

Oral intake of Bioactive Collagen Peptides in the improvement of skin and hair: clinical studies by instrumental measurements

*Ingestão oral de Peptídeos Bioativos de Colágeno na Melhoria da Pele e Cabelo:
Estudos Clínicos por Medidas Instrumentais*

Patricia M. B. G. Maia Campos*, Maísa Oliveira de Melo,
Marina Mendes Fossa Shirata, Marcella Gabarra Leite

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Av. do Café S/N – CEP: 14040-903,
Monte Alegre, Ribeirão Preto, Brasil

* corresponding author / autor para correspondência: pmcampos@usp.br

Abstract

The effect of collagen peptides on various aspects of skin and hair physiology is known but needs further studies. Thus, the objective of this study was to evaluate the clinical changes in skin and hair after 90 days of treatment with oral supplementation of 5 g/day of collagen peptides. For this, 60 healthy female participants were enrolled, aged 45 to 60 years old, with the primary objective of evaluating the effect of the ingestion of a bioactive collagen peptides-based supplementation in the cutaneous microrelief, reduction of wrinkles, thickness, and echogenicity of the dermis, as well as in the mechanical properties of the hair using biophysical and skin imaging techniques. The present study showed important benefits in relevant skin visual parameters, dermis density, and hair strength with the obtained data. In addition, considering that the aging process affects the hair's mechanical resistance due to hair fiber thinner, the proposed treatment was effective for aged hair. In conclusion, the collagen peptides oral supplementation is essential not only for improving skin conditions but also for hair care once it significantly increases the mechanical hair resistance evaluated by objective measurements.

Keywords: Collagen peptides, skin aging, skin imaging techniques, hair mechanical properties, clinical study

Resumo

O efeito do uso de peptídeos de colágeno em vários aspectos da fisiologia da pele e do cabelo é conhecido, porém necessita de mais estudos. Dessa forma, o objetivo deste artigo foi avaliar as alterações clínicas na pele e cabelos após 90 dias de tratamento com suplementação oral de 5 g/dia de peptídeos de colágeno. Para isso, foram inscritas 60 participantes saudáveis do sexo feminino, com idades entre 45 e 60 anos, com o objetivo principal de avaliar o efeito da ingestão de uma suplementação à base de peptídeos de colágeno bioativos no microrrelevo cutâneo, redução de rugas, espessura e ecogenicidade da derme, bem como nas propriedades mecânicas do cabelo usando técnicas biofísicas e de imagem da pele. O presente estudo mostrou benefícios importantes em parâmetros relevantes da pele, densidade da derme e resistência do cabelo. Em conclusão, a suplementação oral com peptídeos de colágeno é importante não só para a melhora das condições da pele, mas também para o cuidado do cabelo, uma vez que aumenta significativamente a resistência mecânica do cabelo. Além disso, considerando que processo de envelhecimento afeta a resistência mecânica do cabelo devido ao afinamento da fibra capilar, o tratamento proposto foi eficaz para cabelos envelhecidos.

Palavras-chave: Peptídeos de colágeno, envelhecimento da pele, técnicas de imagem da pele, propriedades mecânicas do cabelo, estudo clínico

Introduction

To be considered a healthy individual, a few different parameters are analyzed, such as physical exercises, sleep habits, presence of addictions, and others, but one of the best-known facts regarding this subject is that overall health is closely associated with nutritional habits. A balanced diet, comprising all necessary macro- and micronutrients, is vital for preventing a myriad of diseases. This is especially true for health problems that are associated with aging, such as cardiovascular disease. In this context, the skin is the first and most apparent indicator to reflect an individual's health. Smooth, clean, and young-looking skin is perceived as a desirable attribute, so treating the signs of skin aging is an important concern for many and can be a key motivation for a healthy diet. Many micronutrients, such as Vitamin C, E, biotin, and zinc, have been associated with direct benefits for skin physiology and are used as ingredients for dietary supplements with the aim of reducing signs of skin aging (1,2).

During the aging process, the skin becomes less hydrated, losing its elasticity and firmness, along with increased pigmentation, pore size, and other structural changes in the dermis and epidermis. Furthermore, the collagen network in the dermis that provides strength and firmness to the skin becomes thinner and more fragmented (3). An increase in matrix metalloproteinase (MMP) expression accounts for accelerated collagen degradation (1,3). With a less dense and more fragmented network of collagen fibers, the embedded fibroblasts receive fewer mechanical stimuli, a key trigger for their metabolic activity. In addition, the synthesis of new extracellular matrix components from fibroblasts inherently slows down with age. Both processes prevent the degraded matrix from being adequately replaced (4). The elastic fibers of the papillary dermis lose integrity during aging and reach less far into the dermal-epidermal junction. This overall loss in elasticity, hydration, and strength leads to visual characteristics such as sagging and wrinkle formation (1,3).

