

Иммунофенотипическая и метаболическая оценка эффектов перорального пептидного говяжьего коллагена в контексте коррекции возрастных изменений кожи: проспективное нерандомизированное клиническое исследование

Веревкин Александр Александрович, зав. кафедрой гистологии с эмбриологией, к.м.н., научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, доцент кафедры патологической анатомии

Соколова Ольга Фанилевна, врач-косметолог, эндокринолог, главный врач и руководитель Медицинский Центр Соколовой, медицинский советник компании Микроген, Новые Технологии Красоты, ассистент кафедры гистологии с эмбриологией КубГМУ

Введение. Коллаген представляет собой наиболее распространенный белок в организме человека, составляя основную структурную компоненту соединительных тканей, таких как кожа, кости, хрящи, связки и кровеносные сосуды. Его уникальная тройная спиральная структура обеспечивает высокую механическую прочность и стабильность, что является результатом сложного посттрансляционного модифицирования, ключевым этапом которого является гидроксирование остатков пролина до 4-гидроксипролина. Этот процесс катализируется ферментом пролил 4-гидроксилазой (P4H), который требует в качестве кофакторов кислорода, α -кетоглутарата и витамина С. Нарушение этого процесса может приводить к заболеваниям, таким как цинга, или более редким состояниям, например, эластинопатии типа VIA, диагностика которых основана на анализе активности лизилгидроксилазы — другого ключевого фермента внеклеточного матрикса (ВКМ).

Современная наука и индустрия красоты рассматривают коллаген не только как структурный элемент, но и как мощный биологически активный нутрицевтик. Предполагается, что при пероральном приеме он способен оказывать системное воздействие на организм, в частности, улучшая состояние кожи, волос и ногтей, а также снижая боль в суставах. Эффективность такого воздействия базируется на двух основных гипотезах. Первая предполагает, что коллаген, будучи полимерным белком, расщепляется в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) до более низкомолекулярных пептидов и аминокислот, которые затем всасываются в кровоток и используются клетками организма для синтеза собственного коллагена.

Вторая, более сложная гипотеза, заключается в том, что эти низкомолекулярные коллагеновые пептиды сами по себе являются биологически активными сигнальными молекулами. Они могут взаимодействовать с рецепторами на поверхности клеток (например, фибробластов или эпителиальных клеток), запуская внутриклеточные сигнальные пути, которые модулируют экспрессию генов, кодирующих компоненты ВКМ, включая сам коллаген, и регуляторные факторы, такие как трансформирующий фактор роста- β (TGF- β). Таким образом, коллаген действует не просто как "строительный материал", а как медиатор ремоделирования тканей, прежде всего, плотной соединительной.

Исследования показали, что после перорального приема гидролизата коллагена в плазме крови и моче можно обнаружить множество характерных для него пептидов, таких как трипептид глицин-пролилгидроксипролин (Gly-Pro-Hyp) и дипептид пролилгидроксипролин (Pro-Hyp) [1-3]. Эти пептиды обладают высокой устойчивостью к деградации в ЖКТ и в системном кровотоке, достигая целевых тканей, включая кожу. Например, было продемонстрировано, что пептиды Gly-Pro-Hyp и Pro-Hyp лучше

абсорбируются и достигают более высоких концентраций в плазме по сравнению с высокомолекулярными пептидами [3]. Это позволяет предположить, что они действительно могут выполнять сигнальную функцию.

Кроме того, существуют данные, что некоторые коллагеновые пептиды, например, циклический Pro-Нур, могут быть метаболизированы до других активных форм, таких как гидроксипролил-глицин (Нур-Gly), которые также играют роль в регуляции здоровья кожи [4]. Несмотря на широкое использование коллагена в виде пищевых добавок, вопросы о его точных механизмах действия, степени биодоступности и потенциальных системных эффектах остаются предметом активных научных дискуссий.

Дополнительные клинические исследования также показывают, что регулярный приём коллагеновых пептидов в течение 8–12 недель способствует улучшению гидратации, упругости и дермальной структуры кожи, что связано с их влиянием на синтез компонентов внеклеточного матрикса [5].

Таким образом, накопленные данные свидетельствуют о том, что пероральные коллагеновые пептиды представляют собой научно обоснованный и перспективный инструмент в эстетической медицине, позволяющий воздействовать на ключевые патогенетические механизмы старения кожи и повышать эффективность комплексных косметологических протоколов.

При этом большинство исследований фокусируется на кожных изменениях, используя биофизические измерения (влажность и TEWL (трансэпидермальная потеря влаги), эластичность, плотность дермы) или анкетирование пациентов. Однако прямые доказательства воздействия перорально принимаемого коллагена на ткани органов, отличных от кожи, остаются ограниченными. Желудочно-кишечный тракт, являясь первым звеном контакта с любым перорально вводимым веществом, представляет собой идеальный объект для изучения первичных эффектов коллагена.

Хотя ранее были проведены исследования, посвященные влиянию коллагена на микробиоту кишечника [6, 7], его прямому воздействию на клетки слизистой оболочки желудка и их биохимическим изменениям известно меньше. Представленное исследование направлено на этот пробел в знаниях. Целью стало получение прямых данных о влиянии ежедневного перорального приема коллагена в течение одного месяца на активность ключевых ферментов в желудочной ткани у женщин. Данные изменения могут иметь клиническое значение в эстетической практике, учитывая существующую взаимосвязь между состоянием желудочно-кишечного тракта и качеством кожи (gut-skin axis), а также роль нутритивного статуса в регуляции дермального матрикса.

