 2,3 mg witaminy E i 50µg biotyny.

2.4. Zastosowanie pomiarów impedancji elektrycznej tkanek w badaniach diagnostycznych – obiektywna ocena stanu skóry

Pomiar impedancji elektrycznej tkanek, zwany także bioimpedancją elektryczną (BIA – *bioelectrical impedance analysis*) to szybka i powtarzalna metoda badania składu ciała (55). Można ją stosować zarówno u osób zdrowych, jak i chorych oraz w każdej grupie wiekowej. BIA opiera się na właściwościach elektrycznych tkanek organizmu ludzkiego (56) a w szczególności na różnicy w przewodzeniu prądu elektrycznego w niejednorodnych pod względem właściwości elektrycznych i budowy chemicznej tkankach (57). Tkanka tłuszczowa, jak i woda zawarta w płynie pozakomórkowym nie wykazują reaktancji (oporu pojemnościowego, X_c), gdyż nie zachowują się jak kondensatory, za to posiadają opór elektryczny czynny (rezystancję, R) (58) i przepływa przez nie prąd o niskiej częstotliwości (59). Reaktancja z kolei powstaje na błonie komórkowej tkanki o wysokiej zawartości wody,

która działa jak kondensator złożony z dwóch okładek (przewodzące prąd fragmenty hydrofilowe fosfolipidów) oraz warstwy dielektrycznej (nieprzewodzące prądu fragmenty lipofilowe skierowane do wewnątrz błony komórkowej)(57). Tak więc prąd przepływa przez tkankę dwutorowo: bezpośrednio przez płyn międzykomórkowy i pośrednio przez błony komórkowe (60). Rezystancja powoduje spadek napięcia, podczas gdy reaktancja wpływa przede wszystkim na przesunięcie fazowe przyłożonego prądu zmiennego, reprezentowane w ujęciu wektorowym przez kąt fazowy. Takie wartości, jak opór właściwy ciała ludzkiego oraz jego pojemność elektryczna, wyznacza się na podstawie danych statystycznych dla danej rasy, populacji, płci, wieku czy stanu zdrowia (61). Uzyskany podczas pomiaru wynik całkowitej impedancji bioelektrycznej, po niezbędnych przekształceniach matematycznych i przy znanych parametrach antropometrycznych ciała i określonej charakterystyce użytego prądu zmiennego, umożliwia uzyskanie wartości objętości wody w ustroju, co ma kluczowe znaczenie dla poznania dalszych składników ciała (62).

Bioimpedancja jest również wykorzystywana w diagnostyce parametrów skóry. Jej pomiar może przekazywać informacje fizjologiczne o skórze, takie jak nawilżenie skóry (63), grubość warstwy rogowej naskórka (64,65), ilość kanałów wodnych w niej zawartych (66). Ponadto, impedancja elektrody-skóry jest istotnym czynnikiem warunkującym dokładność pomiarową innych parametrów, takich jak na przykład pomiar tętna (67). Ogólnie impedancja skóry jest odpowiedzią określonego obszaru skóry na przyłożony z zewnątrz prąd elektryczny (68). Jednakże budowa skóry nie jest jednorodna a zawartość wody w jej poszczególnych warstwach wzrasta od ok. 20 % w warstwie rogowej naskórka do prawie 70 % w warstwie podstawnokomórkowej naskórka. Natomiast w tłuszczu podskórnym zawartość wody wynosi około 10% (69). Najbardziej zewnętrzną warstwą rogowa naskórka (SC), jest uważana za największą barierę w transporcie przezskórnym (70), a jej grubość różni się znacznie u różnych osób i części ciała. I tak grubość tej warstwy na przedramieniu wynosi około 10 -40 μm (71) i składa się głównie z korneocytów, które są martwymi komórkami bez jąder (70) osadzone w wysoce uporządkowanej i gęstej matrycy lipidowej. Aktualne modele impedancji skóry można podzielić na dwie kategorie: model stałego kąta fazowego i model warstwowy RC (układ opornik-kondensator). Pierwszy koncentruje się na biologicznych cechach skóry i jest jednym z pierwszych modeli impedancji skórnej, opartej na założeniu, że skóra jest prostym obwodem RC połączonym równolegle lub szeregowo. Jednak pojedynczy model RC nie może wyrazić złożonej struktury skóry. Zaproponowano również ulepszony model (67, 71), model tzw. stałego kąta fazowego (CPA), który przyjmuje element stałego kąta fazowego i oparty jest na modelu stosowanym przez Cole'a (72). Model ten polegał na zastąpieniu idealnego kondensatora przez ogólny element zwany stałym elementem fazowym (CPE) (64).

Równocześnie analiza modelu impedancji Cole'a wymaga trzech elementów: układu równoważnego, opracowania odpowiednich równań oraz symulacji, która daje złożone zachowanie impedancji (14). Reasumując: biologiczne i chemiczne właściwości każdej warstwy skórnej nie są takie same - zatem model stałego kąta fazowego nie jest wystarczająco dokładny i wiarygodny, aby wyrazić właściwości elektryczne skóry. Model warstwowy RC, zaproponowany w 2003 (73) zakładał użycie do pomiaru cienkiej warstwy niesymetrycznego układu mikroelektrod. Tak skonstruowany model nie tylko uwzględnił impedancje warstwowe w pionie, ale również bierze pod uwagę impedancje międzywarstwowe w kierunku poziomym oraz impedancję kontaktu między elektrodą a skórą. Jednak liczba elementów i nieznanych parametrów w modelu warstwowym RC jest znacznie większa niż w tradycyjnym modelu RC i modelu CPA, co powoduje dużą liczbę obliczeń w późniejszej analizie danych. Dlatego też model ten funkcjonuje w literaturze w formie koncepcyjnej.

Odpowiednio dobrane i zanalizowane pomiary impedancji elektrycznej skóry są skutecznym narzędziem do oceny parametrów skóry zarówno u osób zdrowych jak i u osób chorych, a zmiana tych parametrów na poszczególnych etapach leczenia informuje o jego skuteczności. Przykładem mogą być pacjenci z przewlekłym owrzodzeniem nóg, gdzie w badaniu Kubisz i wsp. (14) przedstawiono wpływ nakładania na owrzodzoną skórę pacjentów żelu kolagenowego (zawierającego 1% kolagenu) a statystycznie istotne różnice w parametrach elektrycznych stwierdzono już po 8-tygodniach stosowania kolagenu.

Pomiar uwodnienia warstwy rogowej oparty jest na zależności między pojemnością elektryczną a zawartością wody w naskórku. Zmiany uwodnienia warstwy rogowej związane są ze stałą dielektryczną wody, która wpływa na pojemność elektryczną i jest mierzona przy użyciu urządzenia zwanego korneometrem. Pomiar odbywa się na głębokości około 10–40µm, przy czym grubość warstwy rogowej wynosi zazwyczaj 10–20µm (74,75). Wyniki pomiaru korneometrycznego są podawane w arbitralnie przyjętych jednostkach i mieszczą się w przedziale 0-130 jednostek. Wyższa wartość pomiaru świadczy o lepszym stopniu nawilżenia naskórka. Prawidłowe uwodnienie naskórka związane jest po pierwsze z obecnością w korneocytach (komórkach warstwy rogowej), naturalnego czynnika nawilżania (natural moisturizing factor - NMF), po drugie z prawidłową zawartością lipidów przestrzeni międzykomórkowych (76). NMF stanowi mieszaninę różnych związków o niskiej masie cząsteczkowej, rozpuszczalnych w wodzie i o wysokich właściwościach higroskopijnych. Zaliczają się do niego: aminokwasy, mocznik, mleczany, amoniak, kwas moczowy, pyrrolidonowy kwas karboksylowy i inne. Odpowiednia zawartość wody w warstwie rogowej jest bardzo istotna z fizjologicznego punktu widzenia, gdyż jest niezbędna do prawidłowego procesu rogowacenia i złuszczenia komórek. Prawidłowa zawartość wody w naskórku mieści

się w przedziale 15% - 30% (76). Gdy wartość ta ulega obniżeniu poniżej 10%, obserwuje się suchość, szorstkość, złuszczenie i pęknięcia naskórka (76). Zmianą tych parametrów towarzyszy często dyskomfort pacjentów a nie bez znaczenia jest fakt, że dodatkowo następuje upośledzenie funkcji barierowej oraz zwiększenie podatności skóry na podrażnienie.

Innym istotnym pomiarem jest pomiar wskaźnika rumienia (erythema index ER) oraz wskaźnika melaniny (pomiar pigmentacji, melanin index MX), gdzie w celu przeprowadzenia badania wykorzystuje się wąskopasmową spektrofotometrię refleksyjną, która to wykorzystuje zjawisko absorpcji i odbicia promieniowania o określonej długości fali przez hemoglobinę i melaninę. Sonda, którą wykorzystuje się w badaniu jest wyposażona w 2 źródła światła (diody elektroluminescencyjne, czerwoną oraz zieloną) i niebieską fotodiodę odbierającą światło odbijane z powierzchni skóry (77). Wskaźnik rumienia jest wyznaczony automatycznie na podstawie porównania odbitego światła czerwonego oraz zielonego, natomiast wskaźnik melaniny zostaje skalkulowany poprzez analizę intensywności odbitego światła czerwonego (na drodze wyznaczania gęstości optycznej skóry) – zatem oba wykorzystują zjawisko odbicia dyfuzyjnego (78). Do opisu wyników pomiaru wykorzystuje się model klasyfikacji kolorymetrycznej, zgodnie z którym określone są trzy parametry barwy (78); tzw. przestrzeń Lab, czyli przestrzeń kolorów zdefiniowana przez Międzynarodową Komisję Oświetlenia w 1976 roku; gdzie: L — luminancja, czyli jasność lub jaskrawość (od czarnego (0) do białego (100)), a i b — chromatyczność barwy (a - zakres od zieleni (-) do czerwieni (+), b zakres od barwy niebieskiej (-) do żółtej(+)).

Współrzędne L i a zależą przede wszystkim od zawartości hemoglobiny i melaniny (79).

Oba barwniki mają wpływ na kolor skóry, którego postrzeganie przez ludzkie oko zależy od pochłaniania, odbicia lub rozpraszania światła w warstwie naskórka i skórze właściwej. Za pochłanianie światła odpowiedzialne są chromofory skórne, które między innymi reprezentuje melanina i hemoglobina.

Powstanie rumienia jest związane z poszerzeniem naczyń skóry i wzmożonym przepływem krwi, co z kolei jest skorelowane dodatnio ze zwiększoną zawartością hemoglobiny, natomiast pigmentacja skóry zależy od rodzaju melaniny (występuje w formach brązowych, czarnych, czerwonych lub żółtych) oraz sposobu jej gromadzenia w melanosomach i przekazywania do komórek naskórka (80). Opisane metody są cennymi metodami wykorzystywanymi w diagnostyce skóry, ocenie zmian zachodzących w skórze np. w wyniku promieniowania UV (80), ocenie zmian związanych w wyniku starzenia się skóry (81), a także w celu oceny efektów stosowania leków i kosmetyków, czy zabiegów z zakresu medycyny estetycznej (82).

III. Założenia badawcze i cel pracy

Potencjalne wykorzystanie kolagenu w żywieniu człowieka sugeruje jego korzystne właściwości biologiczne wynikające z jeszcze nie do końca poznanych mechanizmów zachodzących na poziomie molekularnym. Ujawniające się w badaniach naukowych zróżnicowane właściwości kolagenu otwierają nowe kierunki badań nad jego wykorzystaniem w kosmetologii oraz dietetyce, które wykazują korzystne właściwości dla organizmu ludzkiego. Korzystną wpływ suplementacji kolagenem potwierdzono w kontekście poprawy gęstości mineralnej kości w niedożywieniu białkowym, poprawie grubości włosa czy korzystnego wpływu na choroby paznokci. Toczące się obecnie badania, tak na liniach komórkowych jak i w modelach zwierzęcych czy też nielicznych grupach wolontariuszy skupiają się na poszukiwaniu nowych możliwości suplementacji hydrolizatów kolagenu, o niskiej masie cząsteczkowej. Wyniki badań naukowych dotyczące biodostępności hydrolizatów kolagenu pochodzących z różnych źródeł (łusek rybich, świńskiej skóry czy skóry ryb) są również nieliczne. Istotnym faktem pozostaje, że struktura i ilość peptydów pochodzących z kolagenu a obecnych w ludzkiej krwi zależą od rodzaju kolagenu i źródła jego pochodzenia oraz pochodzenia osób (etniczności), polimorfizmu aktywności endo- i egzopeptydaz oraz zróżnicowanej selektywności jelitowych, białkowych transporterów pomiędzy badanymi osobami. Stąd też mogą wynikać potencjalnie korzystne, biologiczne właściwości podaży doustnej kolagenu i produktów jego pochodnych. Z punktu widzenia sposobu żywienia człowieka, suplementacja produktami zawierającymi kolagen może potencjalnie stymulować anabolizm macierzy zewnątrzkomórkowej. Prowadzić to może do wzrostu biosyntezy kolagenu w skórze poprzez wykorzystanie wchłoniętych produktów degradacji jako substraty oraz do promowania procesów naprawczych w ranach skórnych. Te pozytywne efekty mogą wynikać z biochemicznych podobieństw egzogenego kolagenu, który zawiera unikalny aminokwas i zbliżony profil peptydowy do endogenego kolagenu w tkance łącznej, a w szczególności do głównego typu kolagenu (typu I) występującego w skórze. Biorąc pod uwagę, że poziom kolagenu typu I stopniowo maleje w ciągu całego życia, a zatem przyczynia się do starzenia skóry, zwiększenie syntezy kolagenu typu I po doustnym spożyciu kolagenu lub produktów zawierających kolagen są pożądane ze względu na jego właściwości zapobiegające starzeniu.

Cel badań:

Celem głównym badania była ocena wpływu suplementacji kolagenem na kondycję skóry oraz stan odżywienia u zdrowych, dorosłych wolontariuszek.

Cele szczegółowe:

- 1) Ocena poziomu spożycia podstawowych składników pokarmowych przez badane wolontariuszki.
- 2) Ocena stanu odżywienia u zakwalifikowanych do badań zdrowych wolontariuszek.
- 3) Ocena wpływu suplementacji kolagenem na obiektywnie i subiektywnie analizowane zmiany stanu skóry u zdrowych wolontariuszek.
- 4) Porównanie wpływu suplementacji pomiędzy hydrolizatem kolagenowym pochodzenie wieprzowego a kolagenem pochodzenia rybiego na parametry fizyko-chemiczne skóry u wolontariuszek.

IV. Część doświadczalna

1.1. Metodyka badań i charakterystyka badanej grupy wolontariuszek

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu nr: DWL II/0172/19

Badana grupa:

Wolontariuszki zrekrutowano do badania na podstawie ogłoszenia o naborze do badań po zakwalifikowaniu ich, według kryteriów włączenia i wyłączenia.

Wyróżniono następujące kryteria włączenia i wyłączenia z badań:

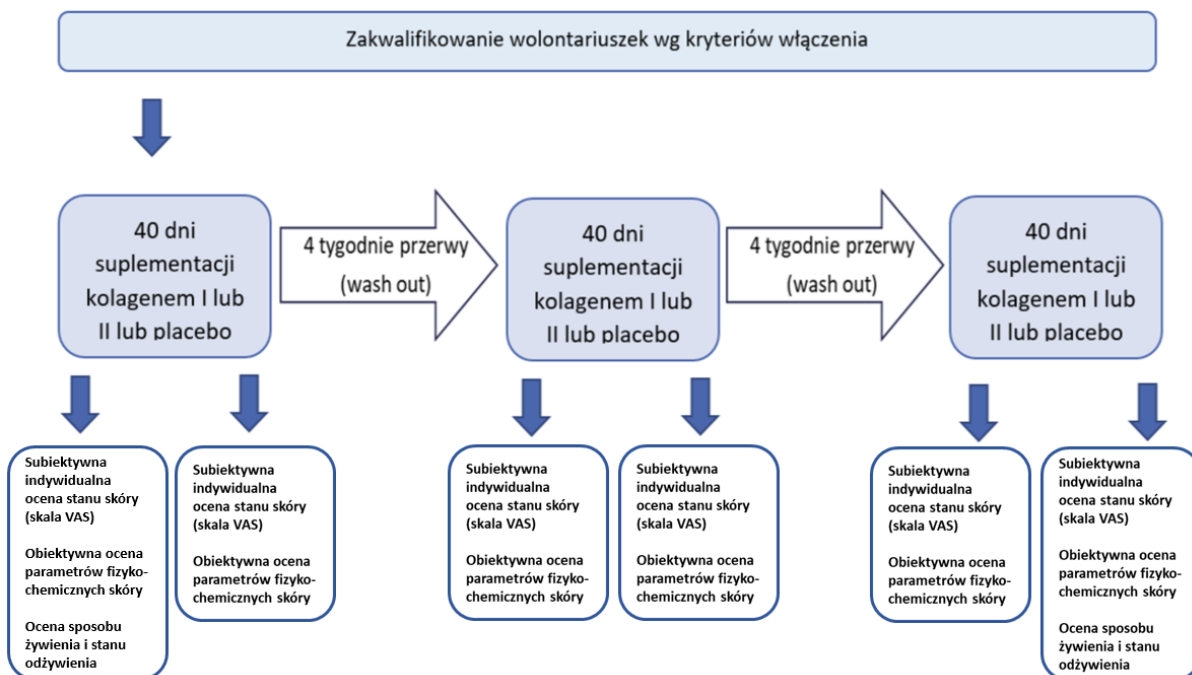
Kryteria włączenia:

- Wartość wskaźnika masy ciała: $18,5\text{kg/m}^2 < \text{BMI} < 25\text{kg/m}^2$
- Wiek pomiędzy 18-45 r.ż.
- Rasa kaukaska (fototyp skóry II i III wg Fitzpatricka)

Kryteria wyłączenia:

- Zdiagnozowane choroby dietozależne: cukrzyca, hipercholesterolemia, otyłość, nadciśnienie tętnicze
- Choroby autoimmunologiczne
- Przyjmowanie leków hipoglikemicznych, hipolipemizujących, hipertensjologicznych, psychotropowych
- Przyjmowanie suplementów diety w ciągu ostatniego miesiąca
- Zaburzenia endokrynologiczne
- Przewlekłe choroby nerek i wątroby
- Choroba nowotworowa w ciągu ostatnich 5 lat
- Ciąża
- Karmienie piersią
- Laktacja

Do badania włączono 30 wolontariuszek według kryteriów włączenia i wyłączenia z badania (Rycina 10).



Rycina 10. Schemat badania krzyżowego.

Osoby włączone do badania zostały losowo przydzielone do jednej z wymienionych poniżej grup:

- Grupa 1 – suplementacja kolagenem wieprzowym przez okres 40 dni (grupa badana kolagen W)
- Grupa 2 - suplementacja kolagenem rybim przez okres 40 dni (grupa badana kolagen R),
- Grupa 3 – grupa kontrolna spożywająca tylko wodę przez okres 40 dni (grupa kontrolna)

W celu wyeliminowania efektów „przeniesienia” między poszczególnymi etapami badań okres przerwy pomiędzy poszczególnymi etapami badania wynosił 4 tygodnie (wash-out)(83).

Całkowity czas trwania suplementacji (kolagenem W - 40 dni, placebo (woda) - 40 dni, kolagenem R - 40 dni) wynosił 120 dni a łączny czas przerwy między poszczególnymi grupami to 8 tygodni (2x po 4 tygodnie).

Wolontariuszki przyjmowały suplement 1 raz dziennie w godzinach rannych w planowanym czasie trwania badania każdorazowo przez okres 40 dni.

W grupie kolagen W jednorazowo, dzienna dawka preparatu kolagenu (hydrolizatu żelatynowego naturalnego pochodzenia produkowany w przez firmę Gelita A.G. z siedzibą w Eberbach Niemcy) wynosiła 5g i była spożywana po rozpuszczeniu w 200 ml wody.

Natomiast w grupie kolagen R jednorazowo, dzienna dawka preparatu rybiego w formie żelu wynosiła 5 ml, który to zawierał około 1% kolagenu (suchej masy) (natywny,

niezdenaturowany kolagen ze skór rybich) (14) i przyjmowany był bezpośrednio do jamy ustnej.