Introdução

Para ser considerado um indivíduo saudável, alguns diferentes parâmetros são analisados, como realização de exercícios físicos, hábitos de sono, presença de vícios e outros, mas um dos fatos mais conhecidos nesse assunto é que a saúde geral está intimamente associada aos hábitos nutricionais. Uma dieta balanceada, composta por todos os macro e micronutrientes necessários, é fundamental para a prevenção de inúmeras doenças. Isto é especialmente relevante para problemas de saúde associados ao envelhecimento, como, por exemplo, doenças cardiovasculares. Nesse contexto, a pele é o primeiro e mais aparente indicador que irá refletir a saúde de uma pessoa. Uma pele lisa, macia e com aparência jovem é vista como desejável, portanto, o tratamento dos sinais de envelhecimento da pele é uma preocupação importante para muitos e pode ser uma motivação relevante para uma seguir uma alimentação saudável. Muitos micronutrientes, como vitamina C, E, biotina e zinco, têm sido associados a benefícios diretos para a fisiologia da pele e também são utilizados como ingredientes para suplementação alimentar com o objetivo de reduzir os sinais de envelhecimento cutâneo (1,2).

Durante o processo de envelhecimento, a pele fica menos hidratada, perdendo sua elasticidade e firmeza, juntamente com um aumento da pigmentação, tamanho dos poros e outras alterações estruturais na derme e na epiderme. Além disso, a rede de colágeno presente na derme que dá força e firmeza à pele torna-se mais fina e fragmentada (3). Além disso, um aumento na expressão de metaloproteinase de matriz (MMP) é responsável pela degradação acelerada do colágeno (1,3) e com uma rede de fibras colágenas menos densa e mais fragmentada, os fibroblastos incorporados recebem menos estímulos mecânicos, um fator chave para sua atividade metabólica. Assim, a síntese de novos componentes da matriz extracelular a partir de fibroblastos diminui inerentemente com a idade. Ambos os processos impedem que a matriz degradada seja adequadamente substituída (4). Também é importante citar que as fibras elásticas da derme papilar perdem a integridade durante o envelhecimento e atingem menos a junção dermo-epidérmica. Essa perda geral de elasticidade, hidratação e resistência leva a características visuais, como flacidez e formação de rugas (1,3).

Targeted enzymatic hydrolysis of collagen produces a natural combination of peptides with a defined mean molecular weight that carries bioactivity in supporting different biological processes that contribute to a healthy aging process. Collagen is the most abundant protein in the body, present in the extracellular matrix of all connective tissues. Thus, evidence at the preclinical and clinical levels is building up for hydrolyzed collagens to support the maintenance of the musculoskeletal system, including bones, ligaments, tendons, and joints. Collagen has a unique amino acid composition with a specifically high abundance of glycine, proline, and hydroxyproline. Upon ingestion, hydrolyzed collagen is digested into free amino acids and di- and tripeptides resistant to further hydrolysis by intracellular or serum peptidases (5). These peptides are transported across the intestinal barrier by a designated transporter, PEPT-1 (6). Hydroxyproline-containing peptides derived from hydrolyzed collagen ingestion have been identified in human serum with a peak of absorption one hour after the ingestion (7). A topic still under discussion is whether peptides longer than two or three amino acids can pass the intestinal barrier. Studies with radioactively labeled collagen-derived peptides demonstrated the efficient transport and uptake into target tissues, such as bone, cartilage, muscle, and skin (8). Astonishingly, these peptides could be detected in the skin up to 14 days after administration (9).

Hydrolyzed collagen can be extracted from different sources and tissues. Bovine collagen can be extracted from the bovine Achilles tendon using different enzymes such as alcalde, pepsin, trypsin, and collagenase produced by *Penicillium aurantiogriseum*. It is known for having antihypertensive, antioxidant, and antimicrobial activity. When obtained from bovine lung, it has antioxidant and anti-inflammatory activity. Finally, hydrolyzed collagen from the nuchal ligament of bovine can be used as a promising precursor of the angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides (10).

Collagen obtained from porcine skin is also produced and shows antioxidant, anti-aging, and skin permeation properties.