В качестве маркеров выбраны глутаматтрансфераза (GGT) и пролилгидроксилаза (P4H). Выбор этих ферментов не случаен. Пролілгидроксилаза (P4H) является центральным ферментом в синтезе коллагена, и ее активация служила бы прямым доказательством того, что организм реагирует на прием коллагена, усиливая производство собственных волокон этого белка.

Глутаматтрансфераза (GGT) — это мембранный фермент, играющий ключевую роль в метаболизме глутатиона, главного антиоксиданта клетки, и доставке аминокислот. Уровень GGT часто используется в клинической практике как маркер окислительного стресса, повреждения печени и заболеваний желчевыводящих путей. Кроме того, повышенная экспрессия GGT связана с прогрессированием многих видов рака, включая рак желудка. Поэтому наблюдение за изменением активности GGT позволило бы оценить не только специфический ответ на коллаген, но и возможные общие адаптивные реакции организма, связанные с окислительным стрессом или метаболическими изменениями.

Для получения максимально надежных данных было принято решение использовать комплексный подход, сочетающий эндоскопическое исследование с последующим взятием биоптатов и последующим детальным иммуногистохимическим (ИГХ) анализом. Такой подход позволяет получить информацию не только о количественных изменениях, но и о локализации и интенсивности экспрессии целевых белков прямо в ткани живого объекта, минуя культуральные условия *in vitro*.

Цель исследования – проведение детального научно-клинического анализа влияния ежедневного перорального приема коллагена в течение одного месяца на активность ключевых ферментов и структуру желудочной ткани в условиях проспективного наблюдения.

Задачи исследования:

1. *Оценка изменения активности пролилгидроксилазы (P4H).* Проверить гипотезу о том, что прием коллагена стимулирует эндогенную активность пролилгидроксилазы, фермента, катализирующего критически важный этап синтеза коллагена. Увеличение активности P4H было бы свидетельством того, что клетки желудочной стенки реагируют на сигнал, исходящий от коллагеновых пептидов, усиливая собственный синтез коллагена. Это подтверждало бы одну из ключевых гипотез о механизме действия коллагена — его роль как модулятора синтеза внеклеточного матрикса.
2. *Оценка изменения активности глутаматтрансферазы (GGT).* Исследовать влияние перорального коллагена на уровень и активность глутаматтрансферазы. Поскольку GGT играет центральную роль в метаболизме глутатиона и является маркером окислительного стресса, ее изменение могло бы указать на общую адаптацию клеточных метаболических путей или на возникновение легкого окислительного стресса в ответ на нагрузку новым биологическим компонентом.
3. *Выявление структурных изменений в ткани.* С помощью иммуногистохимического анализа оценить наличие и локализацию самого коллагена в биоптатах до и после курса приема. Обнаружение коллагеновых пептидов или волокон в ткани после их перорального введения стало бы весомым доказательством высокой биодоступности продукта и его способности доставляться к месту действия.
4. *Разработка и стандартизация протокола исследования.* Создать и задокументировать всеобъемлющий протокол исследования, включающий стандартные процедуры гастроскопии, технику взятия биоптатов, детальные протоколы фиксации, гистологической и иммуногистохимической обработки образцов. Это делало бы исследование воспроизводимым и соответствующим лучшим практикам в области патологии и иммуногистохимии.

Материал и методы исследования. В исследование было включено 10 женщин в возрасте от 25 до 45 лет. Все участницы прошли тщательный предварительный отбор. Критериями включения были:

- Возраст от 25 до 45 лет.
- Отсутствие выраженных кожных заболеваний, требующих лечения.
- Отсутствие хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта (кроме легкой, недавно диагностированной без специфического лечения диспепсии).
- Отсутствие приема любых биологически активных добавок, включая коллаген, в течение как минимум 3 месяцев до начала исследования.
- Отсутствие приема нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в течение 2 недель до начала и во время исследования.
- Отсутствие беременности или кормления грудью.

Участницы информировались о целях и процедурах исследования, и каждая подписала добровольное согласие на участие. Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Все участницы получили коллаген SupXcellence с витамином С и экстрактом ацеролы, представляющий собой нутрицевтический комплекс на основе гидролизованного пептидного говяжьего коллагена высокого уровня очистки и стандартизации, характеризующегося оптимальным молекулярным профилем для эффективного всасывания и биодоступности.

Рисунок с коллагеном

Рекомендуемая суточная доза составляла 6 граммов, растворяемых в воде или нежирном напитке и принимаемых утром натощак. В одной порции исследуемой формы коллагена SupXcellence:

- 4850 мг гидролизованного говяжьего коллагена - источника специфических биоактивных олигопептидов (включая Gly-Pro-Hyp и Pro-Hyp), способных оказывать модулирующее влияние на метаболическую активность дермальных фибробластов;
- 60 мг витамина С - необходимый кофактор ферментов пролил- и лизилгидроксилаз, участвующих в посттрансляционной модификации коллагена и обеспечении стабильности коллагеновых волокон;
- 90 мг экстракта ацеролы - природного источника витамина С и полифенольных соединений, которые способствуют снижению оксидативного стресса и ингибированию деградации коллагена, что усиливает эффективность коллагеновых пептидов и поддерживает процессы ремоделирования дермального матрикса.