Grupa placebo spożywała wyłącznie 200 ml wody.

Szczegółowy skład aminokwasowy stosowanych kolagenów podawanych wolontariuszkom został dodatkowo określony w Laboratorium Chemicznym Wydziału Żywnienia Zwierząt i Zarządzania Paszami na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. W tym celu zastosowano automatyczny analizator aminokwasów AAA T-339 (Mikrotechna Praha Co., Praga, Czechy).

Tabela 7. Skład aminokwasowy kolagenu wieprzowego i kolagenu rybiego (84)

	Kolagen wieprzowy	Kolagen rybi
Całkowita zawartość białka (%)	79,4	65,66
Aminokwas (g na 100 g białka)		
Asparagina	7,49	6,64
Treonina	2,19	2,84
Seryna	3,39	3,44
Kwas glutaminowy	11,53	10,61
Prolina	13,92	13,55
Cysteina	-	-
Glicyna	19,22	21,83
Alanina	9,51	10,54
Walina	2,45	2,27
Metionina	0,71	2,25
Izoleucyna	1,87	1,57
Leucyna	3,67	2,95
Tyrozyna	2,02	1,32
Fenylalanina	4,38	3,03
Histydyna	2,25	1,21
Lizyna	3,11	3,38
Arginina	7,3	7,56
Hydroksyprolina	8,15	5,68

1.2. Ocena stanu skóry

1.2.1. Subiektywna ocena stanu skóry

Subiektywna ocena skuteczności suplementacji (*eng. therapeutic response*) w porównaniu ze stanem wyjściowym przeprowadzono w formie ankiety z wykorzystaniem skali VAS „Indywidualna ocena stanu skóry - Skala VAS satysfakcja” (**Załącznik nr 3**) wg następującego protokołu:

+4 (100% poprawy kondycji skóry),

+3 (widoczna poprawa: 50%-99%),

+2 (przeciętna poprawa: $\leq 25\%$),

+1 (dyskretna poprawa: $\leq 25\%$),

0 (bez zmian),

-1 (dyskretne pogorszenie: $\leq 25\%$),

-2 (przeciętne pogorszenie: 25%–50%),

-3 (widoczne pogorszenie: 50%–99%),

-4 (100% znaczne pogorszenie)

Każda z wolontariuszek została poinformowana, że jest to ankieta dotycząca jej subiektywnych odczuć wynikających z poprawy, pogorszenia lub nie uzyskania żadnych zmian odpowiednio na początku i na końcu suplementacji w każdej fazie badania.

1.2.2. Obiektywna ocena stanu skóry

Obiektywną ocenę stanu skóry przeprowadzono przy pomocy aparatu Cutometer dual MPA 580 (Courage + Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy). Uwzględniono następujące pomiary i parametry w ocenie:

- a. pomiar elastyczności i jędrności skóry
- b. pomiar pH skóry z zastosowaniem sondy Skin-pH-Meter PH 905
- c. pomiar nawilżenia skóry z zastosowaniem sondy do korneometru CM 825

d. pomiar melaniny i erytemy z zastosowaniem sondy Mexameter MX 18

Powyższe pomiary przeprowadzono *in situ*, po uprzedniej aklimatyzacji pacjentek, każdorazowo w tym samym gabinecie. Miejscem badania było w każdym przypadku przedramię.

1.3. Ocena stanu odżywienia

Ocenę sposobu odżywienia przeprowadzono w wykorzystaniu wskaźnika masy ciała – BMI (ang. Body Mass Index), wskaźnika talia-biodro: WHR (ang. Waist to hip ratio) oraz procentowej zawartości tkanki tłuszczowej

Dokonano oceny wybranych parametrów antropometrycznych:

o Masa ciała i wysokość ciała – pomiar z wykorzystaniem wagi lekarskiej z wysokościomierzem, wykonany w pozycji stojącej, bez obuwia, w lekkim ubraniu z dokładnością odpowiednio do 0,1kg oraz 0,5cm, na której podstawie obliczono wskaźnik BMI: iloraz masy ciała wyrażonej w kg do wysokości ciała określonej w metrach do kwadratu.

Interpretację wskaźnika BMI przedstawiono w Tabeli 7.

o Obwód talii i obwód bioder – pomiar wykonywany był odpowiednio w połowie odległości pomiędzy dolnym brzegiem łuku żebrowego, a górnym grzebieniem kości biodrowej oraz na wysokości górnych krętarzy większych kości udowych z wykorzystaniem miary antropometrycznej z dokładnością do 0,1cm. Na podstawie tych parametrów obliczono wskaźnik WHR: stosunek obwodu talii do obwodu bioder.

Tabela 8. Interpretację wskaźnika BMI wg jego wartości (85)

Zakres wartości BMI	Interpretacja
poniżej 18,5	Niedowaga
18,50-24,99	zakres prawidłowy
25,00-29,99	Nadwaga
30,00-34,99	otyłość I stopnia
35,00-39,99	otyłość II stopnia
powyżej 40,00	otyłość III stopnia

Dodatkowo ocenę poszerzono o analizę składu ciała – pomiar wykonany za pomocą urządzenia Tanita BC-601 (Tanita Europe BV, Amsterdam, Holandia). Urządzenie to wykorzystuje zjawisko impedancji bioelektrycznej tkanek, dzięki któremu możliwe jest

określenie: ilości tkanki tłuszczowej ogólnej, ilości tkanki tłuszczowej wewnątrz narządowej, procentowa zawartość tłuszczu w organizmie, ilości beztłuszczowej masy ciała, zawartości wody czy zmineralizowanej masy kostnej. W niniejszej pracy zastosowano tzw. segmentalną BIA (56). Urządzenie stosowane do pomiaru segmentowego BIA wyposażone jest w osiem elektrod: dwie elektrody stykają się z dłonią i kciukiem każdej ręki a dwa są w kontakcie z przednimi i tylnymi partiami podeszwy każdej stopy (86).

1.4. Ocena sposobu żywienia

Ocenę sposobu żywienia przeprowadzono w wykorzystaniem 3-dniowego wywiadu żywieniowego przeprowadzonego metodą bieżącego notowania, który obejmował 2 dni robocze i 1 dzień weekendowy zgodnie z instrukcją opracowaną przez Instytut Żywności i Żywienia (87). Ponadto, każda z wolontariuszek wypełniła ankietę dotyczącą częstości spożycia wybranych produktów spożywczych, uwzględniającą stopień preferencji spożycia wybranych produktów spożywczych (**Załącznik nr 1**).

1.5. Ocena sytuacji socjoekonomicznej

Wolontariuszki wypełniły ankietę społeczno-ekonomiczną (**Załącznik nr 2**) uwzględniająca pytania dotyczące:

- Pochodzenia (miasto, wieś) / miejsca zamieszkania
- Wykształcenia
- Statusu rodzinnego
- Statusu ekonomicznego / sytuacji materialnej
- Wiek
- Aktywności fizycznej

Dodatkowo badani wypełniali ankietę dotyczącą stanu zdrowia, która zawierała pytania dotyczące:

- Stanu zdrowia
- Przyjmowania leków i suplementów diety

V. Analiza statystyczna

Zmienne kategoryjne (jakościowe) opisano za pomocą liczebności (n) i częstości (%). Zmienne mierzalne opisano za pomocą podstawowych parametrów: średnia arytmetyczna, odchylenie standardowe (odch. std.), mediana oraz wartość minimalna i maksymalna (min. i maks.). Normalność rozkładu zweryfikowano testem Shapiro-Wilka.

W przypadku spełnienia warunku normalności rozkładu do określenia różnic przed i po suplementacji wykorzystano test t-Studenta dla zmiennych powiązanych. W przypadku niespełnienia warunku normalności rozkładu użyto testów nieparametrycznych:

- testu kolejności par Wilcoxon – do sprawdzenia istotności różnicy przed i po suplementacji,
- testu ANOVA Friedmana – do sprawdzenia istotności różnicy zmiennych zależnych w co najmniej 3 grupach (placebo, kolagen W i kolagen R).

Do oceny związku pomiędzy grupami i wybranymi parametrami w badanej grupie wolontariuszek wykorzystano współczynniki korelacji rang Spearmana R_s . Ze względu na rodzaj korelacji przyjęto następującą interpretację wartości współczynnika:

$R_s > 0$ korelacja dodatnia – gdy wartość X rośnie to Y też rośnie

$R_s = 0$ brak korelacji – gdy X rośnie to Y czasem rośnie a czasem maleje

$R_s < 0$ korelacja ujemna – gdy X rośnie to Y maleje

oraz ze względu na siłę korelacji:

$R_s < 0.2$ – korelacja słaba

$0.2 < R_s < 0.4$ – korelacja niska

$0.4 < R_s < 0.6$ – korelacja umiarkowana

$0.6 < R_s < 0.8$ – korelacja wysoka

$0.8 < R_s < 0.9$ – korelacja bardzo wysoka

$0.9 < R_s < 1$ - zależność praktycznie pełna

Dla wszystkich analizowanych zmiennych przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$. Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego STATISTICA 10 PL (Kraków, Polska).

VI. Wyniki badań

1.1. Charakterystyka antropometryczna badanej grupie wolontariuszek

Do badania zakwalifikowano 30 ochotniczek w wieku 25-47 lat (Me: 38,5), z czego grupę badaną oraz grupę kontrolną zgodnie ze schematem badań stanowiły te same kobiety (badanie krzyżowe). Wszystkie kobiety (100%) były mieszkankami dużych miast (>100 tys.), 83% posiadały wykształcenie wyższe, 10% średnie a 7% podstawowe, co przekładało się na wysoki odsetek (73%) pracowników umysłowych i umysłowo-fizycznych (16%) pracujących

Tabela 9. Charakterystyka parametrów składu ciała badanych osób przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym i rybim (n=30)

Analizowany parametr		N	Średnia	Odch. std.	Mediana	Min.	Maks.	wartość p
Masa ciała [kg]	przed	30	66,3	7,2	66,3	51,5	81,0	0,8990
	Po	30	66,3	7,3	66,5	50,5	81,0	
Wysokość ciała [cm]	przed	30	168,3	4,6	168	159,0	176,0	0,8990
	Po	30	168,3	4,6	168	159,0	176,0	
FM [%]	przed	30	29,8	5,3	29,7	20,9	40,5	0,5629
	Po	30	31,2	9,9	29,6	20,8	76,0	
Masa mięśni [kg]	przed	30	43,8	3,7	44,3	36,6	50,8	0,0767
	Po	30	43,8	3,8	44,3	36,6	50,8	
Masa kości [kg]	przed	30	2,3	0,2	2,4	2,0	2,7	0,0867
	Po	30	2,3	0,2	2,4	2,0	2,7	
BMI [kg/m ²]	przed	30	23,4	2,1	23,3	18,5	24,8	0,9838
	Po	30	23,4	2,2	23,0	18,1	24,8	
Zapotrzebowanie energetyczne [kcal]	przed	30	2166,5	160	2159,5	1827	2473	0,0443
	Po	30	2179,9	160	2200,0	1827	2425	
Wiek metaboliczny [lata]	przed	30	33,9	9,9	33,0	17	56	0,6015
	Po	30	33,8	9,8	33,0	17	57	
Zawartość wody [%]	przed	30	51,4	4,1	52,1	44,1	58,7	<0,0001
	Po	30	52,1	4,2	52,8	45,0	59,0	
Obwód bioder [cm]	przed	30	97,8	9,2	97,5	80,0	118,5	0,1664
	Po	30	97,9	9,3	97,5	80,0	118,5	
Obwód talii [cm]	przed	30	89,1	7,5	89,0	76,0	101,0	0,2011
	Po	30	89,3	7,4	89,3	76,0	101,0	
WHR	przed	30	0,91	0,82	0,87	0,76	1,23	0,0867
	Po	30	0,91	0,80	0,88	0,76	1,23	

BMI - Body Mass Index - wskaźnik masy ciała

WHR – WAIST to HIP RATIO - wskaźnik obwodu talii do obwodu bioder

% FM – procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie

w pełnym wymiarze czasu pracy (100%). Badane osoby oceniały swoją ogólną sytuację materialną, jako dobrą (67%) i bardzo dobrą (27%). W związku małżeńskim/partnerskim pozostawało 67% badanych kobiet, 20% było stanu wolnego, a 13% rozwiedzionych. Wszystkie wolontariuszki nie paliły tytoniu. Większość (80%) badanych kobiet uważała, że odżywia się dobrze a posiłki spożywa regularnie. Badane charakteryzowały się prawidłowymi wartościami wskaźnika BMI (Me: 23, 3 kg/m²). Statystycznie istotne różnice odnotowano w trakcie suplementacji w odniesieniu do procentowej zawartości wody w organizmie badanych wolontariuszek oraz zapotrzebowania energetycznego (Tabela 9.). Żadna z badanych kobiet nie przebywała w trakcie trwania badania na diecie redukującej masę ciała lub żadnej innej podyktowanej względami zdrowotnymi.

1.2. Charakterystyka parametrów fizyko-chemicznych skóry badanych wolontariuszek

Suplementacja zarówno kolagenem wieprzowym jak i rybim wpłynęła na istotną poprawę nawilżenia skóry oraz wzrost wartości pH skóry. Istotny wzrost zaczerwienienia skóry ER zaobserwowano w grupie suplementującej kolagen R, ponadto w grupie suplementującej ten sam rodzaj kolagenu oraz w grupie placebo odnotowano istotne obniżenie wartości melaniny. Suplementacja kolagenem W wpłynęła z kolei na istotny wzrost melaniny u badanych ($p < 0,0001$). Porównanie uzyskanych wyników po suplementacji w każdej z grup wskazuje na istotnie mocniejszy efekt suplementacji kolagenem w porównaniu z placebo oraz kolagenem R w zakresie wzrostu wartości pH, zawartości melaniny oraz poprawy nawilżenia skóry. Niemniej jednak efekt ten może wynikać z istotnych różnic pomiędzy tymi grupami w zakresie wartości tych parametrów przed suplementacją, które to były istotnie wyższe dla grupy suplementującej kolagen R ($p < 0,0001$; Tabela 10).

Tabela 10. Zmiany nawilżenia, zawartości melaniny, zaczerwienienia i pH skóry badanych wolontariuszek przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym oraz rybim (n=30)

Analizowany parametr	Grupa	Przed suplementacją			Po suplementacji			wartość p	
		Średnia	Odch. std.	Mediana	Średnia	Odch. std.	Mediana		
Nawilżenie	Placebo	33,1	4,6	33,8	33,2	6,3	33,2	0,8936 ^c	<0,0001 ^a <0,0001 ^b
	kolagen W	35,6	6,9	34,5	47,1	12,6	43,0	<0,0001 ^c	
	kolagen R	38,6	8,3	37,9	42,5	8,5	43,0	0,0002 ^c	
MX melanina	Placebo	135,5	29,0	129,5	130,5	28,9	130,5	0,0428 ^c	0,0127 ^a 0,0002 ^b
	kolagen W	133,6	29,9	127,0	153,5	27,4	152,0	0,0001 ^c	
	kolagen R	154,5	33,3	156,0	138,8	22,3	134,0	0,0025 ^c	
ER zaczerwienie	Placebo	245,1	44,9	241,3	248,4	41,3	254,3	0,4225 ^c	0,0992 ^a 0,1588 ^b
	kolagen W	242,8	45,6	244,7	254,3	55,9	253,2	0,1221 ^c	
	kolagen R	257,6	51,4	249,5	330,6	374,7	257,0	0,0387 ^c	
pH	Placebo	4,10	0,48	4,15	4,70	0,40	4,82	<0,0001 ^c	<0,0001 ^a <0,0001 ^b
	kolagen W	4,75	0,54	4,64	5,47	0,65	5,41	<0,0001 ^c	
	kolagen R	4,91	0,49	4,91	5,43	0,48	5,45	0,0001 ^c	

^a – porównanie nawilżenia, zawartości melaniny, zaczerwienienia i pH skóry między grupami przed suplementacją, test ANOVA Friedmana

^b – porównanie nawilżenia, zawartości melaniny, zaczerwienienia i pH skóry między grupami po suplementacji, test ANOVA Friedmana

^c – porównanie nawilżenia, zawartości melaniny, zaczerwienienia i pH skóry między grupami przed i po suplementacji, test kolejności par Wilcozona

Indywidualna ocena stanu skóry wykorzystująca skalę VAS do oceny satysfakcji wykazała istotną poprawę w zakresie elastyczności skóry, jej nawilżenia, witalności i jędrności oraz liczby zmarszczek zarówno po okresie suplementacji placebo jak i kolagenem W oraz kolagen R (p <0,0001). Dodatkowo, odnotowano istotnie korzystny wpływ suplementacji kolagenem na odżywienie i gładkość skóry w przypadku stosowania obu preparatów kolagenu, a parametry te pozostawały bez wpływu w grupie placebo. Uzyskane efekty były zbliżone przy porównaniu skuteczności obu preparatów kolagenowych przez badanych po zakończonych okresach suplementacji kolagenem W i kolagenem R (Tabela 11).

Tabela 11. Indywidualna subiektywna ocena parametrów skóry: gładkość, elastyczność, jędrność, nawilżenie, odżywienie, witalność, liczba zmarszczek przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym oraz rybim w badanej grupie wolontariuszek (n=30)

Analizowany parametr	Grupa	Przed suplementacją			Po suplementacji			wartość p	
		Średnia	Odch. std.	Mediana	Średnia	Odch. std.	Mediana		
Gładkość skóry	Placebo	0,33	1,40	0,0	0,40	1,21	0,0	0,0646 ^c	<0,0001 ^a
	Kolagen W	0,40	1,69	0,0	2,97	1,10	3,0	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,50	1,89	0,0	2,80	0,85	3,0	<0,0001 ^c	
Elastyczność skóry	Placebo	0,30	1,29	0,0	0,30	1,30	0,0	0,0540 ^c	<0,0001 ^a
	kolagen W	0,33	1,55	0,0	3,53	0,94	4,0	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,65	1,45	0,0	3,40	0,67	3,0	<0,0001 ^c	
Jędrność skóry	Placebo	0,20	1,32	0,0	0,37	1,09	0,0	0,0701 ^c	<0,0001 ^a
	kolagen W	0,25	1,20	0,0	3,73	0,91	4,0	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,55	1,89	0,0	3,30	0,95	3,0	<0,0001 ^c	
Nawilżenie skóry	Placebo	-0,20	1,67	0,0	0,17	1,49	0,0	0,0724 ^c	<0,0001 ^a
	kolagen W	0,30	1,82	0,0	3,33	1,30	3,5	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,80	1,89	0,0	3,40	0,93	3,5	<0,0001 ^c	
Odżywienie skóry	Placebo	-0,20	1,47	0,0	0,30	1,12	0,0	0,0546 ^b	<0,0001 ^a
	kolagen W	0,40	1,89	0,0	3,27	1,14	3,0	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,78	1,20	0,0	3,20	0,96	3,0	<0,0001 ^d	
Witalność skóry	Placebo	0,27	1,53	0,0	0,40	1,57	0,0	0,0558 ^c	<0,0001 ^a
	kolagen W	0,50	1,45	0,0	3,53	1,11	4,0	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,70	1,22	0,0	3,20	0,96	3,0	<0,0001 ^c	
Liczba zmarszczek	Placebo	-0,13	1,70	0,0	1,33	1,15	1,5	0,0683 ^c	<0,0001 ^a
	kolagen W	0,10	1,20	0,0	3,03	1,13	3,0	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,60	1,40	0,0	3,00	0,83	3,0	<0,0001 ^c	

^a – porównanie parametrów skóry: gładkość, elastyczność, jędrność, nawilżenie, odżywienie, witalność, liczba zmarszczek pomiędzy grupami przed suplementacją, test ANOVA Friedmana

^b – porównanie parametrów skóry: gładkość, elastyczność, jędrność, nawilżenie, odżywienie, witalność, liczba zmarszczek pomiędzy grupami po suplementacji, test ANOVA Friedmana

^c – porównanie parametrów skóry: gładkość, elastyczność, jędrność, nawilżenie, odżywienie, witalność, liczba zmarszczek pomiędzy grupami przed i po suplementacji, test kolejności par Wilcozona

Dodatkowo, przeprowadzone pomiary za pomocą sondy kutometr pozwoliły na wyznaczenie parametrów R0 i R7, gdzie parametr R0 wskazuje na jędrność skóry, natomiast parametr R7 odzwierciedla elastyczność skóry (Tabela 12). Istotne różnice odnotowano w poprawie elastyczności skóry w badanej grupie wolontariuszek przy porównaniu wyników wszystkich grup (placebo, kolagen W i kolagen R).