However, these two collagen sources have some limitations due to health problems such as swine flu and bovine spongiform encephalopathy. Furthermore, religious issues should also be considered. Thus, alternative sources from marine sources have been

A hidrólise enzimática direcionada do colágeno produz uma combinação natural de peptídeos com um peso molecular médio definido que carregam bioatividade no suporte a diferentes processos biológicos que contribuem para um processo de envelhecimento saudável. O colágeno é a proteína mais abundante no organismo, presente na matriz extracelular de todos os tecidos conjuntivos. Assim, evidências em nível pré-clínico e clínico da eficácia de colágenos hidrolisados para a manutenção do sistema musculoesquelético, incluindo ossos, ligamentos, tendões e articulações estão aparecendo cada vez mais na literatura científica. Além disso, o colágeno tem uma composição única de aminoácidos com uma abundância especificamente alta de glicina, prolina e hidroxiprolina. Após a ingestão, o colágeno hidrolisado é digerido em aminoácidos livres, bem como em di- e tripeptídeos que são resistentes a hidrólise adicional por peptidases intracelulares ou séricas (5). Estes peptídeos são transportados através da barreira intestinal por um transportador designado, o PEPT-1 (6). Peptídeos contendo hidroxiprolina que derivam da ingestão de colágeno hidrolisado foram identificados no soro humano com um pico de absorção em uma hora após a ingestão (7). Um tópico ainda em discussão é se peptídeos com mais de dois ou três aminoácidos são capazes de atravessar a barreira intestinal. Estudos com peptídeos derivados de colágeno marcados radioativamente demonstraram que há o transporte e absorção eficientes em tecidos-alvo, como osso, cartilagem, músculo e pele (8). Surpreendentemente, na pele a substância pôde ser detectada por até 14 dias após a administração (9).

O colágeno hidrolisado pode ser extraído de diferentes fontes e tecidos. O colágeno bovino pode ser extraído do tendão de Aquiles bovino pelo uso de diferentes enzimas como alcalde, pepsina, tripsina e collagenase produzidas por *Penicillium aurantiogriseum*. É conhecido por ter atividade anti-hipertensiva, antioxidante e antimicrobiana. Quando obtido do pulmão bovino, possui atividade antioxidante e anti-inflamatória. Finalmente, o colágeno hidrolisado do ligamento nuchal de bovinos pode ser usado como um precursor promissor dos peptídeos inibidores da enzima conversora de angiotensina I (ECA)(10).

O colágeno obtido pela pele suína é também produzido e apresenta propriedades antioxidantes, antienvelhecimento e de permeação cutânea.

Por outro lado, essas duas fontes têm algumas limitações devido a problemas de saúde como a gripe suína e a encefalopatia espongiforme bovina. Além disso, questões religiosas também devem ser

developed, especially from fish and other invertebrates such as jellyfish or sponges. They present nutraceutical effects due to their functional bioactive properties. In some cases, antioxidant and antimicrobial activity are also present (10).

The effect of hydrolyzed collagen on various aspects of skin physiology has been investigated in preclinical studies. Oral supplementation with hydrolyzed collagen inhibited the loss and the fragmentation of collagen by aging in rats, in part by inducing the expression of type I and type III collagen, as well as inhibiting MMP expression and activity (1,3). In pigs, hydrolyzed collagen intake increased collagen fibrils' density and diameter (11). Similar effects on the stimulation of collagen synthesis were observed in cultured fibroblasts isolated from UV-exposed body areas (12). UV-induced damage to the skin was hampered in mice by inhibiting inflammatory pathways (13). Further, at a cellular level, hydrolyzed collagen has been shown to promote skin fibroblasts' growth and induce fibroblast migration (7).

Several clinical studies using various designs have shown that hydrolyzed collagens effectively improve skin aging parameters. In this line, oral supplementation with hydrolyzed collagen has been reported to improve skin hydration (14-17), elasticity (14,17,18), and dermal collagen density (1,16). In addition, a randomized, controlled trial showed that hydrolyzed collagen supplementation reduced the fragmentation of the collagen network in the dermis, a key denominator of aging, indicating that the collagen network's quality was improved (17,19).

Previous studies from our research group have recently investigated the efficacy of a formulation containing 10 g of bovine collagen peptides, Vitamins A, C, E, and zinc in a Brazilian population (1). Daily supplementation over a period of 90 days demonstrated the improvement of dermal collagen density, skin elasticity, and a reduction of wrinkles and pores.