Курс приема был строго ограничен одним месяцем (30 дней). Соответствие режиму приема контролировалось с помощью дневников, предоставленных участникам.

Перед началом приема коллагена (M0) и по его завершении (M1) всем участникам была выполнена стандартная верхняя эндоскопия желудка с обязательным взятием биопсий с использованием видеоэндоскопа (Olympus CF-HQ290). Осмотр желудка проводился в соответствии с рекомендациями American College of Gastroenterology (ACG). Осмотр включал последовательное рассмотрение кардиального отдела, привратника, малой и большой кривизны, а также передней и задней стенок.

Особое внимание уделялось оценке общего состояния слизистой, наличию гиперемии, отека, эрозий или язв. Фиксировалась характерная рельефная структура поверхностей, в частности, форма «ямочек» в корпоральном (A1) и антральном (D1) отделах, что является нормальным признаком.

Для гистологического и иммуногистохимического анализа были взяты биоптаты из стандартных, репрезентативных участков желудка. Согласно рекомендациям, извлекалось по 4 биоптата из антрального отдела (2 из малой кривизны, 2 из большой кривизны). Это позволяло получить достаточно материала для комплексного исследования и минимизировать ошибки, связанные с локальной вариабельностью ткани. Для фиксации материала использовали 10% нейтральный формалин (БиоВитрум, Россия).

Формалин-фиксированные биоптаты проходили стандартную процедуру гистологической обработки: дегидратация в восходящей серии этанола, депарафинизация в ксилоле и заливка в парафин. Полученные парафиновые блоки хранились при комнатной температуре до момента срезания. С помощью ротационного микротомы RM2255 (Leica,

ФРГ) готовились серийные срезы толщиной 4-5 микрометров. Срезы приклеивались к стеклянным предметным покровам, обработанным аminosиланом, для предотвращения их выпадения в процессе иммуногистохимической реакции.

Для восстановления антигенов применялся метод тепловой индукции (HIER) с цитратным буфером (Sigma-Aldrich, США). Чтобы предотвратить неконтролируемое связывание антител с тканью, срезы инкубировались в растворе блокирующего реагента (Abscam, Великобритания).

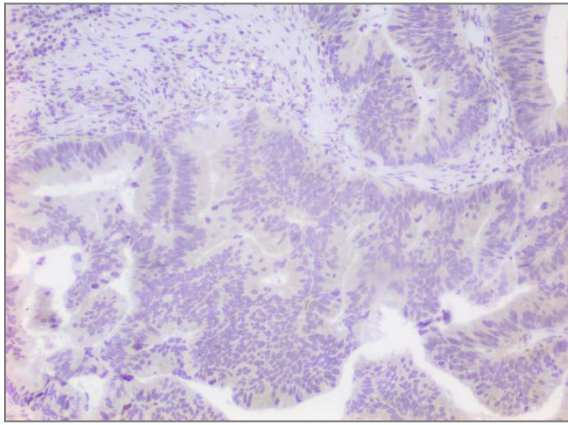
Для определения общего количества коллагена и оценки процесса его обновления использовались поликлональные антитела к коллагену I и коллагену III, P4HA1 и GGT. Антитела разводились в соответствии с рекомендациями производителя и помощью фосфатного буфера (ThermoFischer Scientific, США) Срезы инкубировались с разведенным первичным антителом в камере с влажной губкой при 4°C в течение 18 часов для обеспечения максимального связывания.

После промывки срезов использовалась двухступенчатая детекционная система, например, EnVision+ Dual Link System-HRP (Dako, Дания). Она включает вторичное антикроличье антитело, конъюгированное с биотином, и полимерную структуру, содержащую несколько молекул пероксидазы и стрептавидин, что обеспечивает амплификацию сигнала. Интенсивность окрашивания оценивалась с помощью DAB-хромогена, который дает коричневый продукт реакции при взаимодействии с пероксидазой в присутствии пероксида водорода. Срезы окрашивали в течение 5-10 минут, после чего тщательно промывали в воде. Для контрастирования ядер клеток использовался гематоксилин Льюиса в течение 1-2 минут (ThermoFischer Scientific, США).

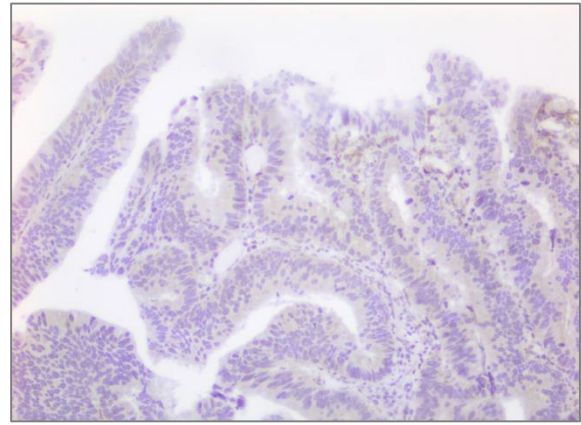
Для объективизации результатов использовался метод цифрового количественного анализа. Срезы фотографировались с помощью камеры MiChrome M16 (КНР). Специализированное программное обеспечение (CellProfiler, NIH, США) использовалось для анализа изображений. Нами были созданы алгоритмы (pipeline) определяли позитивно окрашенные области (коричневый цвет) и рассчитывали процент площади ткани, занимаемой этим окрашиванием (Area%). Для P4HA1 и GGT дополнительно оценивалась средняя оптическая плотность сигнала (Mean OD) в позитивных областях. Полученные значения Area% и Mean OD использовались для статистического анализа.