Z kolei istotne różnice w jędrności skóry odnotowano przy porównaniu wyników badań uzyskanych po suplementacji, z najwyższą wartością dla kolagenu W w stosunku do placebo i kolagenu R. Analizowane grupy nie różniły się istotnie wartościami przed okresem suplementacji. Zarówno jędrność jak i elastyczność skóry w badanej grupie wolontariuszek

(parametr R0 jak i R7) uległy statystycznie istotnej poprawie podczas suplementacji dla wszystkich 3 grup, z wyjątkiem grupy placebo, gdzie zmiana w jędrności skóry nie uległa istotnej statystycznie zmianie. Odnotowano istotny wzrost jędrności skóry (R0) w trakcie suplementacji i odpowiednio spadek wartości parametru R7 dla wszystkich badanych grup (Tabela 12).

Tabela 12. Zmiany jędrności (R0) i elastyczność (R7) skóry przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym oraz rybim w badanej grupie wolontariuszek (n=30)

Analizowany parametr	Grupa	Wyniki badania parametrów						wartość p	
		przed suplementacją			po suplementacji				
		Średnia	Odch. std.	Mediana	Średnia	Odch. std.	Mediana		
R0	Placebo	0,126	0,057	0,126	0,140	0,056	0,132	0,0786 ^c	0,5358 ^a <0,0001 ^b
	kolagen W	0,134	0,036	0,131	0,176	0,030	0,173	<0,0001 ^c	
	kolagen R	0,131	0,036	0,127	0,172	0,032	0,170	<0,0001 ^c	
R7	Placebo	0,893	0,183	0,926	0,874	0,096	0,912	0,0101 ^c	0,0019 ^a 0,0016 ^b
	kolagen W	0,875	0,078	0,862	0,824	0,067	0,842	0,0036 ^c	
	kolagen R	0,874	0,079	0,882	0,825	0,064	0,841	0,0024 ^c	

^a – porównanie parametrów R0 i R7 pomiędzy grupami przed suplementacją, test ANOVA Friedmana

^b – porównanie parametrów R0 i R7 pomiędzy grupami po suplementacji, test ANOVA Friedmana

^c – porównanie parametrów R0 i R7 pomiędzy grupami przed i po suplementacji, test kolejności par Wilcozona

Jak wynika z Tabeli 13 praktycznie pełną pozytywną zależność odnotowano pomiędzy zawartością melaniny przed suplementacją kolagenem W a zawartością melaniny w grupie placebo po suplementacji (Rs: 0,9-1,0). Bardzo wysoką dodatnią korelacją wykazano dla zawartości melaniny w grupie placebo przed i po suplementacji. Na podobnym poziomie odnotowano związek pomiędzy nawilżeniem skóry przed w stosunku do tego uzyskanego po suplementacji kolagenem R. Zbliżoną zależność odnotowano pomiędzy nawilżeniem skóry w grupie suplementującej kolagen R przed suplementacją a grupą suplementującą kolagen W po suplementacji. Wysoką dodatnią korelację stwierdzono pomiędzy: nawilżeniem skóry w grupie placebo po suplementacji a nawilżeniem skóry w grupie suplementującej kolagen W przed rozpoczęciem badania i pomiędzy nawilżeniem skóry w grupie suplementującej kolagenem W po interwencji a kolagenem R przed interwencją żywieniową; pomiędzy nawilżeniem w grupie placebo po czasie suplementacji a nawilżeniem skóry przed suplementacją kolagenem R, zawartością melaniny w grupie placebo przed suplementacją a zawartością melaniny przed suplementacją kolagenu W oraz pomiędzy zawartością melaniny w grupie placebo po suplementacji a zawartością melaniny po suplementacji kolagenem R.

Tabela 13. Związek pomiędzy parametrami skóry - nawilżenia i zawartości melaniny w skórze w badanej grupie wolontariuszek (n=30)

Współczynniki korelacji rang Spearmana Rs	Analizowany parametr											
	nawilżenie						zawartość melaniny MX					
	placebo		kolagen W		kolagen R		placebo		kolagen W		kolagen R	
	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po
nawilżenie placebo przed		0,641	0,676	0,704	0,611	0,619	0,005	-0,042	-0,040	0,022	0,138	0,187
nawilżenie placebo po	0,641		0,785	0,582	0,753	0,669	0,136	0,069	0,184	0,082	0,198	0,237
nawilżenie kolagen W przed	0,676	0,785		0,668	0,806	0,670	0,024	-0,078	0,000	0,006	0,110	0,132
nawilżenie kolagen W po	0,704	0,582	0,668		0,793	0,694	0,071	0,011	-0,040	0,065	0,140	0,145
nawilżenie kolagen R przed	0,611	0,753	0,806	0,793		0,812	0,293	0,138	0,159	0,021	0,243	0,142
nawilżenie kolagen R po	0,619	0,669	0,670	0,694	0,812		0,159	0,092	0,146	0,107	0,210	0,133
MX melanina placebo przed	0,005	0,136	0,024	0,071	0,293	0,159		0,879	0,769	0,451	0,554	0,580
MX melanina placebo po	-0,042	0,069	-0,078	0,011	0,138	0,092		0,879	0,912	0,612	0,605	0,709
MX melanina kolagen W przed	-0,040	0,184	0,000	-0,040	0,159	0,146	0,769	0,912		0,595	0,574	0,656
MX melanina kolagen W po	0,022	0,082	0,006	0,065	0,021	0,107	0,451	0,612	0,595		0,586	0,540
MX melanina kolagen R przed	0,138	0,198	0,110	0,140	0,243	0,210	0,554	0,605	0,574	0,586		0,696
MX melanina kolagen R po	0,187	0,237	0,132	0,145	0,142	0,133	0,580	0,709	0,656	0,540	0,696	
ER zaczerwienie placebo przed	0,032	0,114	0,046	0,201	0,216	0,185	0,619	0,515	0,437	0,469	0,221	0,354
ER zaczerwienie placebo po	-0,017	0,231	0,047	0,107	0,211	0,235	0,481	0,603	0,600	0,566	0,381	0,394
ER zaczerwienie kolagen W przed	-0,140	0,063	-0,095	-0,023	0,033	-0,005	0,476	0,654	0,678	0,620	0,373	0,369
ER zaczerwienie kolagen W po	0,132	0,116	-0,032	0,101	0,097	0,111	0,411	0,500	0,472	0,635	0,167	0,123
ER zaczerwienie kolagen R przed	0,053	0,218	-0,030	0,136	0,187	0,218	0,519	0,595	0,592	0,618	0,555	0,505
ER zaczerwienie kolagen R po	0,147	0,233	0,069	0,142	0,238	0,280	0,333	0,410	0,480	0,600	0,408	0,324
pH placebo przed	0,161	0,172	0,130	-0,010	-0,009	-0,260	-0,157	-0,182	-0,119	-0,331	-0,249	-0,033
pH placebo po	-0,084	-0,250	-0,238	-0,068	-0,263	-0,284	-0,223	-0,207	-0,252	-0,086	-0,200	-0,116
pH kolagen W przed	0,216	0,068	0,235	0,041	0,206	0,358	0,081	-0,075	-0,140	-0,273	-0,085	-0,083
pH kolagen W po	0,216	0,029	0,165	-0,100	-0,026	0,098	-0,274	-0,272	-0,181	-0,010	-0,185	-0,145
pH kolagen R przed	0,186	0,223	0,108	0,045	0,137	0,179	0,090	0,013	0,129	0,189	0,134	0,022
pH kolagen R po	0,214	0,006	0,155	0,085	0,087	0,009	-0,236	-0,323	-0,305	-0,325	-0,106	-0,173

*współczynniki korelacji rang Spearmana Rs: Rs > 0 korelacja dodatnia– gdy wartość X rośnie to Y też rośnie, Rs = 0 brak korelacji– gdy X rośnie to Y czasem rośnie a czasem maleje, Rs < 0 korelacja ujemna– gdy X rośnie to Y maleje, Rs < 0.2 – korelacja słaba, 0.2 < Rs < 0.4 – korelacja niska, 0.4 < Rs < 0.6 – korelacja umiarkowana, 0.6 < Rs < 0.8 – korelacja wysoka, 0.8 < Rs < 0.9 – korelacja bardzo wysoka, 0.9 < Rs < 1 - zależność praktycznie pełna

Wysoką dodatnią korelację (Rs: 0,6-0,8) wykazano pomiędzy zaczerwienieniem a zawartością melaniny w grupie placebo odpowiednio przed i po suplementacji oraz pomiędzy zaczerwienieniem skóry po suplementacji w grupie placebo a zawartością melaniny przed suplementacją kolagenem W i pomiędzy zaczerwienieniem przed suplementacją kolagenem W a odpowiednio: zawartością melaniny po suplementacji w grupie placebo i przed oraz po suplementacji w grupie przyjmującej kolagen W. Podobna zależność odnotowano pomiędzy zaczerwienieniem skóry w grupie suplementującej kolagen R przed i po suplementacji z zawartością melaniny po zakończonej suplementacji kolagenem W. Korelacje pomiędzy pH skóry a stopniem nawilżenia oraz zawartością melaniny były słabe.

Tabela 14. Związek pomiędzy parametrami skóry - zaczerwienienia i wartości pH skóry w badanej grupie wolontariuszek (n=30)

Współczynniki korelacji rang Spearmana Rs	Analizowany parametr											
	występowanie zaczerwienienia ER						wartość pH					
	placebo		kolagen W		kolagen R		placebo		kolagen W		kolagen R	
	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po	przed	po
nawilżenie placebo przed	0,032	-0,017	-0,140	0,132	0,053	0,147	0,161	-0,084	0,216	0,216	0,186	0,214
nawilżenie placebo po	0,114	0,231	0,063	0,116	0,218	0,233	0,172	-0,250	0,068	0,029	0,223	0,006
nawilżenie kolagen W przed	0,046	0,047	-0,095	-0,032	-0,030	0,069	0,130	-0,238	0,235	0,165	0,108	0,155
nawilżenie kolagen W po	0,201	0,107	-0,023	0,101	0,136	0,142	-0,010	-0,068	0,041	-0,100	0,045	0,085
nawilżenie kolagen R przed	0,216	0,211	0,033	0,097	0,187	0,238	-0,009	-0,263	0,206	-0,026	0,137	0,087
nawilżenie kolagen R po	0,185	0,235	-0,005	0,111	0,218	0,280	-0,260	-0,284	0,358	0,098	0,179	0,009
MX melanina placebo przed	0,619	0,481	0,476	0,411	0,519	0,333	-0,157	-0,223	0,081	-0,274	0,090	-0,236
MX melanina placebo po	0,515	0,603	0,654	0,500	0,595	0,410	-0,182	-0,207	-0,075	-0,272	0,013	-0,323
MX melanina kolagen W przed	0,437	0,600	0,678	0,472	0,592	0,480	-0,119	-0,252	-0,140	-0,181	0,129	-0,305
MX melanina kolagen W po	0,469	0,566	0,620	0,635	0,618	0,600	-0,331	-0,086	-0,273	-0,010	0,189	-0,325
MX melanina kolagen R przed	0,221	0,381	0,373	0,167	0,555	0,408	-0,249	-0,200	-0,085	-0,185	0,134	-0,106
MX melanina kolagen R po	0,354	0,394	0,369	0,123	0,505	0,324	-0,033	-0,116	-0,083	-0,145	0,022	-0,173
ER zaczerwienie placebo przed		0,441	0,495	0,580	0,677	0,622	-0,259	-0,068	-0,081	-0,208	0,078	-0,378
ER zaczerwienie placebo po	0,441		0,825	0,720	0,756	0,692	-0,030	-0,381	-0,371	-0,178	0,047	-0,203
ER zaczerwienie kolagen W przed	0,495	0,825		0,813	0,757	0,688	-0,149	-0,284	-0,430	-0,072	0,013	-0,383
ER zaczerwienie kolagen W po	0,580	0,720	0,813		0,657	0,714	-0,132	-0,241	-0,273	0,046	0,149	-0,244
ER zaczerwienie kolagen R przed	0,677	0,756	0,757	0,657		0,898	-0,164	-0,086	-0,322	-0,206	0,211	-0,315
ER zaczerwienie kolagen R po	0,622	0,692	0,688	0,714	0,898		-0,148	-0,150	-0,287	-0,033	0,288	-0,189
pH placebo przed	-0,259	-0,030	-0,149	-0,132	-0,164	-0,148		0,237	-0,124	0,220	0,244	0,583
pH placebo po	-0,068	-0,381	-0,284	-0,241	-0,086	-0,150	0,237		0,053	0,178	0,257	0,251
pH kolagen W przed	-0,081	-0,371	-0,430	-0,273	-0,322	-0,287	-0,124	0,053		0,277	0,289	0,257
pH kolagen W po	-0,208	-0,178	-0,072	0,046	-0,206	-0,033	0,220	0,178	0,277		0,274	0,258
pH kolagen R przed	0,078	0,047	0,013	0,149	0,211	0,288	0,244	0,257	0,289	0,274		0,372
pH kolagen R po	-0,378	-0,203	-0,383	-0,244	-0,315	-0,189	0,583	0,251	0,257	0,258	0,372	

*współczynniki korelacji rang Spearmana Rs: Rs > 0 korelacja dodatnia – gdy wartość X rośnie to Y też rośnie, Rs = 0 brak korelacji – gdy X rośnie to Y czasem rośnie a czasem maleje, Rs < 0 korelacja ujemna – gdy X rośnie to Y maleje, Rs < 0,2 – korelacja słaba, 0,2 < Rs < 0,4 – korelacja niska, 0,4 < Rs < 0,6 – korelacja umiarkowana, 0,6 < Rs < 0,8 – korelacja wysoka, 0,8 < Rs < 0,9 – korelacja bardzo wysoka, 0,9 < Rs < 1 - zależność praktycznie pełna

Jak wynika z Tabeli 14 bardzo wysoką dodatnią korelację odnotowano pomiędzy występowaniem zaczerwienienia w grupie suplementującej kolagen R przed i po suplementacji oraz w grupie suplementującej kolagen W przed suplementacją i po suplementacji oraz pomiędzy grupą suplementującą kolagen W przed suplementacją a grupą placebo po suplementacji (Rs: 0,8-0,9). Wysoką lub umiarkowaną dodatnią korelację odnotowano pomiędzy: występowaniem zaczerwienienia w grupie suplementującej kolagen R oraz W do tego obserwowanego po suplementacji odpowiednio w tych grupach badanych oraz w stosunku do grupy placebo. Umiarkowaną ujemną korelację odnotowano pomiędzy pH skóry przed suplementacją kolagenem W a jej stopniem zaczerwienienia w tej grupie również przed suplementacją. PH skóry badanych przed suplementacją placebo było w stopniu umiarkowanym dodatnio skorelowane z pH skóry po suplementacji kolagenem R.

1.3. Ocena sposobu żywienia badanych i ich aktywności fizycznej

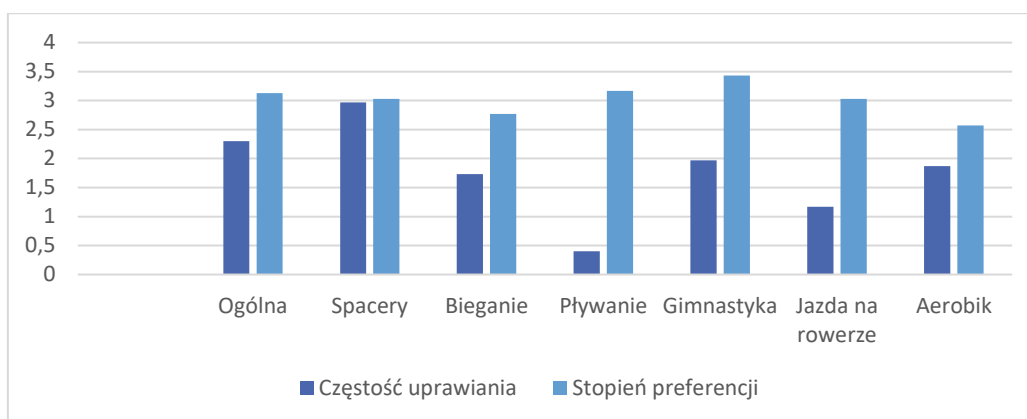
Jak wynika z Tabeli 15 wartość energetyczna diety była niższa w stosunku do zalecanego normami poziomu (88). Spożycie cholesterolu pokarmowego było prawidłowe i nie przekraczało 300 mg/dobę. Udział składników pokarmowych w diecie był niższy od zalecanego, z wyjątkiem białka, węglowodanów i β -karotenu, których odsetek w diecie znacznie przekraczał zalecany poziom odpowiednio: 59,4g, 275g, 800 μ g. Dieta badanych charakteryzowała się również niską podażą błonnika pokarmowego oraz witamin antyoksydacyjnych, co mogło wpływać znacząco na kondycję skóry badanych. Odnotowano także niewystarczającą podaż wapnia, magnezu oraz żelaza (Tabela 13).

Subiektywna ocena aktywności fizycznej przez badanych wykazała, że kobiety chętnie uprawiają aktywność fizyczną i są świadome jej korzystnego wpływu na organizm i samopoczucie. W badanej grupie aż 36% badanych deklarowano chęć spacerów (z czego 33%-2-3 razy w tygodniu a 27% - 1 raz dziennie) 34% gimnastykowanie się (z czego 10% - 1 raz dziennie a 23% - 2-3 razy w tygodniu). Badane kobiety również chętnie uprawiały inne dyscypliny, w których to pływanie i jazda na rowerze mimo stosunkowo małej częstości charakteryzowały się dodatkowo dość wysoką preferencją (Rycina 11).

Tabela 15. Wartość energetyczna diety i podaż wybranych składników pokarmowych w badanej grupie wolontariuszek w odniesieniu do norm żywienia człowieka (n=30)

Analizowany składnik	Średnia	Odch. std.	% zalecanego spożycia
Energia [kcal]	1900	360	84,7
Białko [g]	66	8	110,9
Tłuszcz [g]	36	8	89,5
Cholesterol pokarmowy [mg]	272	62	w normie
Węglowodany [g]	318	34	115,9
Błonnik pokarmowy [g]	20	5	65,7
Wapń [mg]	557	93	55,7
Magnez [mg]	196	61	62,3
Żelazo [mg]	7	1	48,0
Wit. A [μ g]	488	65	69,7
β -karoten [μ g]	4820	570	123,6
Wit. C [mg]	53	13	70,5
Wit. E [mg]	5	1	67,5

*na podstawie Norm Żywienia człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Red. M. Jarosz, B. Bulhak-Jachymczyk. PZWL, Warszawa 2008, przyjęto umiarkowany tryb pracy i zapotrzebowanie energetyczne 2200 kcal/dobę.