Furthermore, considering that about 65 to 95% of the hair composition is of proteins, oral supplementation with Bioactive Collagen peptides can also be used to provide benefits to hair fiber. With the aging process, there is a reduction in the quality of the collagen fibers,

consideradas. Desta forma, foram desenvolvidas fontes alternativas de fontes marinhas, especialmente de peixes e outros invertebrados como águas-vivas ou esponjas. Apresentam efeitos nutracêuticos devido às suas propriedades bioativas funcionais. Em alguns casos, atividade antioxidante e antimicrobiana também estão presentes (10).

Em estudos pré-clínicos, o efeito do colágeno hidrolisado em vários aspectos da fisiologia da pele tem sido investigado. Nestes estudos, foi notado que a suplementação oral com colágeno hidrolisado inibiu a perda e a fragmentação de colágeno pelo envelhecimento em ratos, em parte por induzir a expressão de colágeno tipo I e tipo III, além de inibir a expressão e atividade de MMP (1,3). Em suínos, a ingestão de colágeno hidrolisado resultou em um aumento da densidade e do diâmetro das fibrilas de colágeno (11). Efeitos semelhantes na estimulação da síntese de colágeno foram observados em fibroblastos cultivados de áreas isoladas do corpo expostas a radiação UV (12). Os danos à pele induzidos por raios UV foram também observados em camundongos pela inibição das vias inflamatórias (13). Além disso, a nível celular, o colágeno hidrolisado demonstrou promover o crescimento de fibroblastos da pele e induzir a migração dos mesmos (7).

Vários estudos clínicos usando diferentes modelos mostraram que os colágenos hidrolisados são eficazes para melhorar os parâmetros de envelhecimento da pele. Nesse contexto, a suplementação oral com colágeno hidrolisado tem sido relatada para melhorar a hidratação da pele (14-17), elasticidade (14,17,18) e densidade do colágeno dérmico (1,16). Além disso, um estudo randomizado e controlado mostrou que a suplementação de colágeno hidrolisado reduziu a fragmentação da rede de colágeno na derme, que é um denominador chave do envelhecimento, indicando também que a qualidade da rede de colágeno foi melhorada (17,19).

Estudos recentes do nosso grupo de pesquisa investigaram a eficácia de uma formulação contendo 10g de peptídeos de colágeno bovino, Vitaminas A, C, E e zinco em uma população brasileira (1). Neste, a suplementação diária por um período de 90 dias demonstrou a melhora da densidade do colágeno dérmico, elasticidade da pele e redução de rugas e poros.

Além disso, considerando que cerca de 65 a 95% da composição do cabelo é de proteínas, a suplementação oral com peptídeos Bioativos de Colágeno também pode ser utilizada para proporcionar benefícios à fibra capilar.

which is noticed mainly in the skin appearance. The aging process also presents an effect on the hair which can be observed as a reduction in hair diameter, which can promote the weakening of the hair fiber (20,21). This is reflected primarily as a decrease of the hair break force with the aging process and a decrease in shiny hair appearance (21). Thus, the use of collagen peptides can be used as a support to improve the quality of the skin and its appendices.

Oral supplements have been a trend in the cosmetic field to repair skin and hair appearance and structure. Thus, several studies have reported that using collagen supplementation can improve skin functions and delay aging (22). Collagen supplementation has also been reported to positively influence the nails (23). At the same time, there are no reports in the scientific literature regarding the benefits of using collagen to the hair fiber, although this product has already been used for this purpose.

The current scope of clinical research has been predominantly performed in Caucasian (European) (16,18) and Asian (Japanese) (14-17) populations. However, skin aging differs across skin types, and in addition to ethnicity, regional impacts such as the climate can be key factors that determine how the skin ages (24). The alterations in the hair fiber also differ according to ethnicity and hair type, e.g., it has been reported that curly hair presents more fragility to hair breakage than other hair types (21). Thus, the clinical investigation of the benefits of Bioactive Collagen peptides supplementation in the Brazilian population, which presents excellent diversity in its ethnicity, is a significant contribution to the scientific field.

In addition, all previously investigated products were of fish or porcine but not of bovine origin. The bovine hide is one of the most important sources of raw material to produce collagen in Brazil due to the country's huge cattle herd, making this type of product more available for Brazilian and South American women than other sources. This way, the present study has an innovative proposal, investigating the efficacy of bovine collagen peptides without the addition of different components and with a lower dose, 5 g/day, not previously studied from the bovine source, and focusing primarily on dose-dependent dermal collagen density results, wrinkles, skin roughness, and hair strength. This final parameter has not been previously evaluated in a study using collagen peptides.