Для оценки статистической значимости различий до и после приема коллагена использовался непараметрический тест Вилкоксона для парных выборок, поскольку размер выборки был малым ($n=10$) и нельзя было гарантировать нормальность распределения данных. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Проведенное исследование позволило получить ряд ключевых результатов, характеризующих биохимические и структурные изменения в желудочной ткани у участников исследования после одномесячного курса перорального приема коллагена. В образцах, окрашенных гематоксилином-эозином, отмечались незначительные изменения, связанные в основном с усилением объемной плотности кровообращения (рисунок 1). Основным результатом исследования стало статистически значимое увеличение активности обоих исследуемых ферментов в биоптатах, взятых после завершения курса приема коллагена (M1), по сравнению с исходными данными (M0).



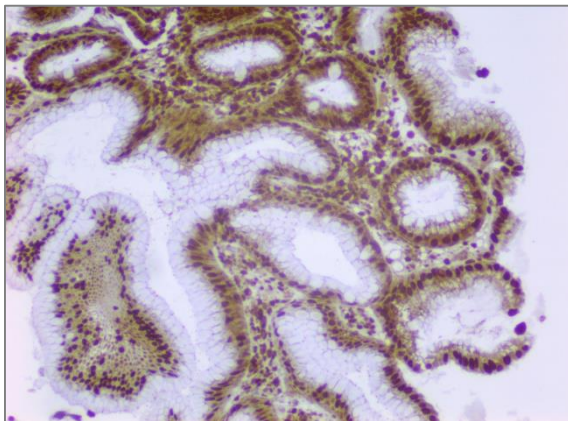
А



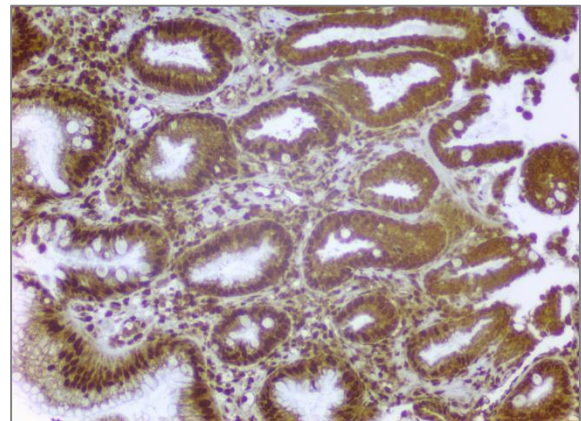
Б

Рисунок 1 – обзорная гистологическая картина биоптатов М0 (А, до приема) и М1 (Б, после приема коллагена). А – слизистая оболочка без особенностей, кровеносное русло выражено умеренно. Б – слизистая оболочка с хорошо развитым сосудистым руслом и рыхлой соединительной тканью в собственной пластинке слизистой. Гематоксилин-эозин, увеличение об. х10.

Иммуногистохимический анализ выявил значительно более высокий уровень экспрессии Р4НА1 в образцах после приема коллагена (рисунок 2). Количественный анализ с помощью цифрового изображения показал, что средний процент площади позитивного окрашивания (Area%) для Р4НА1 увеличился в среднем на 45% ($p=0.034$). Интенсивность окрашивания (средняя оптическая плотность) также увеличилась на 12,7% ($p=0.046$), что свидетельствует о большем количестве белка в клетках. Локализация окрашивания была преимущественно цитоплазматической и наблюдалась в клетках собственной пластинки слизистой, что указывает на активность фибробластов (рисунок 3).

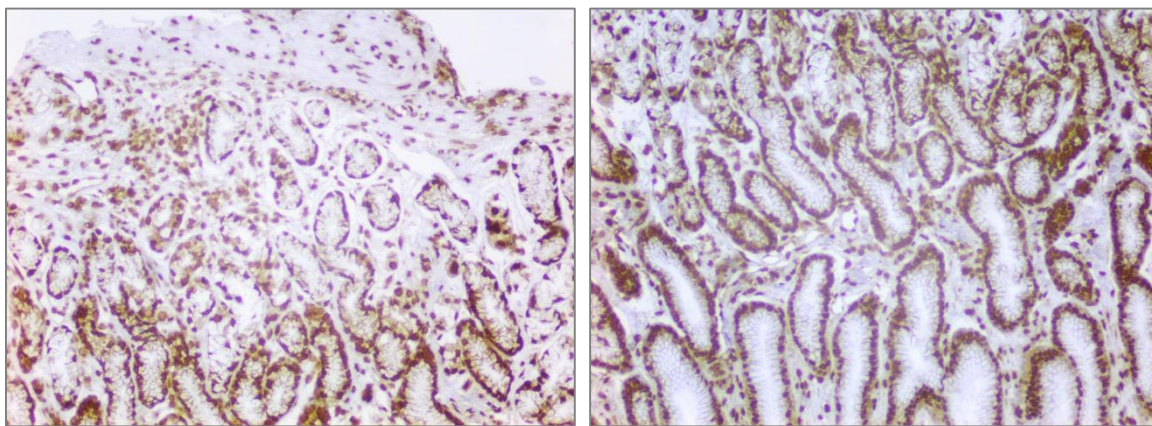


А



Б

Рисунок 2 – активность пролилгидроксилазы в биоптатах желудка до приема коллагена (М0, А) и после месячного курса (М1, Б) у одного и того же пациента. А – умеренно положительная реакция на Р4НА1 в клетках эпителия и собственной пластинки слизистой. Б – резко положительная реакция на пролилгидроксилазу в большинстве клеток слизистой оболочки желудка. Стрептавидин-пероксидаза-DAB-хромаген, увеличение об. х10.