*skala od 0-5 dla częstości (0- nie uprawiam, 1- raz w miesiącu, 2- raz w tygodniu, 3- 2-3 razy w tygodniu, 4- 1 raz dziennie, 5- więcej niż 1 raz dziennie)

*skala od 1-5 dla preferencji (1- bardzo nie lubię a 5- bardzo lubię)

Rycina 11. Częstość i stopień preferencji aktywności fizycznej w badanej grupie wolontariuszek (n=30)

Tabela 16. Związek pomiędzy wybranymi parametrami fizyko-chemicznymi skóry a wybranymi składnikami pokarmowymi diety w badanej grupie wolontariuszek (n=30)

Współczynniki korelacji rang Spearmana Rs	zap. energ. na dobę [kcal/dobę]	zawartość w dziennej racji pokarmowej								% zawartość wody	
		białko [g/dobę]	cholesterol pok. [mg/dobę]	węgl. [g/dobę]	błonnik pok. [g/dobę]	magnez [mg/dobę]	β-karoten [μg/dobę]	wit. C [mg/dobę]	wit. E [mg/dobę]	przed suplementacją	po suplementacji
nawilżenie placebo przed	0,297	-0,139	0,209	-0,106	0,294	0,168	-0,053	0,281	0,130	0,245	0,205
nawilżenie placebo po	0,187	-0,025	0,160	0,053	0,122	0,100	-0,174	0,126	-0,132	0,315	0,302
nawilżenie kolagen W przed	0,217	-0,138	0,292	0,039	0,252	0,167	-0,098	0,377	-0,025	0,257	0,233
nawilżenie kolagen W po	0,207	-0,069	0,292	-0,034	0,257	0,381	-0,009	0,178	0,098	0,294	0,265
nawilżenie kolagen R przed	0,135	-0,047	0,387	0,064	0,315	0,073	-0,174	0,332	0,033	0,335	0,319
nawilżenie kolagen R po	0,085	-0,053	0,203	0,164	0,479	0,156	-0,307	0,205	-0,148	0,290	0,247
MX melanina placebo przed	-0,107	0,387	0,466	-0,174	0,050	-0,164	-0,140	-0,002	-0,056	-0,018	0,039
MX melanina placebo po	-0,129	0,546	0,412	-0,166	-0,079	-0,331	-0,116	-0,038	0,016	0,077	0,099
MX melanina kolagen W przed	-0,120	0,417	0,369	-0,162	0,017	-0,483	-0,096	0,035	0,025	0,053	0,075
MX melanina kolagen W po	-0,286	0,493	0,101	-0,077	-0,011	-0,009	0,097	-0,053	-0,319	0,200	0,174
MX melanina kolagen R przed	-0,343	0,081	0,154	0,067	0,121	0,016	-0,101	0,047	-0,143	0,166	0,138
MX melanina kolagen R po	-0,062	0,252	0,256	-0,050	-0,199	-0,047	-0,102	-0,107	0,024	0,279	0,269
ER zaczerwienie placebo przed	-0,047	0,418	0,536	-0,395	-0,174	0,036	-0,213	-0,103	-0,195	0,258	0,280
ER zaczerwienie placebo po	0,008	0,598	0,137	0,130	-0,044	-0,345	-0,146	-0,274	-0,172	0,263	0,267
ER zaczerwienie kolagen W przed	-0,037	0,668	0,338	-0,101	-0,128	-0,437	-0,145	-0,071	-0,081	0,290	0,306
ER zaczerwienie kolagen W po	-0,017	0,690	0,298	-0,188	-0,005	-0,265	-0,017	-0,064	-0,169	0,258	0,264
ER zaczerwienie kolagen R przed	-0,067	0,547	0,346	-0,160	-0,137	-0,197	-0,245	-0,150	-0,159	0,384	0,378
ER zaczerwienie kolagen R po	-0,066	0,465	0,260	-0,105	-0,037	-0,227	-0,215	-0,082	-0,209	0,431	0,412
pH placebo przed	0,390	-0,031	0,046	-0,182	-0,290	-0,054	0,276	0,025	0,475	-0,055	-0,019
pH placebo po	0,241	-0,002	0,156	-0,164	-0,170	0,143	0,324	0,103	0,194	-0,218	-0,202
pH kolagen W przed	0,085	-0,019	0,055	0,185	0,292	0,208	0,018	0,352	-0,094	-0,054	-0,061
pH kolagen W po	0,130	-0,107	0,057	-0,110	0,045	-0,003	-0,032	0,239	0,150	0,062	0,025
pH kolagen R przed	0,052	0,162	0,017	0,052	0,388	0,092	0,254	0,375	-0,098	-0,253	-0,307
pH kolagen R po	0,026	-0,158	-0,124	0,269	0,236	0,146	0,398	0,217	0,245	-0,101	-0,109

*współczynniki korelacji rang Spearmana Rs: Rs > 0 korelacja dodatnia Rs = 0 brak korelacji–Rs < 0 korelacja ujemna–Rs < 0,2 – korelacja słaba, 0,2 < Rs < 0,4 – korelacja niska, 0,4 < Rs < 0,6 – korelacja umiarkowana, 0,6 < Rs < 0,8 – korelacja wysoka, 0,8 < Rs < 0,9 – korelacja bardzo wysoka, 0,9 < Rs < 1 - zależność praktycznie pełna

Związek pomiędzy poszczególnymi składnikami pokarmowymi diety badanych kobiet a uzyskanymi wynikami dotyczącymi parametrów fizyko-chemicznych skóry przedstawiono w Tabeli 16. Wysoką dodatnią korelację (R_s : 0,6-0,8) wykazano pomiędzy spożyciem białka ogółem w diecie badanych a zaczerwienieniem skóry zarówno przed jak i po suplementacji kolagenem W. Z kolei pozytywną umiarkowaną zależność (R_s : 0,4-0,6) odnotowano pomiędzy tymi parametrami w przypadku suplementacji kolagenem R oraz placebo również przed i po zakończonej suplementacji. Dodatkowo, odnotowano umiarkowaną dodatnią korelację pomiędzy podażą białka i zawartością melaniny przed i po suplementacji kolagenem W oraz w grupie placebo po zakończonej suplementacji żywieniowej.

Umiarkowaną dodatnią zależność wykazano pomiędzy podażą cholesterolu pokarmowego a zawartością melaniny w skórze w grupie placebo zarówno przed jak i po suplementacji oraz pomiędzy cholesterolem a zaczerwienieniem skóry przed suplementacją w grupie placebo.

Tabela 17. Zależności pomiędzy wybranymi składnikami pokarmowymi diety oraz udziałem procentowym wody w organizmie badanych osób ($n=30$)

Współczynniki korelacji rang Spearmana R_s	zap. energ. na dobę [kcal/dobę]	zawartość w dziennej racji pokarmowej								% zawartość wody	
		cholesterol pok. [mg/dobę]	węgl. [g/dobę]	błonnik pok. [g/dobę]	żelazo [mg/dobę]	β-karoten [μg/dobę]	wit. A [μg/dobę]	wit. C [mg/dobę]	wit. E [mg/dobę]	przed supl.	po supl.
dzienne spożycie cholesterolu pok. [mg/dobę]	0,207		-0,534	-0,006	0,361	-0,122	0,354	0,354	0,328	0,188	0,234
dzienne spożycie węglowodanów [g/dobę]	-0,146	-0,534		0,267	-0,530	0,053	-0,393	-0,191	-0,512	-0,097	-0,125
dzienne spożycie błonnika pok. [g/dobę]	-0,038	-0,006	0,267		0,001	0,104	-0,085	0,405	-0,149	-0,422	-0,430
dzienne spożycie żelaza [mg/dobę]	0,121	0,361	-0,530	0,001		0,373	0,344	0,332	0,808	0,083	0,096
dzienne spożycie β-karoten [μg/dobę]	-0,111	-0,122	0,053	0,104	0,373		0,124	0,276	0,291	-0,188	-0,154
dzienne spożycie wit. A [μg/dobę]	0,350	0,354	-0,393	-0,085	0,344	0,124		0,127	0,542	0,098	0,115
dzienne spożycie wit. C [mg/dobę]	0,113	0,354	-0,191	0,405	0,332	0,276	0,127		0,392	0,012	-0,015
dzienne spożycie wit. E [mg/dobę]	0,224	0,328	-0,512	-0,149	0,808	0,291	0,542	0,392		0,111	0,138
% zawartość wody przed suplementacją	0,006	0,188	-0,097	-0,422	0,083	-0,188	0,098	0,012	0,111		0,976
% zawartość wody po suplementacji	0,060	0,234	-0,125	-0,430	0,096	-0,154	0,115	-0,015	0,138	0,976	

*współczynniki korelacji rang Spearmana R_s : $R_s > 0$ korelacja dodatnia – gdy wartość X rośnie to Y też rośnie, $R_s = 0$ brak korelacji – gdy X rośnie to Y czasem rośnie a czasem maleje, $R_s < 0$ korelacja ujemna – gdy X rośnie to Y maleje, $R_s < 0,2$ – korelacja słaba, $0,2 < R_s < 0,4$ – korelacja niska, $0,4 < R_s < 0,6$ – korelacja umiarkowana, $0,6 < R_s < 0,8$ – korelacja wysoka, $0,8 < R_s < 0,9$ – korelacja bardzo wysoka, $0,9 < R_s < 1$ – zależność praktycznie pełna

Podaż błonnika była w stopniu umiarkowanym pozytywnie skorelowana z nawilżeniem skóry po skończonej suplementacji kolagenem R. Z kolei, udział magnezu w diecie był w stopniu umiarkowanym negatywnie skorelowany z zawartością melaniny przed suplementacją

kolagenem W. Odnotowano także dodatnią korelację na umiarkowanym poziomie pomiędzy podażą witaminy E a pH skóry w grupie placebo przed rozpoczęciem suplementacji. Ponadto, procentowa zawartość wody w organizmie była w stopniu umiarkowanym dodatnio skorelowana zarówno przed jak i po suplementacji kolagenem R. W przypadku witaminy E i C stwierdzono wyłącznie słabe korelacje z analizowanymi parametrami.

W badanej grupie odnotowano również bardzo wysoką dodatnią korelację pomiędzy spożyciem witaminy E a podażą żelaza ($R_s: 0,8-0,9$) oraz pomiędzy procentowanym udziałem wody przed i po suplementacji. Umiarkowaną dodatnią korelację wykazano pomiędzy podażą błonnika pokarmowego a witaminy C oraz pomiędzy podażą witaminy A i C. Z kolei, ujemne korelacje w stopniu umiarkowanym odnotowano pomiędzy podażą: węglowodanów i cholesterolu pokarmowego, żelaza i węglowodanów ogółem, witaminą E i węglowodanami ogółem, oraz procentową zawartością wody w organizmie (zarówno przed jak i po suplementacji) z podażą błonnika pokarmowego w diecie badanych (Tabela 17).

1.4. Ocena częstości spożycia i preferencji pokarmowych badanych

Ocena częstości spożycia wybranych grup produktów spożywczych oraz stopnia preferencji w skali 1-5 (od 1 – bardzo nie lubię do 5 – bardzo lubię) pozwoliła na scharakteryzowanie badanej grupy w zakresie diety i zwyczajów żywieniowych. Jak wynika z Ryciny 12 (Rycina 12a) z produktów mlecznych najczęściej spożywano produkty mleczne przefermentowane, gdzie 53% kobiet deklarowało częstość ich spożycia 2-3 razy w tygodniu a 13% - 1 raz dziennie; sery twarogowe – 27% badanych deklarowało spożycie 2-3 razy w tygodniu a 47% - 1 raz w tygodniu a 13% - 1 raz dziennie. Sery żółte; 50% badanej grupy spożywało 2-3 razy tygodniowo. W tej grupie produktów najwyższy stopień preferencji posiadały natomiast lody i sery topione.

Wśród produktów zbożowych (Rycina 12b) najczęściej spożywano bułki razowe, które to 40% badanej grupy spożywało 1 raz dziennie a 37% - 2-3 razy tygodniowo i chleb razowy (26% - 1 raz dziennie i 28% - 2-3 razy w tygodniu), co miało prawdopodobnie związek z największymi średnim stopniem preferencji tych produktów spożywczych.

Wśród mięs i produktów mięsnych najczęściej spożywano: chude wędliny (50% badanej grupy z częstością 1 raz dziennie i 17% - 2-3 tygodniowo), oraz mięso drobiowe (50% grupy badanej 2-3 razy w tygodniu), natomiast największy średni stopień preferencji posiadały ryby, wołowina i chude wędliny (Rycina 12c).

Najczęściej do smarowania wykorzystywano masło (gdzie w badanej grupie aż 53% sięgało po ten produkt codziennie a 27% - 2-3 razy w tygodniu) a jako dodatek do

przygotowania potraw oliwę z oliwek (80% badanych wykorzystywało ten produkt 2-3 razy w tygodniu a 13% - 1 raz w tygodniu), olej rzepakowy (63% badanych używało ten produkt 2-3 razy w tygodniu) i słonecznikowy (77% badanych sięgało po ten produkt 2-3 razy w tygodniu), co miało również swoje odzwierciedlenie w preferowaniu tych tłuszczów pokarmowych przez badanych (Rycina 12d). Badane kobiety preferowały w swojej strukturze spożycia wszystkie owoce i warzywa z wymienionych w ankiecie (Rycina 12e i Rycina 12f) w mało zróżnicowanym stopniu, na podobnie wysokim poziomie i z częstością spożycia w większości 2-3 razy tygodniowo, która jednak zależała od sezonowego ich występowania.

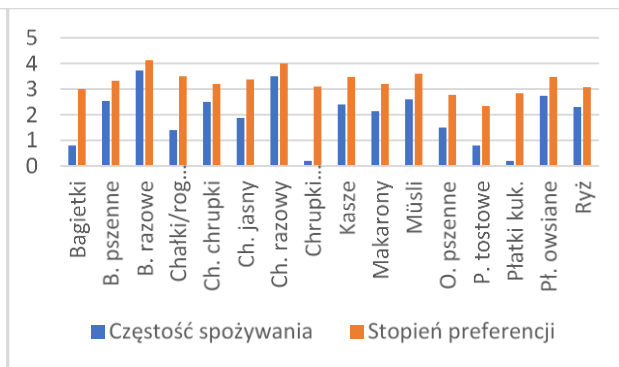
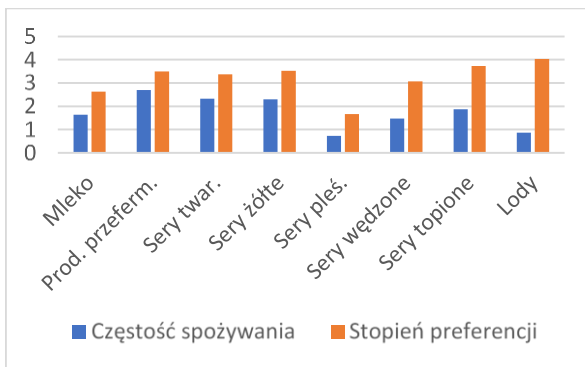
Wśród słodczy i przekąsek preferowano czekoladę i często sięgano po orzeszki jako przekąskę (Rycina 12g)

Badane kobiety w celu zaspokojenia pragnienia najczęściej wybierały wodę (83% kobiet częściej niż 1 raz dziennie a 20% - 1 raz dziennie) oraz czarną herbatę (63% częściej niż 1 raz dziennie, a 20% - 1 raz dziennie). Największym stopniem preferencji cieszyła się w badanej grupie kawa, po którą 67% badanych sięgało kilka razy dziennie a 7% - 1 raz dziennie.

Natomiast z napojów alkoholowych największą częstością spożycia charakteryzowało się wino – gdzie 40% badanych deklarowało spożycie 2-3 razy w tygodniu oraz whisky (27% kobiet) (Rycina 12h). Miało to swoje odzwierciedlenie w preferencji tych napojów.

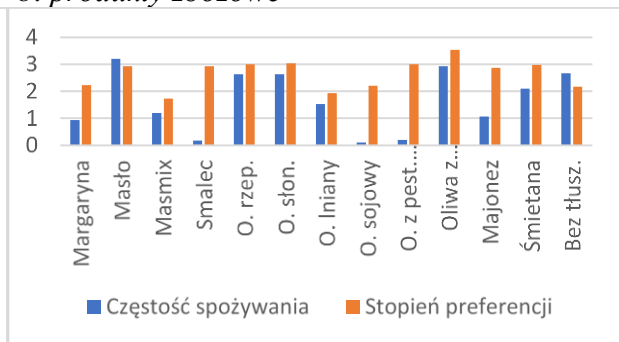
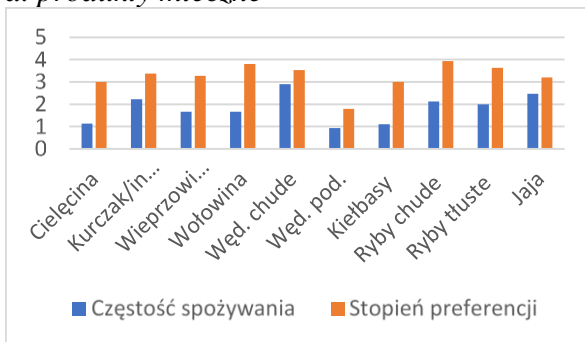
Wśród technik obróbki termicznej żywności najczęściej wykorzystywano: gotowanie w wodzie (10% w badanej grupie stosowało tę technikę więcej niż 1 raz dziennie, 17% - 1 raz dziennie i 67% - 2-3 razy w tygodniu) i smażenie (gdzie 47% w badanej grupie 2-3 razy w tygodniu). Uzyskane wyniki w zakresie częstości spożycia związane były jednocześnie z wysoką preferencją tych technik kulinarnych przez badane kobiety (Rycina 13). Z uwagi na czynną aktywność zawodową wszystkich badanych równie częste jak i popularne wśród badanych kobiet było odgrzewanie potraw.

W badanej grupie kluczowymi determinantami zakupu danego produktu była: świeżość (29%) oraz wpływ na zdrowie danego produktu spożywczego (17%) i cena jednostkowa (14%). Reklama czy nowość na rynku danego produktu nie były tak istotne dla badanych kobiet podczas dokonywania zakupów produktów spożywczych (Rycina 14).



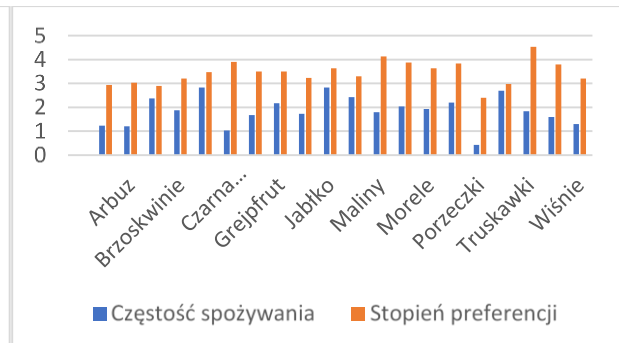
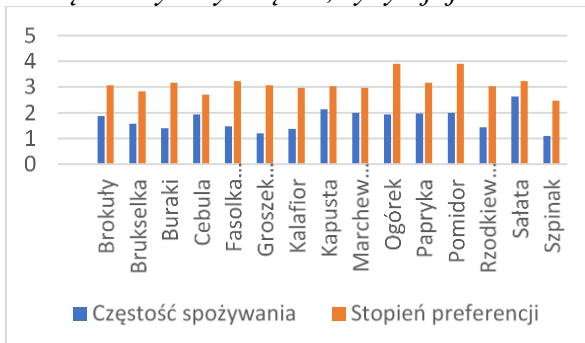
a. produkty mleczne

b. produkty zbożowe



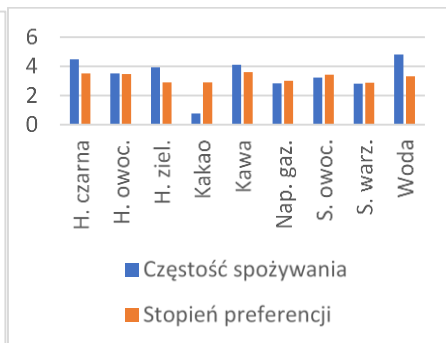
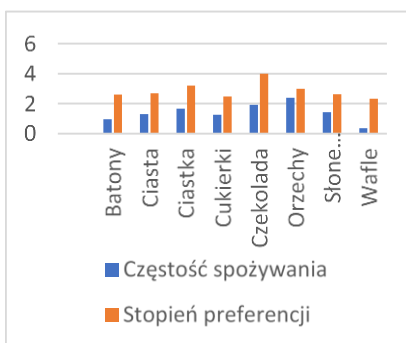
c. mięso i wyroby mięsne, ryby i jaja

d. tłuszcze



e. warzywa

f. owoce



g. przekąski i słodczyce

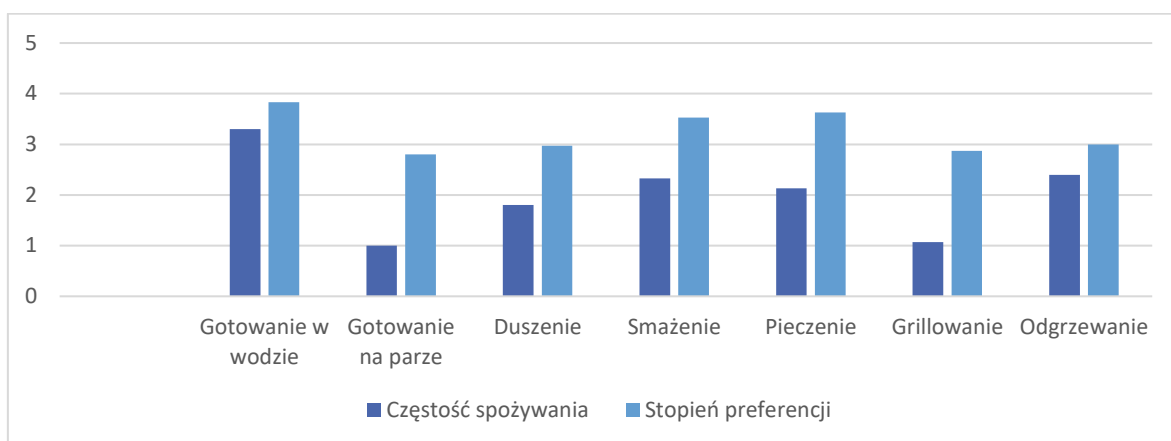
h. napoje

i. alkohole

*skala od 0-5 dla częstości (0- nie stosuję, 1- raz w miesiącu, 2- raz w tygodniu, 3- 2-3 razy w tygodniu, 4- 1 raz dziennie, 5- więcej niż 1 raz dziennie)