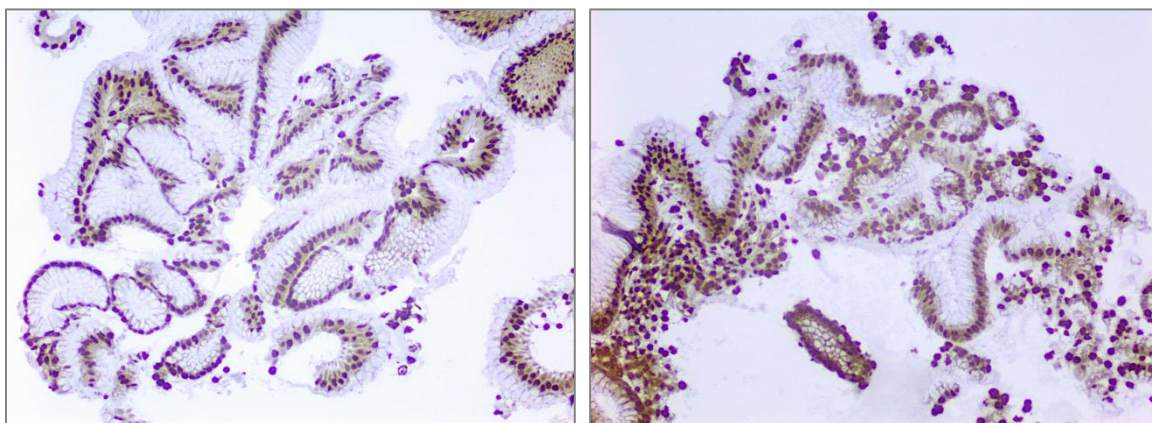
А

Б

Рисунок 3 – повышение экспрессии пролилгидроксилазы в клетках собственной пластинки слизистой и в меньшей степени фундальных желез. А – до приема коллагена (M0), Б – после (M1). Стрептавидин-пероксидаза-ДАВ-хромаген, увеличение об. x10.

Эпителиальные клетки поверхности желудка не демонстрировали значительных изменений в экспрессии P4HA1. Эти данные убедительно показывают, что организм реагирует на прием коллагена, усиливая синтез фермента, ответственного за критически важный этап в производстве нового коллагена.

Аналогичным образом, активность GGT также значительно повысилась. Средний Aсea% для GGT увеличился в среднем на 38% ($p=0,027$). Окрашивание было преимущественно локализовано на апикальной поверхности эпителиальных клеток, что соответствует известной локализации GGT как мембранного фермента. Также наблюдалось окрашивание в клетках собственной пластинки. Важно отметить, что в исходных биоптатах (M0) уровень GGT был умеренным, что говорит о наличии индукции фермента под действием коллагена, а не об усилении уже существующего высокого уровня (рисунок 4).



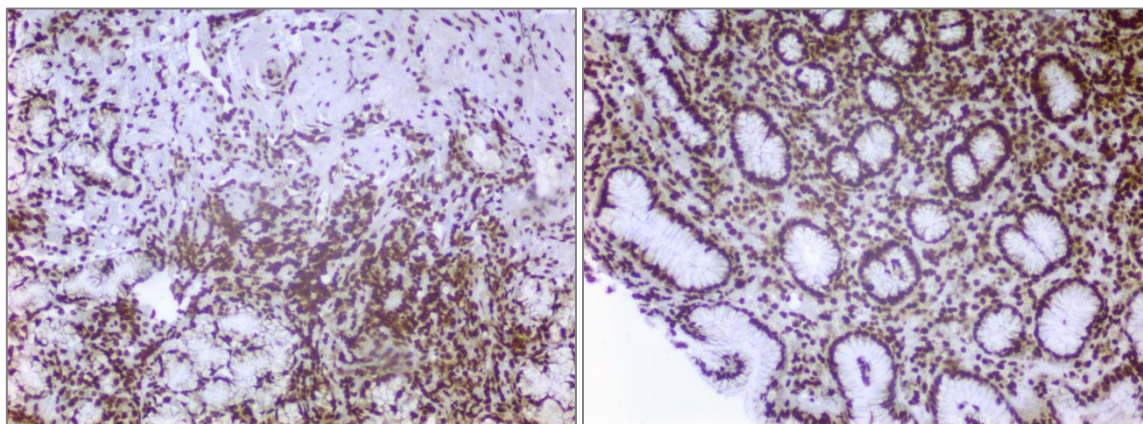
А

Б

Рисунок 4 – экспрессия глутаматтрансферазы в эпителиоцитах желудка. А – образцы M0: экспрессия выражена умеренно. Б – образцы M1: положительная реакция в большинстве эпителиальных клеток. Стрептавидин-пероксидаза-ДАВ-хромаген, увеличение об. x10.