*skala od 1-5 dla preferencji (1- bardzo nie lubię a 5- bardzo lubię)

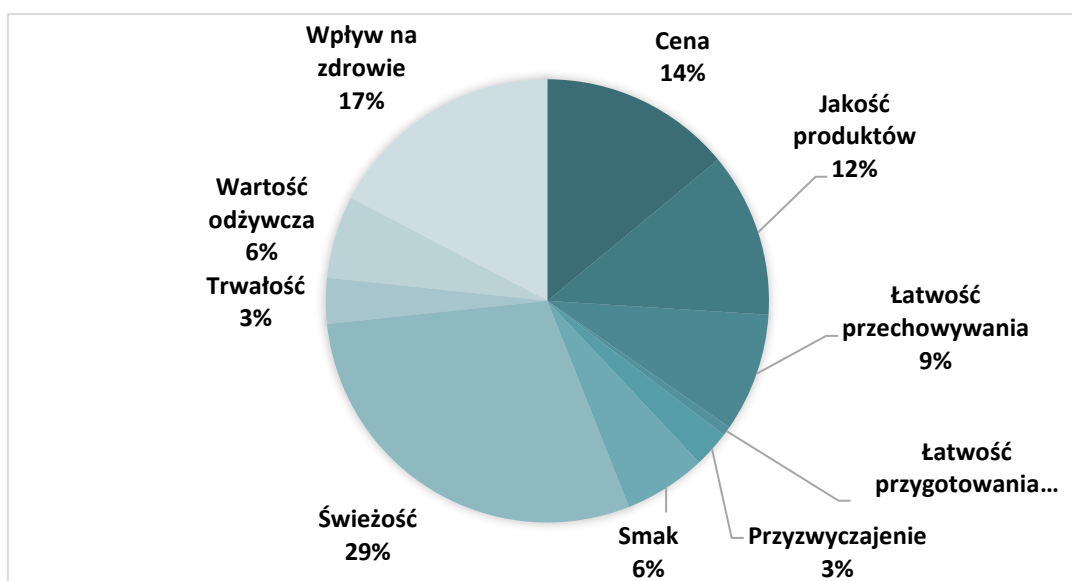
Rycina 12. Częstość i preferencje spożycia wybranych grup produktów spożywczych (a. produkty mleczne, b. produkty zbożowe, c. mięso i wyroby mięsne, ryby i jaja, d. tłuszcze, e. warzywa, f. owoce, g. przekąski/słodczyce, h. napoje, i. alkohole) w badanej grupie wolontariuszek (n=30)



*skala od 0-5 dla częstości (0- nie stosuję, 1- raz w miesiącu, 2- raz w tygodniu, 3- 2-3 razy w tygodniu, 4- 1 raz dziennie, 5- więcej niż 1 raz dziennie)

*skala od 1-5 dla preferencji (1- bardzo nie lubię a 5- bardzo lubię)

Rycina 13. Częstość stosowania i stopień preferencji techniki obróbki termicznej stosowanej do przygotowywania potraw w badanej grupie wolontariuszek (n=30)



Rycina 14. Czynniki wpływające na wybór produktów spożywczych w badanej grupie wolontariuszek (n=30)

VII. Dyskusja

Młody wygląd, z dobrze zachowaną skórą bez objawów zmęczenia i oznak starzenia się jest pożądanym nie tylko wśród kobiet, ale także wśród mężczyzn, bez względu na przynależność społeczną, czy pochodzenie (1). W związku z tym znacząco rośnie zapotrzebowanie na zabiegi medycyny estetycznej poprawiające właściwości fizyko-chemiczne skóry i coraz częściej stosuje się suplementy diety jak: kolagen czy hydrolizaty kolagenu w celu poprawy kondycji skóry (2). W niniejszej pracy przedstawiono korzystny wpływ suplementacji zarówno kolagenem wieprzowym jak i rybim na kondycję skóry oraz na uwodnienie organizmu i pozytywne odczucie postrzegania własnej „witalności” skóry.

Analiza sposobu żywienia badanych kobiet wykazała niską wartość energetyczną diety, która wyłącznie w 84,7% pokrywała zalecany normami poziom (88). Fakt, ten prawdopodobnie wynikał z wieku badanych kobiet (25-47 lat), które z uwagi na aktywność zawodową nie miały czasu na dojadanie pomiędzy posiłkami. Dodatkowo, osoby badane preferowały produkty o niskiej zawartości tłuszczu w diecie (chude mięsa i wędliny, produkty mleczne przefermentowane, napoje bez dodatku cukru). Badane kobiety posiadały wykształcenie wyższe (83%) zamieszkiwały duże miasta i w większości oceniały swój status materialny jako dobry, co mogło mieć istotny wpływ na strukturę spożywanych pokarmów. Ta charakterystyka badanej grupy może bowiem wskazywać na wyższą świadomość konsumentek w zakresie zdrowego żywienia (ograniczenie spożycia wysokotłuszczowych i wysoko energetycznych produktów), łatwiejszy dostęp do informacji na temat zdrowej żywności czy z uwagi na dobrą kondycję finansową na możliwość zakupu produktów spożywczych o lepszej jakości. Potwierdzają to wyniki badań innych autorów (89,90), którzy również wskazują te determinanty jako istotne w sposobie żywienia kobiet będących w wieku reprodukcyjnym. Badania nad sposobem żywienia, przede wszystkim młodych osób, wskazują, że przeciętne spożycie mleka i jego przetworów wśród wolontariuszek jest znacznie niższe od zalecanego (91). Spadek konsumpcji mleka i przetworów mlecznych obserwowany jest od początku lat 90 i może wpływać na obserwowane obniżone spożycie wapnia w badanej grupie kobiet. Potwierdzają to również wyniki badań innych autorów (92). Dodatkowo, bardzo często wybierany model żywienia wegetariańskiego w tej grupie wiekowej osób (93) związany jest z ograniczeniem konsumpcji mięsa, którego ograniczenie choć z jednej strony jest korzystne to jednak z drugiej może być niedoborowe biorąc pod uwagę spożycie żelaza, stąd istotne jest, aby w diecie pojawiły się dobre inne źródła pokarmowe tego pierwiastka (94,95). Niedobory tego mikroelementu bowiem mogą powodować obniżenie funkcji układu immunologicznego, wydolności fizycznej, a także prowadzić do niedokrwistości niedobarwliwej (88). Z kolei,

obserwowana w badanej grupie kobiet preferencja do spożywania pieczywa razowego, będącego dobrym źródłem błonnika pokarmowego, czy czystej wody bezpośrednio mogła być związana z poprawą uwodnienia badanych.

Odnotowane już w trakcie tak krótkiego czasu trwania badania (6-tygodni) w badanej grupie wolontariuszek korzystne zmiany w zakresie uwodnienia organizmu mogły również przełożyć się na poprawę kondycji skóry badanych kobiet. Powszechnie wiadomo, że woda jest niezbędnym składnikiem organizmu i ułatwia utrzymanie stanu homeostazy i funkcjonowanie wielu tkanek (96). Pełni głównie rolę substancji odżywczej, rozpuszczalnika, nośnika transportowego i reguluje temperaturę ciała (97). Brak wody w organizmie może powodować odwodnienie tkanek i zaburzenia czynnościowe (takie jak starzenie się i stan zapalny) (98). Wygląd skóry jest bezpośrednim odzwierciedleniem stanu odżywienia organizmu. Sposób suplementacji kolagenu wieprzowego (rozpuszczenie w 200 ml wody), mógł przyczynić się do zwiększenia poziomu zawartości wody w organizmie i częściowo wpłynąć na poprawę nawilżenia skóry a u osób z niskim początkowym nawodnieniem mógł również wpłynąć na poprawę grubości i gęstości skóry (99) czy skompensować przezskórną utratę wody i poprawić nawilżenie skóry (100). Nawilżenie skóry z kolei związane jest z zawartością wody w tkance, a ta bezpośrednio wiąże się z zawartością kwasu hialuronowego, jednej z najbardziej higroskopijnych cząsteczek, występujących w naturze, posiadającą zdolność wiązania wody po 1000-kroć swojej własnej masy (101). Nie bez znaczenia jest budowa przestrzenna kwasu hialurynowego przypominająca budowę kolagenu; będąca helisą polisacharydową; w której to w wielowymiarową strukturę wbudowana jest większość cząsteczek wody, a jedynie część cząsteczek wody wiąże się za pomocą mostków wodorowych (101). Obecność kwasu w skórze jest pokrewna z obecnością kolagenu - w skórze właściwej zlokalizowany jest on bowiem w warstwie brodawkowatej, w mikrofibrylach kolagenu, a także między włóknami kolagenowymi i sprężystymi (102), w której to występująca tam zawartość stanowi ponad połowę zasobów całego organizmu (103). Kwas hialurynowy odgrywa istotną rolę w równowadze nawodnienia właśnie ze względu na swoje właściwości zatrzymywania wody (104), a tym samym przyczynia się do nawilżenia i plastyczności skóry. Występuje on również w naskórku, gdzie z kolei wiąże się z przestrzenią zewnątrzkomórkową przez CD44 i może odgrywać rolę w funkcji bariery naskórkowej i ochronnej (105). Synteza tej substancji odbywa się w wewnętrznej błonie plazmatycznej i jest zależna od aktywności trzech syntaz hialuranianowych HAS (HAS-1, -2, -3) (106). Degradacja zachodzi przeciwnie dzięki rodzinie HYAL, HYAL-1 i -2, które są kwasowo aktywnymi enzymami znajdującymi się w błonie komórkowej (107). Badania dowodzą, że napromieniowanie UVB indukuje utratę kwasu hialurynowego w skórze właściwej i prowadzi do hamowania funkcji fibroblastów skórnych, takich jak hamowanie

migracji i proliferacji (108). Podobne wyniki uzyskano w badaniach (109) z udziałem myszy, w których wykazano, że ekspresja białka i mRNA HAS1 i HAS2 zmniejszyła się w skórze mysz poddawanych promieniowaniu UVB, a obniżony poziom kwasu hialurynowego był prawdopodobnie spowodowany zmniejszoną jego syntezą. Co niezwykle istotne w tym samym badaniu podawanie myszom hydrolizatu kolagenu skutkowało zwiększoną zawartością kwasu hialurynowego w skórze właściwej i zwiększyło poziomy białka HAS1 i HAS2 w porównaniu z grupą kontrolną. Potwierdzeniem tej zależności, jest również badanie Asserin i wsp. (110), w którym to suplementacja peptydów kolagenowych bardzo wyraźnie i znacznie zwiększyła ilość glikozoaminoglikanów (której reprezentantem jest kwas hialurynowy) w naskórku w sposób zależny od dawki. Ponadto, stwierdzono, że peptydy z kolagenu rybnego w połączeniu z glukozaminą i witaminą C zwiększają nawilżenie i elastyczność skóry po 6 tygodniach badania u kobiet z suchą skórą (111). Skala poprawy nawilżenia skóry wydaje się jednak być zależna również od dawki suplementowanych peptydów kolagenu, co potwierdzono w badaniach Iwai i wsp. (103) już po 4 tygodniach suplementacji kolagenem wieprzowym i rybnym.

Należy podkreślić, że suplementacja preparatów kolagenu (zarówno wieprzowego jak i rybnego) odbywała się doustnie, co jest również istotne z punktu widzenia fizjologii żywienia człowieka. W przypadku przyswajania przez przewód pokarmowy hydrolizatów kolagenu małe peptydy pochodzące z kolagenu (takie jak tripeptyd Gly-Pro-Hyp) można wykryć w ludzkiej krwi, w której to maksymalne stężenie występuje 1-2 godziny po spożyciu (112–114). Gly-Pro-Hyp są łatwo wchłaniane poprzez śródbłonek jelita w nienaruszonej postaci zarówno u zwierząt (50) jak i u ludzi (113), gdzie pozostaje w osoczu przez kilka godzin, a maksymalne stężenie osiąga około 2–4 godziny po podaniu. Stężenie to utrzymuje się znacznie dłużej w skórze niż w innych tkankach organizmu (50). Z kolei dipeptyd Pro-Hyp, który nie jest trawiony przez peptydazę został wykryty we krwi wraz z Gly-Pro-Hyp, co sugeruje, że Pro-Hyp pochodzi z Gly-Pro-Hyp (113,114). Przeniesienie zastosowania funkcjonalnego i budulcowego Pro-Hyp na skórę może stymulować migrację i wzrost fibroblastów, wywierając w ten sposób korzystny wpływ na funkcjonowanie skóry, ponieważ fibroblasty skórne umożliwiają syntezę kolagenu i włókien elastycznych (105-108). Ponadto niektóre badania *in vitro* wykazały, że Pro-Hyp i Pro-Hyp-Gly mają działanie chemotaktyczne na ludzki fibroblast oraz neutrofile i monocyty krwi obwodowej w systemie hodowli komórkowej (114,117).

Wyniki badań uzyskane podczas suplementacji kolagenem W jak i kolagenem R sugerują korzystny wpływ kolagenu na skórę, co wynika prawdopodobnie ze skutecznego wchłaniania peptydów oraz ich aktywności biologicznej. Należy również podkreślić, że zawartość proliny i hydroksyproliny w obu typach kolagenu była różna w badaniach własnych i wynosiła dla kolagenu W odpowiednio: 13,92 i 8,16 a dla kolagenu R: 13,55 i 5,68 g/100g

białka, co również mogło wpłynąć na nieco zróżnicowany charakter suplementacji. Uzyskane parametry nawilżenia skóry w grupie suplementującej kolagen wieprzowy vs kolagen rybi wydają się być związane ze zróżnicowanym składem aminokwasowym, co potwierdza również badanie Ohara i wsp. (118). Wzrost wydzielania kwasu hialuronowego zaobserwowano w odpowiedzi na prolinę – hydroksyprolinę, co było związane ze zwiększoną ekspresją syntazy kwasu hialuronowego HAS 2, kluczowego enzymu syntezy kwasu hialuronowego. Związek między indukowaną ekspresją HAS a poprawą nawilżenia skóry u ludzi stwierdzono również w badaniach z wykorzystaniem polifenoli pochodzenia roślinnego (119). Przekonujące dane kliniczne dotyczące poprawy syntezy i struktury kolagenu skórniego pod wpływem suplementacji hydrolizatem kolagenu pochodzenia morskiego, a także poprawy elastyczności skóry uzyskał również De Luca (120), a uzyskane w jego badaniach efekty potwierdzały wzrost poziomu hydroksyproliny w osoczu ogólnoustrojowym. Prawie 100% ludzkiej Hyp znajduje się w kolagenie, ponieważ jest ona pochodną proliny, oba aminokwasy są niezbędne do biosyntezy kolagenu, jego dojrzewania, sposobu kształtowania i syntezy struktury włókna kolagenowego (113). Spożycie proliny w diecie (mleko i jego przetwory, jaja, mięso i podroby, rośliny strączkowe, żelatyna, orzechy) sprzyja naprawie tkanek u ludzi i zwierząt (121). Wang i wsp. (122) sugeruje, że peptydy kolagenu pochodzenia morskiego mogą poprawić syntezę i dojrzewanie kolagenu poprzez indukcję ekspresji transformującego czynnika wzrostu beta-1 (TGF- β 1) i podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF). Potwierdzają to również wcześniejsze wyniki badań, w których to szczury karmione były hydrolizatami kolagenowymi pochodzącymi ze skóry łososia lub pstrąga (122), a uzyskane poziomy hydroksyproliny w osoczu w postaci wolnych aminokwasów lub dipeptydów (Pro-Hyp) były znacznie zwiększone już po jednorazowym spożyciu hydrolizatów kolagenu wraz z olejem sojowym. Podobne obserwacje w zakresie zmian stężenia Hyp i peptydów zawierających Hyp we krwi uzyskano w badaniach na zdrowych ochotnikach (123). Należy zatem wnioskować, że oba hydrolizaty kolagenu (kolagen W i kolagen R) zwiększają zawartość kolagenu w skórze ludzkiej, zmieniając równowagę między produkcją a degradacją kolagenu w fibroblastach skóry. Zhydrolizowany kolagen obecny w obydwu preparatach jest przede wszystkim typu I, pochodzącym ze skór i kości wieprzowych (kolagen W) czy skór i łusek rybich (kolagen R) i reprezentuje ten sam typ - jak w skórze właściwej. Jak wynika z badań (124) hydroliza kolagenu bydlęcego daje charakterystyczne bioaktywne peptydy krótkołańcuchowe, które charakteryzują się wysokim podobieństwem swojego profilu aminokwasowego do profilu aminokwasowego ludzkiego kolagenu I. Potwierdza to analiza (124), w której to przy pomocy chromatografii cieczowej i spektrometrii mas wykazano podobieństwo do ludzkiego profilu aminokwasów w ilościach : 31% dla łańcuchów alfa 1 kolagenu typu I, 18% dla łańcuchów alfa

2 kolagenu typu I i 13% dla łańcuchów alfa 1 kolagenu typu III. Kolagen wieprzowy uzyskał największe podobieństwo tego profilu aminokwasowego w porównaniu do peptydów kolagenowych uzyskanymi ze świń (odpowiednio z 4% do 20%), kurczaków (odpowiednio z 7% do 16%) czy pochodzenia morskiego (odpowiednio z 6% do 11%).

W ocenie subiektywnej opartej na skali satysfakcji VAS, badane kobiety wskazały również na znaczącą poprawę takich cech skóry jak: gładkość, elastyczność, jędrność, nawilżenie, odżywienie, witalność a także liczby zmarszczek. Istotne zmiany statystyczne wystąpiły w grupach suplementujących oba typy kolagenu, natomiast zmian nie odnotowano w grupie placebo. Na poprawę parametrów skórnych takich jak: elastyczność, sprężystość i wytrzymałość wpływają głównie sieci kolagenu i elastycznych włókien w macierzy pozakomórkowej w skórze właściwej, a to właśnie jej kondycja najbardziej przyczynia się do elastyczności skóry (125). Dlatego doustne przyjmowanie preparatów kolagenu mogło również wpływać korzystnie na zawartość włókien kolagenowych i elastycznych w skórze poprzez obniżenie działania metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, redukując tym samym liczbę zmarszczek i inne niepożądane cechy skóry. W innych badaniach ocena wizualna skóry (126) przeprowadzona w licznej grupie (n=113) wykazała znaczne zmniejszenie liczby zmarszczek podczas suplementacji kolagenem pochodzącym z kurcząt oraz z kurzych łapek dodatkowo wzrosła elastyczność skóry, a zawartość kolagenu w skórze istotnie wzrosła o 12%. Skóra nabrała młodzieńczego wyglądu a szerokość zmarszczek istotnie się zmniejszyła.

Innym czynnikiem, który wpływa na parametry fizyko-chemiczne skóry jest między innymi promieniowanie UV, które może przyczynić się do powstania mikro-uszkodzeń skóry, powodując objawy przedwczesnego fotostarzenia. Istnieją badania, które sugerują, że aż 80% starzenia się twarzy wynika z ekspozycji na słońce, chociaż nie bez znaczenia pozostają inne czynniki, takie jak choćby palenie papierosów (42). Wrażliwość na promieniowanie UV jest uwarunkowana ilością melaniny w skórze, swoistego fotoprotektora, który pochłania promieniowanie UV w zakresie UVA i UVB i przekształca je w energię ciepłą. Tym samym podwyższona synteza melaniny stanowi dodatkowy filtr ochronny osłabiający penetrację UV przez naskórek oraz tworzy granicę fizyczną przed przenikaniem UV w głąb skóry (43,44). Okres, w którym prowadzono niniejsze badania (wiosenno-letni) mógł wpłynąć na odnotowane wysokie dodatnie korelacje pomiędzy zawartością melaniny przed i po suplementacji w poszczególnych grupach wskazując jednocześnie na wzmożoną syntezę tego składnika w skórze z uwagi na zwiększoną ekspozycję skóry na promieniowanie słoneczne. Oceniając fotoprotekcyjne efekty suplementacji hydrolizatami kolagenowymi, należy również przytoczyć badania Tanaka i wsp. (127) w których to suplementacja hydrolizatami kolagenu rybiego w modelu przewlekłego naświetlania myszy UVA + UVB, skutkowała zwiększoną odpornością

skóry, zmniejszeniu utraty wody zawartej w skórze, a co ważne przywróceniem prawidłowej ilości i struktury kolagenu skórniego i elastyny. Ponadto suplementacją ta pomagała utrzymać prawidłowy stosunek kolagenu typu III do I w skórze. W podobnym modelu eksperymentalnym Zhuang i wsp. (128) wykazali ochronne działanie hydrolizatu kolagenu na aktywność enzymów przeciwutleniających oraz zawartość glutationu, lipidów i hydroksyproliny w skórze myszy. Udowodniono, że poziom reaktywnych form tlenu (ROS) jest znacznie podwyższony w ludzkiej skórze po 15-minutowej ekspozycji na promieniowanie UV (125, 126), co w następstwie może aktywować szlaki sygnałowe skorelowane z specyficznym czynnikiem wiążącym AP-1 i jądrowym czynnikiem transkrypcyjnym NF- κ B (130), które to wzmacniają ekspresję genów MMP (np. MMP-1, MMP-3) i hamują syntezę kolagenu (131).

W ostatnio opublikowanym badaniu Ling i wsp. (132) udowodnili, że doustna suplementacja hydrolizatem kolagenu rybiego wyraźnie zwiększa aktywność mitochondrialną fibroblastów o 36,1 % (dla suplementu kolagenu w stężeniu 0,5%) w grupie nie poddanej działaniu promieniowania UV vs 105,4% w grupie poddanej promieniowaniu. Podobne wyniki uzyskano w odniesieniu do syntezy kolagenu, która była wyższa o 22,5% w grupie poddanej suplementacji vs do grupy placebo oraz dla elastyny, gdzie uzyskano większą syntezę o 10,9% w grupie badanej vs do grupy placebo. W przypadku obu składników ich synteza nasilała się na skutek promieniowania UV i wynosiła odpowiednio 24,9% i 17,6% więcej vs w stosunku do grupy placebo. Świadczy to o znaczącym działaniu fotoprotekcyjnym, które to zwiększa aktywność fibroblastów, nasila syntezę składników odpowiedzialnych za „witalność” skóry, a także redukuje poziom ROS nawet o 2,4-krotnie w grupie poddanej suplementacji kolagenem (132).

Innym mechanizmem obronnym skóry, który jest istotnym czynnikiem w utrzymaniu funkcji i integralności warstwy rogowej naskórka, a także tym, który stanowi pierwszą linię obrony organizmu przed czynnikami środowiskowymi jest również pH (133,134). Odnotowane w badaniach własnych istotne zmiany (wzrost pH) mogły być spowodowane promieniowaniem UV, które to zaburza funkcję barierową skóry wpływającą na elementy międzykomórkowe warstwy rogowej naskórka, takie jak lipidy międzykomórkowe i korneodesmosomy (134).

Należy jednak wspomnieć o ograniczeniach przeprowadzonego badania, które wynikają chociażby z braku zaślepienia przyjmowanych suplementów diety oraz braku obiektywnej oceny liczby zmarszczek (wykorzystano wyłącznie subiektywną skalę oceny - VAS). Nie mniej jednak w trakcie trwania badania wolontariuszki nie zmieniały swojego sposobu żywienia ani nie stosowały żadnych diet czy też kosmetyków jak i innych zabiegów medycyny estetycznej w miejscu poddanym badaniu, co mogło by mieć istotne znaczenie dla interpretacji uzyskanych wyników badań.

Podsumowując, suplementacja kolagenem wywiera korzystny wpływ na kondycję skóry. Efekty otrzymywane w zakresie poprawy parametrów fizyko-chemicznych skóry podczas suplementacji kolagenem wieprzowym i rybim są zbliżone. Forma spożycia suplementu wpłynęła na wysoką przyswajalność kolagenów oraz poprawę uwodnienia w przypadku kolagenu wieprzowego. Wykorzystanie nowoczesnych technik analitycznych “omics” może przyczynić się do opisanego metabolizmu kolagenu w organizmie ludzkim oraz wpłynąć na celowane stosowanie tych suplementów w wybranych grupach pacjentów cierpiących na choroby dermatologiczne o podłożu zapalnym.

VIII. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. Wartość energetyczna diety w badanej grupie wolontariuszek była niższa w stosunku do zalecanego normami poziomu. Spożycie cholesterolu pokarmowego było prawidłowe, udział składników pokarmowych w diecie był niższy od zalecanego, z wyjątkiem białka, węglowodanów i β -karotenu.
2. Suplementacja kolagenem wieprzowym oraz kolagenem rybim i podanie placebo wpłynęło na istotny statystycznie wzrost procentowej zawartości wody w organizmie badanych kobiet. Nie odnotowano istotnych zmian w zakresie masy ciała, procentowej zawartości tkanki tłuszczowej, parametrów BMI i WHR.
3. Podczas suplementacji hydrolizatem kolagenu wieprzowego oraz kolagenem rybim w badanej grupie odnotowano poprawę fizyko-chemicznych parametrów skórnych takich jak: nawilżenie, jędrność i elastyczność, co świadczy o pozytywnym wpływie obu kolagenów na skórę. Odnotowano również zmianę w zawartości melaniny i zaczerwienienia w skórze co może wynikać z okresu wiosenno-letniego, w którym to prowadzono badania.
4. W ocenie subiektywnej badane osoby deklarowały zarówno po suplementacji kolagenem wieprzowym jak i kolagenem rybim poprawę takich parametrów skóry tj. gładkość, elastyczność, jędrność, nawilżenie, odżywienie, witalność i liczby zmarszczek.

IX. Streszczenie

Dieta a wpływ suplementacji kolagenem na zmiany stanu odżywienia, kondycji skóry u zdrowych wolontariuszek

Suplementacja produktami zawierającymi kolagen może potencjalnie stymulować anabolizm macierzy zewnątrzkomórkowej. Prowadzić tym samym do wzrostu biosyntezy kolagenu w skórze poprzez wykorzystanie wchłoniętych produktów degradacji jako substratów oraz do promowania procesów naprawczych. Wpływ korzystnego działania hydrolizatów kolagenu różnego pochodzenia jest przedmiotem badań. Niestety w wielu przypadkach badania te mają charakter cząstkowy i nie uwzględniają parametrów oceny stanu odżywienia i sposobu żywienia i często dotyczą wąskiej grupy badanej stosującej inne zabiegi medycyny estetycznej wpływającej bezpośrednio na kondycję skóry. Dlatego podjęte badania miały na celu ocenę wpływu suplementacji dwoma rodzajami hydrolizatów kolagenu pochodzenia wieprzowego i kolagenu rybiego na parametry fizyko-chemiczne skóry.

W randomizowanym badaniu krzyżowym wzięło udział łącznie 30 wolontariuszek, które po uwzględnieniu kryteriów włączenia i wyłączenia zostały zakwalifikowane do jednej z 3 grup badawczych: suplementacja kolagenem wieprzowym przez okres 40 dni lub suplementacja kolagenem rybim przez okres 40 dni lub grupa kontrolna spożywająca tylko wodę przez okres 40 dni (grupa placebo). Każda z wolontariuszek przeszła przez wszystkie 3 etapy badania. Kobiety przyjmowały suplement 1 raz dziennie w godzinach rannych w planowanym czasie trwania badania przez okres 40 dni, z przerwą 40-dniową pomiędzy kolejnymi etapami suplementacji (*ang. wash-out*). W grupie suplementującej kolagen W jednorazowa dzienna dawka preparatu (hydrolizat żelatynowy naturalnego pochodzenia firmy Gelita A.G. Eberbach, Niemcy) wynosiła 5g i była spożywana po rozpuszczeniu w 200 ml wody. Natomiast w grupie kolagen R jednorazowa dzienna dawka preparatu rybiego wynosiła 5 ml i przyjmowana była bezpośrednio do jamy ustnej. Grupa placebo była grupą spożywającą wyłącznie 200 ml wody raz dziennie. U badanych kobiet wykonano pomiary antropometryczne: masy ciała, wysokości ciała, obwodu talii, obwodu bioder, oraz obliczono wskaźnik BMI i WHR. Ponadto przeprowadzono ocenę stanu odżywienia (Tanita BC-601, Tanita Europe BV, Amsterdam, Holandia) i sposobu żywienia (3-dniowy wywiad żywieniowy). Subiektywną oceną skuteczności suplementacji przeprowadzono z wykorzystaniem skali satysfakcji VAS (*eng. therapeutic response*). Oceny parametrów fizyko-

chemicznych takich jak: nawilżenie, elastyczność, zawartość melaniny, występowanie zaczerwienienia czy zmiany parametru pH skóry oraz ich zmian w trakcie suplementacji dokonano przy pomocy aparatu Cutometer dual MPA 580 (Courage + Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy) oraz odpowiednich sond. Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego STATISTICA 10 PL (Kraków, Polska).

Suplementacja zarówno kolagen W jak i kolagen R wpłynęła na istotną poprawę nawilżenia skóry, jej jędrność i elastyczność. Porównanie uzyskanych wyników po suplementacji w każdej z grup wskazuje na istotnie mocniejszy efekt suplementacji kolagenem W w porównaniu z placebo oraz kolagenem R w zakresie wzrostu wartości pH, zawartości melaniny oraz poprawy nawilżenia skóry. Podobnie subiektywna ocena stanu skóry wykazała istotną poprawę witalności skóry i korzystny wpływ suplementacji kolagenem na odżywienie i gładkość skóry w przypadku stosowania obu preparatów kolagenu, a parametry te pozostawały bez wpływu w grupie placebo. Uzyskane efekty były zbliżone przy porównaniu skuteczności obu preparatów kolagenowych przez badanych po zakończonych okresach suplementacji kolagenem W i kolagenem R. W ocenie stanu odżywienia, po zakończonej suplementacji (kolagen W, kolagen R i placebo) odnotowano istotne zmiany w zakresie % zawartości wody w organizmie badanych kobiet ($p < 0,0001$) oraz istotny wzrost w szacunkowym zapotrzebowaniu energetycznym badanych na dobę ($p = 0,0443$) w porównaniu do okresu sprzed rozpoczęcia suplementacji. Ocena preferencji żywieniowych badanych kobiet wykazała prozdrowotne zachowania żywieniowe, co było związane z obniżoną wartością energetyczną diety i jej dobrym zbilansowaniem.

Podsumowując, suplementacja hydrolizatem kolagenu W oraz R najprawdopodobniej wpłynęła korzystnie na zmianę równowagi pomiędzy produkcją a degradacją kolagenu w fibroblastach skórnych, przyczyniła się do nasilenia syntezy kolagenu w skórze, a tym samym do poprawy jej parametrów i wyglądu. Nie bez znaczenia jest również fotoprotekcyjne działanie suplementacji hydrolizatami kolagenu, które to przyczyniło się do poprawy kondycji skóry.

Słowa kluczowe: kolagen rybi, kolagen wieprzowy, stan odżywienia, nawodnienie, elastyczność, nawilżenie

Abstract

Diet and the influence of collagen supplementation on changes in nutritional status, skin condition in healthy volunteers

Supplementation with products containing collagen can potentially stimulate extracellular matrix anabolism. This will lead to an increase in collagen biosynthesis in the skin through the use of absorbed degradation products as substrates and promote repair processes. The effect of beneficial effects of collagen hydrolysates of various origins is being studied. Unfortunately, in many cases, these studies are partial in nature and do not take into account the parameters for the assessment of nutrition and diet and often involve a narrow group of subjects using other aesthetic medicine treatments directly affecting the condition of the skin. Therefore, the study was undertaken to assess the effect of supplementation with two types of collagen hydrolysates of pork origin (collagen W) and fish collagen (collagen R) on the physical and chemical parameters of the skin.

A total of 30 volunteers took part in the randomised cross-over study and, taking into account the inclusion and exclusion criteria, were classified in one of three study groups: pork collagen supplementation for 40 days or fish collagen supplementation for 40 days or a control group consuming only water for 40 days (placebo group). Each volunteer went through all 3 stages of the study. The women took the supplement once a day in the morning during the planned duration of the study for 40 days, with a 40-day break between successive stages of supplementation. (wash-out). In the collagen W supplement group, a single daily dose of the preparation (gelatin hydrolysate of natural origin of Gelita A. G. Eberbach, Germany) was 5g and was consumed after dissolution in 200 ml of water. In collagen R group a single daily dose of fish preparation was 5 ml and was taken directly to the mouth. The placebo group was a group that consumed only 200 ml of water once a day. In the examined women, anthropometric measurements were assessed: body weight, body height, waist circumference, hip circumference – where BMI and WHR were calculated. In addition, the evaluation of nutritional status (Tanita BC-601, Tanita Europe BV, Amsterdam, the Netherlands) and diet (3-day nutritional history) was performed. Subjective evaluation of the effectiveness of supplementation (eng. the therapeutic response) was evaluated by means of a questionnaire according to the developed protocol. Physicochemical parameters such as: hydration, elasticity, melanin content, occurrence of redness or changes in skin pH parameter and their changes

during supplementation were evaluated using Cutometer dual MPA 580 (Courage + Khazaka Electronic GmbH, Cologne, Germany) and XXX. Statistical calculations were performed using statistical package STATISTICA 10 PL (Cracow, Poland).

The supplementation of both collagen W and collagen R has significantly improved skin hydration, firmness and elasticity. Comparison of the results obtained after supplementation in each group indicates a significantly stronger effect of collagen supplementation compared to placebo and collagen R in terms of increase in pH value, melanin content and improvement of skin hydration. Similarly, subjective evaluation of skin condition showed a significant improvement in skin vitality and a beneficial effect of collagen supplementation on skin nutrition and smoothness when both collagen preparations were used, and these parameters were not affected in the placebo group. The obtained effects were similar when comparing the efficacy of both collagen preparations by the subjects after completed periods of supplementation with collagen W and collagen R. In the evaluation of nutritional status, after completion of supplementation (collagen W, collagen R and placebo), significant changes in the percentage of water content in the body of the examined women ($p < 0.0001$) and a significant increase in the estimated energy demand of the examined women per day ($p = 0.0443$) compared to the period before the beginning of supplementation were noted. The evaluation of dietary preferences of the examined women showed pro-healthy dietary behaviours, which was associated with a reduced energy value of the diet and its good balance.

To sum up, supplementation with collagen hydrolysate W and R most probably had a positive effect on the balance between production and degradation of collagen in skin fibroblasts, contributed to the intensification of collagen synthesis in the skin and thus to the improvement of its parameters and appearance. Not without significance is also the photoprotective effect of supplementation with collagen hydrolysates, which has contributed to the improvement of skin condition.

Keywords: fish collagen, pork collagen, nutritional status, hydration, flexibility, hydration

X. Piśmiennictwo

1. Blanpain C, Fuchs E. Epidermal Stem Cells of the Skin. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2006;22(1):339–73.
2. Boelsma E, van de Vijver LP, Goldbohm RA, Klöpping-Ketelaars IA, Hendriks HF, Roza L. Human skin condition and its associations with nutrient concentrations in serum and diet. *Am J Clin Nutr*. 1 luty 2003;77(2):348–55.
3. Hofmann H, Fietzek PP, Kühn K. The role of polar and hydrophobic interactions for the molecular packing of type I collagen: A three-dimensional evaluation of the amino acid sequence. *Journal of Molecular Biology*. 25 październik 1978;125(2):137–65.
4. Fisher GJ, Wang ZQ, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N Engl J Med*. 13 listopad 1997;337(20):1419–28.
5. Taylor CR, Stern RS, Leyden JJ, Gilchrest BA. Photoaging/photodamage and photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1 styczeń 1990;22(1):1–15.
6. Chen J-K, Shen C-R, Liu C-L. N-acetylglucosamine: production and applications. *Mar Drugs*. 15 wrzesień 2010;8(9):2493–516.
7. Gordon MK, Hahn RA. Collagens. *Cell Tissue Res*. 20 sierpień 2009;339(1):247.
8. Kühn K. The collagen family-variations in the molecular and supermolecular structure. *Rheumatology*, 10 (1986). :22–69.
9. Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem*. 2009;78:929–58.
10. Kuzan A, Chwiłkowska A. Heterogeneity and functions of collagen In arteries. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*. 1 sierpień 2011;31:111–3.
11. Exposito J-Y, Valcourt U, Cluzel C, Lethias C. The Fibrillar Collagen Family. *Int J Mol Sci*. 28 styczeń 2010;11(2):407–26.
12. Pietrucha K, Zychowicz M, Podobinska M, Buzanska L. Functional properties of different collagen scaffolds to create a biomimetic niche for neurally committed human induced pluripotent stem cells (iPSC). *Folia Neuropathol*. 2017;55(2):110–23.
13. Banaś M, Pietrucha K. Typy i struktura białka kolagenowego. *Zesz Nauk PŁ Chem Spoż Biotechnol* 2009. 73:93–103.

14. Kubisz L, Hojan-Jeziarska D, Szewczyk M, Majewska A, Kawałkiewicz W, Pankowski E, i in. In vivo electrical impedance measurement in human skin assessment. *Pure and Applied Chemistry*. 25 wrzesień 2019;91(9):1481–91.
15. Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev*. 28 listopad 2003;55(12):1531–46.
16. Brinckmann J. *Collagens at a Glance*. W: *Topics in current chemistry*. 2005. s. 1–6.
17. Niyibizi C, Eyre D. Bone type V collagen: chain composition and location of a trypsin cleavage site. *Connect Tissue Res*. 20 (1989):247–50.
18. Mark K. *Structure, Biosynthesis and Gene Regulation of Collagens in Cartilage and Bone*. W: *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. 2006. s. 3–40.
19. Mendler M, Eich-Bender SG, Vaughan L, Winterhalter KH, Bruckner P. Cartilage contains mixed fibrils of collagen types II, IX, and XI. *J Cell Biol*. styczeń 1989;108(1):191–7.
20. Bruckner P, van der Rest M. Structure and function of cartilage collagens. *Microsc Res Tech*. 1 sierpień 1994;28(5):378–84.
21. Rossert J, DECROMBRUGGHE B. *Type I Collagen Structure, Synthesis, and Regulation*. W: *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. 2002. s. 189–210.
22. von der Mark K. *Localization of Collagen Types in Tissues* *Dedicated to Peter Dehm, 1941–1980*. W: Hall DA, Jackson DS, redaktorzy. *International Review of Connective Tissue Research*. Elsevier; 1981. s. 265–324.
23. Birk DE, Fitch JM, Babiarz JP, Linsenmayer TF. Collagen type I and type V are present in the same fibril in the avian corneal stroma. *J Cell Biol*. marzec 1988;106(3):999–1008.
24. Kłyszajko-Stefanowicz L. *Cytobiochemia. Biochemia niektórych struktur komórkowych. Macierz zewnątrzkomórkowa*. Wydawnictwo Naukowe PWN. 2002;169–218.
25. Hulmes DJS. *Collagen Diversity, Synthesis and Assembly*. Fratzl P, redaktor. *Collagen: Structure and Mechanics*. Springer, New York 2008;15–49.
26. Keene DR, Engvall E, Glanville RW. Ultrastructure of type VI collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network. *J Cell Biol*. listopad 1988;107(5):1995–2006.
27. Schmid TM, Linsenmayer TF. Developmental acquisition of type X collagen in the embryonic chick tibiotarsus. *Dev Biol*. luty 1985;107(2):373–81.
28. Schmid TM, Linsenmayer TF. Immunoelectron microscopy of type X collagen: Supramolecular forms within embryonic chick cartilage. *Developmental Biology*. 1 marzec 1990;138(1):53–62.
29. Yamaguchi N, Mayne R, Ninomiya Y. The alpha 1 (VIII) collagen gene is homologous to the alpha 1 (X) collagen gene and contains a large exon encoding the entire triple helical and carboxyl-terminal non-triple helical domains of the alpha 1 (VIII) polypeptide. *J Biol Chem*. 5 marzec 1991;266(7):4508–13.