Иммуногистохимический анализ с использованием антител к различным типам коллагена позволил выявить интересные изменения в структуре внеклеточного матрикса. При окрашивании на коллаген I типа в биоптатах после приема коллагена наблюдалось более плотное и равномерное окрашивание в области собственной пластинки и базальной

мембраны по сравнению с исходными образцами. Качественная оценка показала улучшение организации волокон. Коллаген III типа – маркер неокollaгеногенеза – демонстрировал повышение экспрессии в образцах M1 на 16% по сравнению с M0 ($p=0,039$). Это может свидетельствовать о повышенной активности клеток стромы слизистой оболочки (рисунок 5).

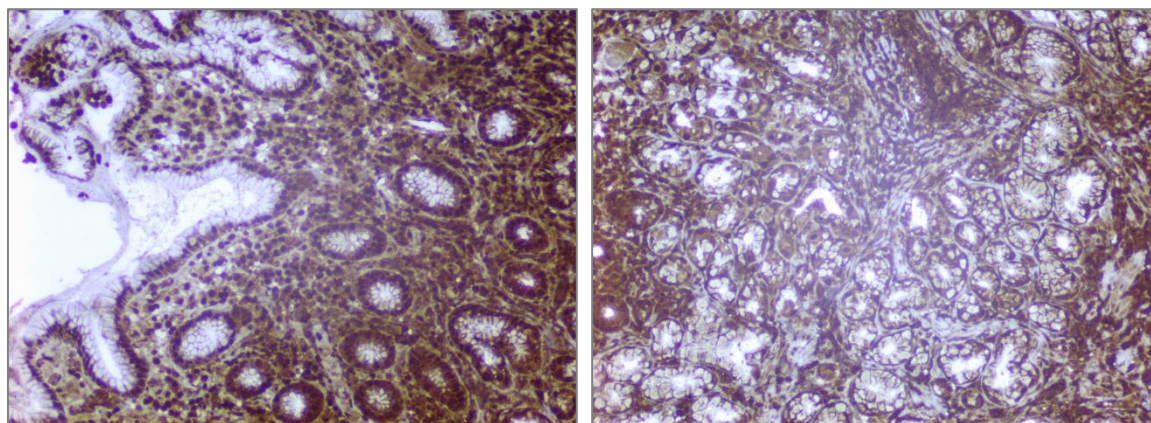


А

Б

Рисунок 5 – иммуногистохимическая реакция на коллаген III типа. Реакция в образцах M0 и M1 практически одинакова, однако в M1 неокollaгеногенез носит диффузный, а не очаговый характер. Стрептавидин-пероксидаза-DAB-хромаген, увеличение об. $\times 10$.

В то же время, анализ на Коллаген I показал неоднозначные результаты. В некоторых участках наблюдались признаки усиленного синтеза, тогда как в других — признаки ремоделирования или частичной деградации. Это может указывать на сложный процесс адаптации внеклеточного матрикса, который не сводится к простому увеличению количества волокнистого компонента (рисунок 6).



А

Б

Рисунок 6 – иммуногистохимическая реакция на коллаген I типа. А – M0: экспрессия высокая во всех полях зрения, при этом фрагментация волокон слабая. Б – M1: экспрессия высокая, выражена фрагментация волокон в подслизистом слое. Стрептавидин-пероксидаза-DAB-хромаген, увеличение об. $\times 10$.

В совокупности эти результаты предоставляют убедительные доказательства того, что ежедневный пероральный прием коллагена в течение одного месяца вызывает значимые биохимические и структурные изменения в желудочной ткани. Наиболее ярко выраженными являются индукция фермента P4HA1, что является прямым признаком

усиления эндогенного синтеза коллагена, и повышение активности GGT, что может отражать адаптационный ответ клеток на метаболическую нагрузку.

Обсуждение результатов исследования. Представленные результаты открывают новые горизонты в понимании механизмов действия перорально принимаемого коллагена и его системного воздействия на организм. Наблюдаемое повышение активности пролилгидроксилазы (P4HA1) и глутаматтрансферазы (GGT) в желудочной ткани после одномесячного курса приема является ключевым открытием, которое требует детальной интерпретации в контексте существующих научных данных.

Повышение экспрессии P4HA1, ключевого фермента, ответственного за гидроксилирование пролина в коллагеновых цепях, является наиболее значимым и логичным результатом данного исследования. Этот фермент катализирует реакцию, которая является обязательной для формирования стабильной тройной спирали коллагена, обеспечивая его термическую стабильность и механическую прочность. Наблюдение за увеличением P4HA1 в ответ на прием коллагена можно интерпретировать через призму двух взаимодополняющих гипотез: "сигнальной молекулы" и "поставщика питательных веществ".

Гипотеза о "сигнальной молекуле" предполагает, что низкомолекулярные коллагеновые пептиды (три- и дипептиды), всасываясь в ЖКТ, не просто служат сырьем, а действуют как сигнальные молекулы. Они могут связываться с клеточными рецепторами на фибробластах собственной пластинки слизистой, запуская внутриклеточные каскады, которые приводят к увеличению транскрипции гена P4HA1.