30. Ricard-Blum S, Ruggiero F. The collagen superfamily: from the extracellular matrix to the cell membrane. *Pathol Biol.* wrzesień 2005;53(7):430–42.
31. Parenteau-Bareil R, Gauvin R, Berthod F. Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *Materials.* marzec 2010;3(3):1863–87.
32. Wagenaar-Miller RA, Engelholm LH, Gavard J, Yamada SS, Gutkind JS, Behrendt N, i in. Complementary Roles of Intracellular and Pericellular Collagen Degradation Pathways In Vivo. *Mol Cell Biol.* wrzesień 2007;27(18):6309–22.
33. Anna Wasilewska, Katarzyna Taranta-Janusz, Walentyna Zoch-Zwierz, Agnieszka Rybi-Szumińska, Zbigniew Kołodziejczyk. Rola metaloproteinaz (MMP) i ich tkankowych inhibitorów (TIMP) w nefrologii. *Przegląd Lekarski.* 2009;66(9):485–90.
34. Zelaszczyk D, Waszkielewicz A, Marona H. Kolagen – struktura oraz zastosowanie w kosmetologii i medycynie estetycznej. *Estetologia Medyczna i Kosmetologia.* 1 stycznia 2012;14–20.
35. Konopska B, Gołąb K, Gburek J. Endocytoza niezależna od klatryny – rola w patomechanizmie chorób i aspekty farmaceutyczne. *Postepy Hig Med Dosw.* 2015;(69):763–76.
36. Silver FH, Freeman JW, DeVore D. Viscoelastic properties of human skin and processed dermis. *Skin Research and Technology.* 2001;7(1):18–23.
37. Adamski Z, Kaszuba A. *Dermatologia dla kosmetologów.* Wrocław 2010: Elsevier Urban & Partner;
38. Imke Barbara Peters. *Kosmetyka. Podręcznik do nauki zawodu. Poradnik.* Warszawa 2006: Verlag H. Stam GmbH, Koln;
39. Maria Noszczyk. *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska. PZWL.* Warszawa 2010;
40. Dylewska-Grzelakowska Joanna. *Kosmetyka stosowana.* Warszawa 1999: Wydawnictwa Szkolne i Pedagogiczne;
41. Uitto J, Fazio MJ, Olsen DR. Molecular mechanisms of cutaneous aging. Age-associated connective tissue alterations in the dermis. *J Am Acad Dermatol.* wrzesień 1989;21(3 Pt 2):614–22.
42. Kadunce DP, Burr R, Gress R, Kanner R, Lyon JL, Zone JJ. Cigarette smoking: risk factor for premature facial wrinkling. *Ann Intern Med.* 15 maj 1991;114(10):840–4.
43. Brenner M, Hearing VJ. The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin. *Photochem Photobiol.* 2008;84(3):539–49.
44. Park HY, Kosmadaki M, Yaar M, Gilchrist BA. Cellular mechanisms regulating human melanogenesis. *Cell Mol Life Sci.* maj 2009;66(9):1493–506.
45. Fornalczyk-Wachowska E, Kuliński W. Wpływ promieniowania nadfioletowego na zjawiska odpornościowe zachodzące w skórze. *Balneologia Polska* 2007. T. 1.
46. Rass K, Reichrath J. UV Damage and DNA Repair in Malignant Melanoma and Nonmelanoma Skin Cancer. W: Reichrath J, redaktor. *Sunlight, Vitamin D and Skin*

- Cancer. New York, NY: Springer; 2008. s. 162–78. (Advances in Experimental Medicine and Biology).
47. Moriwaki S, Takahashi Y. Photoaging and DNA repair. *Journal of Dermatological Science*. 1 czerwiec 2008;50(3):169–76.
 48. Bernstein EF, Brown DB, Urbach F, Forbes D, Del Monaco M, Wu M, i in. Ultraviolet radiation activates the human elastin promoter in transgenic mice: a novel in vivo and in vitro model of cutaneous photoaging. *J Invest Dermatol*. sierpień 1995;105(2):269–73.
 49. Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinases. *Bioessays*. lipiec 1992;14(7):455–63.
 50. Watanabe-Kamiyama M, Shimizu M, Kamiyama S, Taguchi Y, Sone H, Morimatsu F, i in. Absorption and effectiveness of orally administered low molecular weight collagen hydrolysate in rats. *J Agric Food Chem*. 27 styczeń 2010;58(2):835–41.
 51. Druml W, Lochs H, Roth E, Hubl W, Balcke P, Lenz K. Utilization of tyrosine dipeptides and acetyltyrosine in normal and uremic humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 1 luty 1991;260(2):E280–5.
 52. Borumand M, Sibilla S. Daily consumption of the collagen supplement Pure Gold Collagen® reduces visible signs of aging. *Clin Interv Aging*. 13 październik 2014;9:1747–58.
 53. Kim D-U, Chung H-C, Choi J, Sakai Y, Lee B-Y. Oral Intake of Low-Molecular-Weight Collagen Peptide Improves Hydration, Elasticity, and Wrinkling in Human Skin: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Nutrients*. 26 czerwiec 2018;10(7).
 54. Schlippe G, Bolke L, Voss W. Einfluss oraler Einnahme von Kollagen-Peptiden auf relevante Parameter der Hautalterung: Hautfeuchtigkeit, Hautelastizität und Hautraugigkeit. *Akt Dermatol*. grudzień 2015;41(12):529–34.
 55. Sluyter J, Schaaf D, Scragg R, Plank L. Sluyter JD, Schaaf D, Scragg RKR, Plank LD. Prediction of fatness by standing 8-electrode bioimpedance: A multiethnic adolescent population. *Obesity* 18, 183-189. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 1 czerwiec 2009;18:183–9.
 56. Kuhlmann MK, Zhu F, Seibert E, Levin NW. Bioimpedance, dry weight and blood pressure control: new methods and consequences. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. listopad 2005;14(6):543–9.
 57. Lee K, Lee S, Kim Y-J, Kim Y-J. Waist circumference, dual-energy X-ray absorptiometrically measured abdominal adiposity, and computed tomographically derived intra-abdominal fat area on detecting metabolic risk factors in obese women. *Nutrition*. 1 lipiec 2008;24(7):625–31.
 58. Rush EC, Puniani K, Valencia ME, Davies PSW, Plank LD. Estimation of body fatness from body mass index and bioelectrical impedance: comparison of New Zealand European, Maori and Pacific Island children. *European Journal of Clinical Nutrition*. listopad 2003;57(11):1394–401.

59. Buendia R, Seoane F, Lindecrantz K, Bosaeus I, Gil-Pita R, Johannsson G, i in. Estimation of body fluids with bioimpedance spectroscopy: state of the art methods and proposal of novel methods. *Physiol Meas.* wrzesień 2015;36(10):2171–2187.
60. Matthie J, Zarowitz B, De Lorenzo A, Andreoli A, Katzarski K, Pan G, i in. Analytic assessment of the various bioimpedance methods used to estimate body water. *Journal of Applied Physiology.* 1 maj 1998;84(5):1801–16.
61. Gronemeyer SA, Steen RG, Kauffman WM, Reddick WE, Glass JO. Fast adipose tissue (FAT) assessment by MRI. *Magn Reson Imaging.* wrzesień 2000;18(7):815–8.
62. Major-Gołuch A, Miazgowski T, Krzyżanowska-Świniarska B, Safranow K, Hajduk A. Porównanie pomiarów masy tłuszczu u młodych zdrowych kobiet z prawidłową masą ciała za pomocą impedancji bioelektrycznej i densytometrii. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii.* 2010;6(4):189–95.
63. Davies L, Chappell P, Melvin T. Modelling the effect of hydration on skin conductivity. *Skin Research and Technology.* 2017;23(3):363–8.
64. Kalia YN, Pirot F, Guy RH. Homogeneous transport in a heterogeneous membrane: water diffusion across human stratum corneum in vivo. *Biophys J.* listopad 1996;71(5):2692–700.
65. Birgersson U, Birgersson E, Peter \AAberg, Nicander I, Ollmar S. Non-invasive bioimpedance of intact skin: mathematical modeling and experiments. *Physiol Meas.* listopad 2010;32(1):1–18.
66. Dujardin N, Staes E, Kalia Y, Clarys P, Guy R, Pr at V. In vivo assessment of skin electroporation using square wave pulses. *Journal of Controlled Release.* 19 luty 2002;79(1):219–27.
67. Ghosh S, Mahadevappa M, Mukhopadhyay J. A 2D electrode-skin model for electrical contact impedance characterization of Bio Impedance. W: 2016 IEEE Region 10 Conference (TENCON). 2016. s. 2292–5.
68. Clemente F, Arpaia P, Manna C. Characterization of human skin impedance after electrical treatment for transdermal drug delivery. *Measurement.* 1 listopad 2013;46(9):3494–501.
69. Alanen E, Lahtinen T, Nuutinen J. Penetration of electromagnetic fields of an open-ended coaxial probe between 1 MHz and 1 GHz in dielectric skin measurements. *Phys Med Biol.* styczeń 1999;44(7):N169–N176.
70. Blair C. Morphology and Thickness of the Human Stratum Corneum. *British Journal of Dermatology.* 1968;80(7):430–6.
71. Yamamoto T, Yamamoto Y. Electrical properties of the epidermal stratum corneum. *Med Biol Eng.* marzec 1976;14(2):151–8.
72. McAdams ET, Jossinet J. Tissue impedance: a historical overview. *Physiol Meas.* sierpień 1995;16(3A):A1–A13.

73. Ivanic R, Novotny I, Rehacek V, Tvarozek V, Weis M. Thin film non-symmetric microelectrode array for impedance monitoring of human skin. *Thin Solid Films*. 2003;433(1):332–6.
74. Kartono F, Maibach HI. Irritants in combination with a synergistic or additive effect on the skin response: an overview of tandem irritation studies. *Contact Dermatitis*. 2006;54(6):303–12.
75. Fluhr JW, Darlenski R, Angelova-Fischer I, Tsankov N, Basketter D. *Skin Irritation and Sensitization: Mechanisms and New Approaches for Risk Assessment*. SPP. 2008;21(3):124–35.
76. Verdier-Sévrain S, Bonté F. Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2007;6(2):75–82.
77. Humbert P, Fanian F, Maibach HI, Agache A, redaktorzy. *Agache's Measuring the Skin: Non-invasive Investigations, Physiology, Normal Constants*. 2. wyd. Springer International Publishing; 2017.
78. Shriver MD, Parra EJ. Comparison of narrow-band reflectance spectroscopy and tristimulus colorimetry for measurements of skin and hair color in persons of different biological ancestry. *Am J Phys Anthropol*. maj 2000;112(1):17–27.
79. Takiwaki H, Miyaoka Y, Kohno H, Arase S. Graphic analysis of the relationship between skin colour change and variations in the amounts of melanin and haemoglobin. *Skin Res Technol*. maj 2002;8(2):78–83.
80. Lim SH, Kim SM, Lee YW, Ahn KJ, Choe YB. Change of biophysical properties of the skin caused by ultraviolet radiation-induced photodamage in Koreans. *Skin Res Technol*. luty 2008;14(1):93–102.
81. Li L, Mac-Mary S, Marsaut D, Sainthillier JM, Nouveau S, Gharbi T, i in. Age-related changes in skin topography and microcirculation. *Arch Dermatol Res*. marzec 2006;297(9):412–6.
82. Berardesca E, Cameli N, Primavera G, Carrera M. Clinical and instrumental evaluation of skin improvement after treatment with a new 50% pyruvic acid peel. *Dermatol Surg*. kwiecień 2006;32(4):526–31.
83. Evans SR. Clinical trial structures. *J Exp Stroke Transl Med*. 9 luty 2010;3(1):8–18.
84. Gauza-Włodarczyk M, Kubisz L, Włodarczyk D. Amino acid composition in determination of collagen origin and assessment of physical factors effects. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1 listopad 2017;104:987–91.
85. WHO :: Global Database on Body Mass Index [Internet]. [cytowane 30 styczeń 2020]. Dostępne na: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html
86. Bedogni G, Malavolti M, Severi S, Poli M, Mussi C, Fantuzzi AL, i in. Accuracy of an eight-point tactile-electrode impedance method in the assessment of total body water. *European Journal of Clinical Nutrition*. listopad 2002;56(11):1143–8.
87. Jolanta Charzewska. Instrukcja przeprowadzania wywiadu o spożyciu z 24 godzin. Zakład Epidemiologii Żywnienia IŻŻ. Warszawa 1997;

88. Jarosz Mirosław, Barbara Bułhak-Jachymczyk. Normy żywienia człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Warszawa 2008: PZWL Wydawnictwo Lekarskie;
89. Crino M, Sacks G, Vandevijvere S, Swinburn B, Neal B. The Influence on Population Weight Gain and Obesity of the Macronutrient Composition and Energy Density of the Food Supply. *Curr Obes Rep.* marzec 2015;4(1):1–10.
90. Schröder H, Marrugat J, Covas MI. High monetary costs of dietary patterns associated with lower body mass index: a population-based study. *Int J Obes (Lond).* październik 2006;30(10):1574–9.
91. Marzec Z, Marzec A, Wyszogrodzka-Koma L, Buczek A. Ocena pobrania wapnia, magnezu, sodu i potasu z całodziennymi racjami pokarmowymi studentów z uwzględnieniem suplementacji. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna.* 2012;45(3).
92. Waśkiewicz A, Sygnowska E. Jakość żywienia dorosłych mieszkańców Polski w aspekcie ryzyka chorób układu krążenia - wyniki badania WOBASZ. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna.* 2008;XLI(3):395–8.
93. Position of the American Dietetic Association: Vegetarian Diets. *Journal of the American Dietetic Association.* 1 lipiec 2009;109(7):1266–82.
94. Gornicka M, Gronowska-Senger A. Ocena zmian w spożyciu wybranych składników pokarmowych w latach 1990-2000 w Polsce. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm.* 2003;30(1–2):328–34.
95. Włodarek D, Sobocińska A, Głębska D. Podaż wapnia z produktów mlecznych w diecie kobiet po 60 roku życia. *Bromat chem toksykol.* 2012;XLV(2):833–8.
96. Curtis MD. Foundations of College Chemistry (Murphy, Daniel B.; Rousseau, Viateur). *J Chem Educ.* listopad 1969;46(11):791.
97. Popkin BM, D'Anci KE, Rosenberg IH. Water, hydration, and health. *Nutr Rev.* 1 sierpień 2010;68(8):439–58.
98. Trangmar SJ, González-Alonso J. Heat, Hydration and the Human Brain, Heart and Skeletal Muscles. *Sports Med.* 1 luty 2019;49(1):69–85.
99. Williams S, Krueger N, Davids M, Kraus D, Kerscher M. Effect of fluid intake on skin physiology: distinct differences between drinking mineral water and tap water. *International Journal of Cosmetic Science.* 2007;29(2):131–8.
100. Mac-Mary S, Creidi P, Marsaut D, Courderot-Masuyer C, Cochet V, Gharbi T, i in. Assessment of effects of an additional dietary natural mineral water uptake on skin hydration in healthy subjects by dynamic barrier function measurements and clinic scoring. *Skin Research and Technology.* 2006;12(3):199–205.
101. Scott JE. Supramolecular organization of extracellular matrix glycosaminoglycans, in vitro and in the tissues. *FASEB J.* czerwiec 1992;6(9):2639–45.
102. Olejnik A, Gościńska J, Nowak I. Znaczenie kwasu hialuronowego w przemyśle kosmetycznym i medycynie estetycznej. *Chemik.* 2012;Vol. 66(nr 2):129–35.

103. Reed RK, Lilja K, Laurent TC. Hyaluronan in the rat with special reference to the skin. *Acta Physiol Scand.* listopad 1988;134(3):405–11.
104. Wiest L, Kerscher M. Native hyaluronic acid in dermatology – results of an expert meeting. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft.* 2008;6(3):176–80.
105. Sakai S, Yasuda R, Sayo T, Inoue S, Ishikawa O. Hyaluronan Exists in the Normal Stratum Corneum. *Journal of Investigative Dermatology.* 1 czerwiec 2000;114(6):1184–7.
106. Itano N, Kimata K. Mammalian Hyaluronan Synthases. *IUBMB Life.* 2002;54(4):195–9.
107. Csoka AB, Frost GI, Stern R. The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biology.* 1 grudzień 2001;20(8):499–508.
108. Dai G, Freudenberger T, Zipper P, Melchior A, Grether-Beck S, Rabausch B, i in. Chronic Ultraviolet B Irradiation Causes Loss of Hyaluronic Acid from Mouse Dermis Because of Down-Regulation of Hyaluronic Acid Synthases. *The American Journal of Pathology.* 1 listopad 2007;171(5):1451–61.
109. Kang MC, Yumnam S, Kim SY. Oral Intake of Collagen Peptide Attenuates Ultraviolet B Irradiation-Induced Skin Dehydration In Vivo by Regulating Hyaluronic Acid Synthesis. *Int J Mol Sci.* 11 listopad 2018;19(11).
110. Asserin J, Lati E, Shioya T, Prawitt J. The effect of oral collagen peptide supplementation on skin moisture and the dermal collagen network: evidence from an ex vivo model and randomized, placebo-controlled clinical trials. *Journal of Cosmetic Dermatology.* 2015;14(4):291–301.
111. Matsumoto H. Clinical effects of fish type I collagen hydrolysate on skin properties. *ITE Lett Batter New Technol Med.* 2006;7:386–90.
112. Iwai K, Hasegawa T, Taguchi Y, Morimatsu F, Sato K, Nakamura Y, i in. Identification of food-derived collagen peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates. *J Agric Food Chem.* 10 sierpień 2005;53(16):6531–6.
113. Yamamoto S, Deguchi K, Onuma M, Numata N, Sakai Y. Absorption and Urinary Excretion of Peptides after Collagen Tripeptide Ingestion in Humans. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2016;39(3):428–34.
114. Yazaki M, Ito Y, Yamada M, Goulas S, Teramoto S, Nakaya M, i in. 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.* 22 marzec 2017;65(11):2315–22.
115. Makpol S, Azura Jam F, Anum Mohd Yusof Y, Zurinah Wan Ngah W. Modulation of collagen synthesis and its gene expression in human skin fibroblasts by tocotrienol-rich fraction. *Arch Med Sci.* październik 2011;7(5):889–95.
116. Turakainen H, Larjava H, Saarni H, Penttinen R. Synthesis of hyaluronic acid and collagen in skin fibroblasts cultures from patients with osteogenesis imperfecta. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects.* 1 styczeń 1980;628:388–97.