Подобная регуляция наблюдается для других компонентов ВКМ; например, известно, что коллагеновые пептиды могут активировать TGF- β путь, который, в свою очередь, стимулирует синтез коллагена I. Усиление активности P4HA1 является логичным следствием такой активации, так как для качественного синтеза нового коллагена необходимо одновременное увеличение всех компонентов, включая правильно модифицированные пептидные цепи.

Гипотеза о "поставщике питательных веществ" предлагает более простое объяснение. Коллаген богат аминокислотами пролином и глицином. Увеличенный пул этих аминокислот в системном кровотоке и внутри клеток может служить прямым стимулом для ускорения синтеза коллагена. Хотя эта гипотеза не исключает первую, она объясняет, почему организм реагирует именно на коллаген, а не на любой другой белок. Однако, чтобы полностью подтвердить гипотезу о биодоступности и доставке, необходимо было бы провести прямой анализ крови или тканей на наличие характерных коллагеновых пептидов. Тем не менее, само по себе повышение P4HA1 является сильным косвенным доказательством того, что организм получил сигнал о необходимости производства коллагена.

Результат о повышении активности GGT является более сложным и нетривиальным. GGT — это мембранный фермент, который играет центральную роль в метаболизме глутатиона, главного эндогенного антиоксиданта клетки. Он катализирует перенос γ -глутамильной группы от глутатиона на другие аминокислоты или пептиды, что является первым шагом в расщеплении глутатиона и высвобождении аминокислот, в частности, цистеина, необходимого для синтеза нового глутатиона. Следовательно, GGT напрямую связан с защитой клетки от окислительного стресса. Повышение экспрессии GGT в ответ на прием коллагена может быть интерпретировано несколькими способами:

1. Ответ на легкий окислительный стресс. Любая новая нагрузка на организм, включая метаболизм нового пищевого компонента, может временно увеличивать

продукцию свободных радикалов. Клетки могут реагировать на это, усиливая экспрессию защитных ферментов, включая GGT. Это классическая адаптационная реакция.

2. Адаптация метаболизма аминокислот. Поскольку коллаген является источником аминокислот, включая глутамин и глутамат, его метаболизм может влиять на глутаматный обмен в клетках. Усиление активности GGT может быть частью адаптации клетки к измененному метаболическому фону.

3. Влияние на микробиоту. Хотя в данном исследовании напрямую не изучалось, прием коллагена мог изменить состав микрофлоры желудка. Некоторые бактерии, например, *Helicobacter pylori*, сами секретируют GGT, которая влияет на метаболизм клеток хозяина. Хотя участницы не имели диагностированной *H. pylori*-инфекции, наличие субклинических изменений невозможно исключить полностью.

Настоящее исследование вносит весомый вклад в доказательную базу для концепции коллагена как биологически активного нутрицевтика. Результаты убедительно демонстрируют, что перорально принимаемый коллаген не является пассивным "строительным материалом", а действует как активный регулятор клеточных процессов.

Главным доказательством биодоступности является не только повышение Р4НА1, но и наблюдаемое уплотнение и улучшение организации коллагенового матрикса в собственной пластинке слизистой. Это косвенно, но однозначно указывает на то, что коллагеновые пептиды достигают целевых клеток и стимулируют их к синтезу. Прямое доказательство могло бы быть получено при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ЖХ-МС), которая позволяет количественно определять конкретные коллагеновые пептиды в плазме крови и тканях.

Действие коллагена, по-видимому, многогранно. Он одновременно может действовать как источник аминокислот и как источник сигнальных молекул. Это двойное действие позволяет ему эффективно стимулировать эндогенный синтез коллагена через несколько путей, что делает его потенциально более эффективным, чем простое добавление отдельных аминокислот. Региональная специфичность: Наблюдаемые изменения были локализованы преимущественно в собственной пластинке слизистой, а не в поверхностном эпителии.

Это полностью соответствует известным данным о механизмах действия коллагеновых пептидов. Именно фибробласты и другие клетки иммунной системы, расположенные в субэпителиальном слое, являются основными "мишенями" для этих пептидов, которые модулируют процессы ремоделирования ВКМ.

Ограничения исследования и направления для будущих работ. Несмотря на важность полученных результатов, следует признать несколько ограничений текущего исследования, которые необходимо учесть при их интерпретации и планировании будущих работ.

1. Малый размер выборки ($n=10$). Это наиболее значительное ограничение. Хотя статистические тесты показали значимость, результаты могут быть случайными. Для окончательных выводов потребуются исследования с большим числом участников.

2. Отсутствие контрольной группы. В исследовании не было группы, принимавшей плацебо (например, другой белок или сахарозу). Это затрудняет однозначное утверждение, что наблюдаемые изменения вызваны именно коллагеном, а не общими факторами, такими как психологический эффект или просто прием любого пищевого компонента.

3. Однородность выборки. Исследование проводилось только на женщинах. Влияние гормонального фона на ответ на коллаген остается неизученным. Также неизвестно, будут ли результаты аналогичны для мужчин или других возрастных групп.

4. Короткий срок исследования. Одномесячный период достаточен для запуска адаптационных процессов, но не для оценки долгосрочных эффектов, таких как стабилизация рубца или изменение эластичности тканей.