117. Taga Y, Kusubata M, Ogawa-Goto K, Hattori S. Identification of Collagen-Derived Hydroxyproline (Hyp)-Containing Cyclic Dipeptides with High Oral Bioavailability: Efficient Formation of Cyclo(X-Hyp) from X-Hyp-Gly-Type Tripeptides by Heating. *J Agric Food Chem.* 1 listopad 2017;65(43):9514–21.
118. Ohara H, Ichikawa S, Matsumoto H, Akiyama M, Fujimoto N, Kobayashi T, i in. Collagen-derived dipeptide, proline-hydroxyproline, stimulates cell proliferation and hyaluronic acid synthesis in cultured human dermal fibroblasts. *The Journal of Dermatology.* 2010;37(4):330–8.
119. Marini A, Grether-Beck S, Jaenicke T, Weber M, Burki C, Formann P, i in. Pycnogenol® Effects on Skin Elasticity and Hydration Coincide with Increased Gene Expressions of Collagen Type I and Hyaluronic Acid Synthase in Women. *SPP.* 2012;25(2):86–92.
120. De Luca C, Mikhal'chik EV, Suprun MV, Papacharalambous M, Truhanov AI, Korkina LG. Skin Antiageing and Systemic Redox Effects of Supplementation with Marine Collagen Peptides and Plant-Derived Antioxidants: A Single-Blind Case-Control Clinical Study. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;
121. Albaugh VL, Mukherjee K, Barbul A. Proline Precursors and Collagen Synthesis: Biochemical Challenges of Nutrient Supplementation and Wound Healing. *J Nutr.* listopad 2017;147(11):2011–7.
122. Wang J, Xu M, Liang R, Zhao M, Zhang Z, Li Y. Oral administration of marine collagen peptides prepared from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) improves wound healing following cesarean section in rats. *Food & Nutrition Research.* 1 styczeń 2015;59(1):26411.
123. Ohara H, Matsumoto H, Ito K, Iwai K, Sato K. Comparison of Quantity and Structures of Hydroxyproline-Containing Peptides in Human Blood after Oral Ingestion of Gelatin Hydrolysates from Different Sources. *J Agric Food Chem.* 1 luty 2007;55(4):1532–5.
124. Hong H, Fan H, Chalamaiah M, Wu J. Preparation of low-molecular-weight, collagen hydrolysates (peptides): Current progress, challenges, and future perspectives. *Food Chemistry.* 15 grudzień 2019;301:125222.
125. Ishikawa T, Ishikawa O, Miyachi Y. Measurement of Skin Elastic Properties with a New Suction Device (I): Relationship to Age, Sex and the Degree of Obesity in Normal Individuals. *The Journal of Dermatology.* 1995;22(10):713–7.
126. Schwartz SR, Hammon KA, Gafner A, Dahl A, Guttman N, Fong M, i in. Novel Hydrolyzed Chicken Sternal Cartilage Extract Improves Facial Epidermis and Connective Tissue in Healthy Adult Females: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Altern Ther Health Med.* wrzesień 2019;25(5):12–29.
127. Tanaka M, Koyama Y, Nomura Y. Effects of Collagen Peptide Ingestion on UV-B-Induced Skin Damage. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* 23 kwiecień 2009;73(4):930–2.
128. Zhuang Y, Hou H, Zhao X, Zhang Z, Li B. Effects of Collagen and Collagen Hydrolysate from Jellyfish (*Rhopilema esculentum*) on Mice Skin Photoaging Induced by UV Irradiation. *Journal of Food Science.* 2009;74(6):183–8.

129. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, i in. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol.* listopad 2002;138(11):1462–70.
130. Bickers DR, Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol.* grudzień 2006;126(12):2565–75.
131. Pittayapruek P, Meehansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci.* 2 czerwiec 2016;17(6).
132. Lin P, Hua N, Hsu Y-C, Kan K-W, Chen J-H, Lin Y-H, i in. Oral Collagen Drink for Antiaging: Antioxidation, Facilitation of the Increase of Collagen Synthesis, and Improvement of Protein Folding and DNA Repair in Human Skin Fibroblasts. *Oxid Med Cell Longev.* 11 maj 2020;
133. Kostyuk V, Potapovich A, Stancato A, De Luca C, Lulli D, Pastore S, i in. Photo-Oxidation Products of Skin Surface Squalene Mediate Metabolic and Inflammatory Responses to Solar UV in Human Keratinocytes. *PLoS One.* 30 sierpień 2012;7(8).
134. Bindoli A, Rigobello MP. Principles in Redox Signaling: From Chemistry to Functional Significance. *Antioxidants & Redox Signaling.* 17 grudzień 2012;18(13):1557–93.

XI. Spis Rycin

Rycina 1. Budowa i rodzaje poszczególnych grup kolagenów (1).....	7
Rycina 2. Etapy degradacji kolagenu w drodze zewnątrzkomórkowej (26).....	16
Rycina 3. Endocytoza receptorowa w komórce (28).....	16
Rycina 4. Warstwy naskórka (31).....	17
Rycina 5. Mechanizmy obronne skóry na działanie promieni słonecznych (39).....	19
Rycina 6. Przenikanie poszczególnych pasm promieniowania przez kolejne warstwy skóry (38).....	20
Rycina 7. Mechanizmy ochronne puli kolagenu zachodzące w tkankach (43).....	21
Rycina 8. Zmiany zachodzące w strukturze włókien kolagenowych i elastyny pod wpływem fotostarzenia się skóry (45).....	22
Rycina 9. Działanie peptydów hydrolizatów kolagenowych w procesach zapobiegających starzeniu się skóry.....	24
Rycina 10. Schemat badania krzyżowego.....	31
Rycina 11. Częstość i stopień preferencji aktywności fizycznej w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	45
Rycina 12. Częstość i preferencje spożycia wybranych grup produktów spożywczych (a. produkty mleczne, b. produkty zbożowe, c. mięso i wyroby mięsne, ryby i jaja, d. tłuszcze, e. warzywa, f. owoce, g. przekąski/słodycze, h. napoje, i. alkohole) w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	49
Rycina 13. Częstość stosowania i stopień preferencji techniki obróbki termicznej stosowanej do przygotowywania potraw w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	50
Rycina 14. Czynniki wpływające na wybór produktów spożywczych w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	50

XII. Spis Tabel

Tabela 1. Skład aminokwasowy dwóch łańcuchów polipeptydowych tworzących potrójną spiralę $\alpha 1(I)$ - $\alpha 1(I)$ - $\alpha 2(I)$ kolagenu typu ludzkiego (6).....	8
Tabela 2. Źródła występowania kolagenów fibrylarnych w organizmie ludzkim (8).....	9
Tabela 3. Źródła występowania kolagenów błony podstawnej tworzących mikrowłókna, włókna kotwiczące lub układy sieciowe w organizmie ludzkim (8).....	11
Tabela 4. Źródła występowania kolagenów FACITs, MACITs i multipleksów w organizmie ludzkim (8).....	13
Tabela 5 . Źródła występowania kolagenu z uwzględnieniem jego typów (24).....	14
Tabela 6. Zmiany wczesne i późne zachodzące w skórze pod wpływem promieniowania słonecznego (37).....	20
Tabela 7. Skład aminokwasowy kolagenu wieprzowego i kolagenu rybiego (83).....	32
Tabela 8. Interpretację wskaźnika BMI wg jego wartości (67).....	34
Tabela 9. Charakterystyka parametrów składu ciała badanych osób przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym i rybim (n=30)	37
Tabela 10. Zmiany nawilżenia, zawartości melaniny, zaczerwienienia i pH skóry badanych wolontariuszek przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym oraz rybim (n=30).....	39
Tabela 11. Indywidualna ocena parametrów skóry: gładkość, elastyczność, jędrność, nawilżenie, odżywienie, witalność, liczby zmarszczek przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym oraz rybim w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	40
Tabela 12. Zmiany jędrności (R0) i elastyczność (R7) skóry przed i po suplementacji placebo, kolagenem wieprzowym oraz rybim w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	41
Tabela 13. Związek pomiędzy parametrami skóry - nawilżenia i zawartości melaniny w skórze w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	42
Tabela 14. Związek pomiędzy parametrami skóry - zaczerwienienia i wartości pH skóry w badanej grupie wolontariuszek (n=30).....	43
Tabela 15. Wartość energetyczna diety i podaż wybranych składników pokarmowych w badanej grupie wolontariuszek w odniesieniu do norm żywienia człowieka (n=30).....	44

Tabela 16. Związek pomiędzy wybranymi parametrami fizyko-chemicznymi skóry a wybranymi składnikami pokarmowymi diety w badanej grupie wolontariuszek (n=30)... 45

Tabela 17. Zależności pomiędzy wybranymi składnikami pokarmowymi diety oraz udziałem procentowym wody w organizmie badanych osób (n=30)..... 46

XIII. Załączniki

Załącznik 1

Dzienniczek żywieniowy

Jak poprawnie wypełniać dzienniczek żywieniowy? Instrukcja dla pacjentów

Dzienniczek żywieniowy należy prowadzić przez 3 dni (2 dni w tygodniu i 1 dzień weekendowy). W dzienniczku należy notować wszystkie spożywane posiłki, ich skład oraz czas spożycia. Zapisywać należy nawet najmniejszą ilość spożytej żywności, uwzględniając także przekąski zjadane między posiłkami.

Notować powinno się ilość tłuszczu dodanego do smażenia czy sałatek oraz dodatek soli i innych przypraw.

Zapisywać należy ponadto ilość spożytych płynów wraz z ilością dodanego cukru. Uwzględnić powinno się także inne dodatki (cytryna, mleko, śmietanka).

Wpisując do tabeli produkt należy go jak najdokładniej scharakteryzować, np. w przypadku chleba należy podać typ mąki (pszenna, pszenno-żytnia, graham, razowa), a w przypadku mleka uwzględnić ilość zawartego tłuszczu (%). Można również zanotować nazwę handlową produktu. Należy ponadto zwrócić uwagę na technikę przyrządzania potraw (smażenie, pieczenie, itp.).

Zapisywać należy także ilość spożytych produktów (miary domowe/gramy (g)). Zaleca się w miarę możliwości samodzielne ważenie produktów z wykorzystaniem wagi kuchennej.

DZIEŃ 1,2,3

Dzień tygodnia:

Data:

GODZINA	NAZWA POSIŁKU*	SKŁAD POSIŁKU	MASA PRODUKTU (gramy/miary domowe)	UWAGI

--	--	--	--	--

* Nazwy posiłku: I śniadanie, II śniadanie, obiad, podwieczorek, kolacja, przekąski

Załącznik 1 cd.

Kwestionariusz dotyczący preferencji pokarmowych.

W kolumnie stopień preferencji proszę określić cyfrą stopień lubienia danego produktu spożywczego:

1-bardzo nie lubię, 2- nie lubię, 3-ani lubię ani nie lubię, 4-lubię, 5- bardzo lubię

PRODUKTY	Nie spożywam	Raz w miesiącu	Raz w tygodniu	2-3 razy w tyg	1 raz dziennie	Więcej niż 1 raz dziennie	Stopień preferencji 1-5
Produkty mleczne							
Mleko							
Produkty przefermentowane (kefir, jogurt, maślanka)							
Sery twarogowe							
Sery żółte							
Sery pleśniowe							
Sery wędzone							
Sery topione							
Lody							
Produkty zbożowe							
Bagietki							
Bułki pszenne							
Bułki razowe							
Chałki/rogale maślane							
Chleb chrupki							
Chleb jasny							
Chleb razowy							
Chrupki kukurydziane							
Kasze							
Makarony							
Müsli							
Otręby pszenne							
Pieczycwo tostowe							
Płatki kukurydziane							

Płatki owsiane							
Ryż							
Mięso i produkty pochodzenia zwierzęcego							
Cielęcina							
Kurczak/indyk							
Wieprzowina							
Wołowina							
Wędliny chude							
drobiowe i wieprzowe							
Wędliny podrobowe							
Kiełbasy różne							
Ryby chude (dorsz, morszczuk, okoń, sandacz)							
Ryby tłuste (halibut, łosoś, makrela, szprot, śledź)							
Jaja							
Warzywa i owoce							
Brokuły							
Brukselka							
Buraki							
Cebula							
Fasolka szparagowa							
Groszek zielony							
Kalafior							
Kapusta							
Marchewka							
Ogórek							
Papryka							
Pomidor							
Rzodkiewka							
PRODUKTY	Nie spożywam	Raz w miesiącu	Raz w tygodniu	2-3 razy w tyg	1 raz dziennie	Więcej niż 1 raz dziennie	Stopień preferencji 1-5

Sałata							
Szpinak							
Ananas							
Arbuz							
Banany							
Brzoskwinie							
Cytryna							
Czarna jagoda							
Czereśnie							
Grejpfrut							
Gruszka							
Jabłko							
Kiwi							
Maliny							
Mandarynki							
Morele							
Pomarańcze							
Porzeczki							
Śliwki							
Truskawki							
Winogrona							
Wiśnie							
Tłuszcze							
Margaryna							
Masło							
Masmix							
Smalec							
Olej rzepakowy							
Olej słonecznikowy							
Olej lniany							
Olej sojowy							
Olej z pestek winogron							
Oliwa z oliwek							
Majonez							

Śmietana							
Bez tłuszczu							
Słodycze i przekąski							
Batony							
Ciasta							
Ciastka							
Cukierki							
Czekolada							
Orzechy							
Słone przekąski							
Wafle							
Napoje							
Herbata czarna							
Herbata owocowa							
Herbata zielona							
Kakao							
Kawa							
Napój gazowany							
Sok owocowy							
Sok warzywny							
Woda							
Inne							
Fast-foody							
Pizza							
Ketchup							
Majonez							
Alkohol							
Wino							
Piwo							
Wódka							
Koniak							
Whiskey							

W poniższej tabeli proszę zaznaczyć krzyżykiem (X) częstość stosowanych technik przygotowywania potraw.

W kolumnie stopień preferencji proszę określić cyfrą stopień lubienia danej techniki kulinarnej:

1-bardzo nie lubię, 2- nie lubię, 3-ani lubię ani nie lubię, 4-lubię, 5- bardzo lubię

Techniki obróbki termicznej	Nie używam	Raz w miesiącu	Raz w tygodniu	2-3 razy w tyg	1 raz dziennie	Więcej niż 1 raz dziennie	Stopień preferencji 1-5
Gotowanie w wodzie							
Gotowanie na parze							
Duszenie							
Smażenie							
Pieczenie							
Grilowanie							
Odgrzewanie w kuchni mikrofalowej							

W poniższej tabeli proszę zaznaczyć w jakim stopniu wymienione czynniki wpływają na Pana/Pani wybór poszczególnych produktów spożywczych używając skali:

1-Zdecydowanie nie biorę pod uwagę 2-W małym stopniu biorę pod uwagę 3-W dużym stopniu biorę pod uwagę

Czynnik	Produkty mleczne	Produkty zbożowe	Mięso i produkty pochodzenia zwierzęcego	Warzywa i owoce	Tłuszcze
Cena					
Jakość produktów					
Konsystencja					
Łatwość przechowywania					
Łatwość przygotowania					
Nowość na rynku					
Przyzwyczajenie					
Reklama					
Smak					
Świeżość					
Trwałość					
Wartość odżywcza					
Wpływ na zdrowie					
Wygląd zewnętrzny					

W poniższej tabeli proszę zaznaczyć krzyżykiem (X) częstość wykonywania aktywności fizycznej. W kolumnie stopień preferencji proszę określić cyfrą stopień lubienia danej czynności fizycznej:

1-bardzo nie lubię, 2- nie lubię, 3-ani lubię ani nie lubię, 4-lubię, 5- bardzo lubię

Aktywność fizyczna	Nie uprawiam	Raz w miesiącu	Raz w tygodniu	2-3 razy w tyg	1 raz dziennie	Więcej niż 1 raz dziennie	Stopień preferencji 1-5
Ogólna							
Spacery							
Bieganie							
Pływanie							
Gimnastyka							
Jazda na rowerze							
Aerobik							

Wywiad chorobowy

Proszę zaznaczyć choroby, na które Pan/Pani choruje:

- Nadciśnienie tętnicze
- Cukrzyca
- Choroba niedokrwienna serca
- Zaburzenia lipidowe
- Alergie pokarmowe (wymienić jakie?).....
- Niewydolność nerek
- Astma
- Choroby przewodu pokarmowego (wymienić jakie?).....
- Niedokrwistość
- Zaburzenie jedzenia
- Nadczynność/niedoczynność tarczycy
- Inne:.....

Zażywane leki i suplementy diety:

Przyjmowane środki:.....

Dawka:.....

Częstość zażywania:.....

Nr identyfikacyjny _____ Data _____ Godzina _____

Ankieta

Zwracam się z uprzejmą prośbą o wypełnienie poniższej ankiety oceniającej sposób żywienia i jakość snu. Uzyskane dane zostaną wykorzystane w celach naukowych.

1. Płeć: kobieta mężczyzna

2. Wiek:

3. Charakter pracy:

- Pracownik fizyczny
- Pracownik umysłowy
- Pracownik fizyczno-umysłowy
- Student pracujący
- Student niepracujący
- Emeryt / rencista

4. Czy pracujesz w trybie zmianowym:

- Tak
- Nie

5. Ile godzin w ciągu dnia spędzasz w pracy /na uczelni

6. Miejsce zamieszkania:

- miejscowość < 10 tys mieszkańców
- miasto 10-50 tys mieszkańców
- miasto 50-100 tys mieszkańców
- miasto > 100 tys mieszkańców

7. Wykształcenie:

- Podstawowe
- Średnie
- Wyższe

8. Jak postrzegasz swoją sytuację materialną

- Zła
- Dobra
- Bardzo dobra

9. Stan cywilny:

- Kawaler/Panna
- W związku małżeńskim
- Wdowiec/ wdowa
- Rozwiedziony/ rozwiedziona

9. Czy uważasz że zdrowo się odżywasz?

- tak nie nie wiem

10. Ile posiłków spożywasz w ciągu dnia:

- 2 3 4 5 więcej

11. Czy palisz papierosy??

- tak nie

12. Jeśli tak:

Od ilu lat.....

Ile papierosów dziennie.....

Choroby przewlekłe:.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Przyjmowane leki:.....

.....

.....

.....

.....

.....

Pomiary antropometryczne

Masa ciała:.....kg

Wysokość ciała:.....cm

Obwód talii:.....cm

Obwód biodra:.....cm

Grubość fałdów skórno-tłuszczowych:

Biceps:.....

Triceps:.....

Nad kolcem biodrowych:.....

Łopatka:.....

Załącznik 3

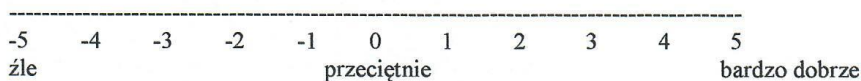
Indywidualna ocena stanu skóry

Indywidualna ocena stanu skóry Skala VAS satysfakcja.

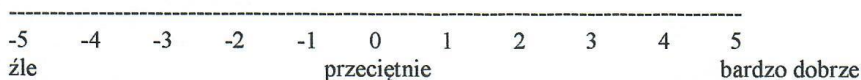
Proszę o zaznaczenie „X” na linii oceny swojej skóry.

Na jednej linii zaznaczamy jeden „X”, jest to ocena subiektywna, która odnosi się do Pani odczuć. Po przebytej suplementacji zapytam ponownie o te cechy z uwzględnieniem zmian po przebytej kuracji.

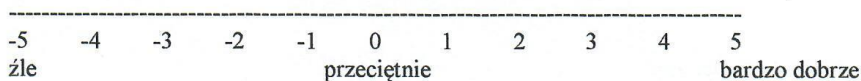
1. Jak oceniasz gładkość swojej skóry?



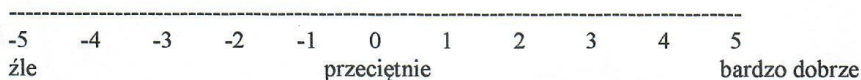
2. Jak oceniasz elastyczność swojej skóry?



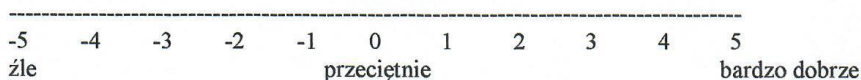
3. Jak oceniasz jędrność swojej skóry?



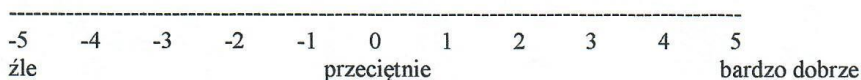
4. Jak oceniasz nawilżenie swojej skóry?



5. Jak oceniasz odżywienie swojej skóry?



6. Jak oceniasz ogólną witalność swojej skóry?



7. Jak oceniasz ogólną ilość zmarszczek swojej skóry?