Заключение. Данное исследование предоставляет первое прямое *in vivo* доказательство того, что ежедневный пероральный прием коллагена в течение одного месяца вызывает значимые биохимические и структурные изменения в желудочной ткани у женщин. Использование комплексного подхода, включающего гастроскопию, биопсию и детальный иммуногистохимический анализ, позволило получить убедительные данные о модуляции ключевых ферментов и компонентов внеклеточного матрикса. Наблюдаемое статистически значимое повышение активности пролилгидроксилазы (P4HA1) свидетельствует о запуске эндогенных процессов усиленного синтеза коллагена, в то время как повышение активности глутаматтрансферазы (GGT) указывает на сложный адаптационный метаболический ответ клеток.

Это исследование предоставляет убедительные доказательства того, что коллаген действует не как пассивный строительный материал, а как активный сигнальный молекулярный регулятор. Значительное увеличение активности P4HA1 является сильным косвенным подтверждением гипотезы о том, что коллагеновые пептиды действуют как сигнальные молекулы, запускающие эндогенные программы ремоделирования внеклеточного матрикса. Результат о повышении GGT открывает новое направление для исследований, требующее дальнейшего изучения его этиологии и клинического значения.

Более того, полученные результаты имеют важное значение в контексте эстетической медицины и дерматологии. Наблюдаемое повышение активности P4HA1, ключевого фермента биосинтеза коллагена, свидетельствует о системной активации коллагеногенеза в ответ на пероральный приём коллагеновых пептидов. Учитывая универсальность механизмов синтеза коллагена в различных тканях, можно предположить, что аналогичные процессы могут происходить и в дерме, где фибробласты являются основными клетками, ответственными за поддержание структуры внеклеточного матрикса.

Повышение активности ферментов, участвующих в метаболизме аминокислот и антиоксидантной защите (в частности, GGT), также указывает на адаптационные изменения, направленные на поддержание клеточного гомеостаза и снижение оксидативного стресса — одного из ключевых факторов старения кожи [8]. Усиление антиоксидантной защиты может способствовать снижению деградации коллагена и сохранению структурной целостности дермального матрикса.

С учётом представленных данных, можно рассматривать пероральный коллаген не только как источник аминокислот, но и как активный регулятор клеточных процессов, влияющий на экспрессию ферментов, вовлечённых в синтез и ремоделирование внеклеточного матрикса. Двойной механизм действия — метаболический и сигнальный — делает его перспективным инструментом для комплексной коррекции возрастных изменений кожи.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что регулярный приём пептидного коллагена SupXcellence с витамином С и экстрактом ацеролы может способствовать улучшению морфофункциональных характеристик кожи за счёт стимуляции эндогенного коллагеногенеза, повышения плотности дермы и оптимизации процессов её ремоделирования.

В контексте эстетической медицины это открывает возможности для интеграции коллагеновых пептидов в комплексные протоколы *anti-age* терапии, направленные не только на коррекцию внешних проявлений старения, но и на воздействие на его патогенетические механизмы. Пероральный коллаген может рассматриваться как

эффективное дополнение к инъекционным и аппаратным методикам, способствующее повышению их эффективности и пролонгации клинического результата.

Литература:

1. 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, Jin Hee Shin, Ae Hyang Kim, Hyun Woo Lee, Jun Il Kim, Hae Kwang Lee, *Journal of Food and Nutrition Research*. 2021, Vol. 9 No. 10, 508-515
2. Effects of Oral Collagen for Skin Anti-Aging: A Systematic Review and Meta-Analysis, Szu-Yu Pu, Ya-Li Huang, Chi-Ming Pu, Yi-No Kang, *Nutrients*, April 2023 15(2080)
3. Absorption and Urinary Excretion of Peptides after Collagen Tripeptide Ingestion in Humans, Shoko Yamamoto, Kisaburo Deguchi, Masamichi Onuma, Noriaki Numata, Yasuo Sakai *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2016 Volume 39 Issue 3, 428-434
4. Food-Derived Collagen Peptides, Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp), and Hydroxyprolyl-Glycine (Hyp-Gly) Enhance Growth of Primary Cultured Mouse Skin Fibroblast Using Fetal Bovine Serum Free from Hydroxyprolyl Peptide, Tomoko T Asai, Fumi Oikawa, Kazunobu Yoshikawa, Naoki Inoue, Kenji Sato, *International journal of molecular sciences*, 2019 Dec 28;21(1):229
5. The Sustained Effects of Bioactive Collagen Peptides on Skin Health: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Study, Yu Wang, Weixing Zhu, Wenyu Luo, Yanfeng Ma, Yue Zhou, *Journal of cosmetic dermatology*, 2025 Nov 28;24(12):e70565
6. Effect of a high-collagen peptide diet on the gut microbiota and short-chain fatty acid metabolism, Fengfeng Mei, Zhouwei Duan, Muxue Chen, Jinfeng Lu, Meihui Zhao, Laihao Li, Xuanri Shen, Guanghua Xia, Shengjun Chen, *Journal of Functional Foods*, Volume 75, December 2020
7. Collagen-derived peptides as prebiotics to improve gut health, Baojing Ren, Kaiyan Yue, Yuhao Zhang, Yu Fu, *Current Opinion in Food Science*, Volume 55, February 2024
8. Gamma Glutamyltransferase (GGT) as a Biomarkers of Atherosclerosis, *Biomarkers in Cardiovascular Disease*, pp 1–30