Com o processo de envelhecimento há uma redução na qualidade das fibras de colágeno, o que é notado principalmente na aparência da pele, mas o processo de envelhecimento também apresenta efeito no cabelo, podendo ser observado uma redução no diâmetro do cabelo que pode promover, o enfraquecimento da fibra capilar (20,21). Isso se reflete principalmente na diminuição da força de quebra do cabelo com o processo de envelhecimento e diminuição do brilho do cabelo (21). Assim, o uso de peptídeos de colágeno pode ser usado como suporte para melhorar a qualidade da pele e seus anexos.

O uso de suplementos orais tem sido uma forte tendência na área cosmética para reparar a aparência e a estrutura da pele e do cabelo. Assim, vários estudos relataram que o uso de suplementação de colágeno pode melhorar as funções da pele e retardar o processo de envelhecimento (22). Também foi relatado que o uso de suplementação de colágeno pode ser uma influência positiva nas unhas (23). Ao mesmo tempo não há registro na literatura científica relatando os benefícios do uso do colágeno na fibra capilar, embora este produto já tenha sido utilizado para esta finalidade.

O atual corpo de pesquisa clínica tem sido predominantemente realizado em caucasianos (europeus) (16,18) e asiático (japonês) (14-17). No entanto, o envelhecimento da pele difere entre os tipos de pele e, além da etnia, impactos regionais como o clima podem ser fatores-chave para determinar como a pele envelhece (24). As alterações na fibra capilar também diferem de acordo com sua etnia e tipo de cabelo, sendo relatado que o cabelo crespo se apresenta mais frágil à quebra do que outros tipos de cabelo (21). Assim, a investigação clínica dos benefícios que a suplementação com peptídeos bioativos de colágeno na população brasileira, que apresenta grande diversidade em sua etnia, é uma grande contribuição para o campo científico.

Além disso, estudos anteriores trabalharam com colágeno de origem de peixe ou suíno, mas não de origem bovina. O couro bovino é uma das mais importantes fontes de matéria-prima para a produção de colágeno no Brasil devido ao enorme rebanho bovino no país, tornando este tipo de produto mais disponível para mulheres brasileiras e sul-americanas do que outras fontes. Desta forma, o presente estudo tem uma proposta inovadora, investigando a eficácia de peptídeos de colágeno bovino sem adição de outros componentes e com menor dose, 5 g/dia, nunca antes estudado para a versão bovina, focando principalmente nos resultados de densidade de colágeno dérmico dose-

In this context, the objective of this study was to evaluate the clinical changes in skin and hair after 90 days of treatment with oral supplementation of bioactive collagen peptides. In summary, this study has an innovative proposal since it shows the clinical efficacy of collagen peptides oral supplementation in improving skin and hair in a non-invasive way.

Materials and Methods

After the approval by the Ethics Committee in Clinical Research of the School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto/SP (CEP / FCFRP nº439 - CAAE nº 65109317.2.0000.5403), 60 healthy female participants were enrolled, aged 45 to 60 years old (mean age 53.4 ± 4.2 years old), level 3 of the Glogau Scale and Fitzpatrick phototype scale II-III. Most study participants had a small to medium percentage of white hair but used coloring procedures. The main objective was to evaluate the effect of the ingestion of a collagen-based supplementation in the cutaneous microrelief, reduction of wrinkles and thickness, and echogenicity of the dermis, as well as in the mechanical properties of the hair using biophysical and skin imaging techniques.

The study products were maltodextrin for the placebo group and bovine collagen peptides (Peptan® B, Rousselot, Amparo, Brazil) for the treatment group. The study period was 90 days, with three evaluations; one was before (baseline-T0) and the other after 45 and 90 days of treatment. Participants signed the Informed Consent Term before accepting participation in the study after a meeting to elucidate and clarify possible questions of the interested participants. All participants also received the same sunscreen (SPF 60) to use and avoid changes caused by using different products. All participants were also requested to stop using other cosmetic products for 15 days before the start of the study and during the whole treatment.

After assessing the inclusion and exclusion criteria, accepting to participate in the study, and signing the informed consent, the participants were divided into two groups: the placebo group, who ingested 5 g / day of a

dependente, rugas, pele rugosidade e força do cabelo. Este último parâmetro nunca foi avaliado antes em um estudo com peptídeos de colágeno.

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações clínicas na pele e cabelos após 90 dias de tratamento com suplementação oral de peptídeos bioativos de colágeno. Em resumo, este estudo tem uma proposta inovadora, pois mostra a eficácia clínica da suplementação oral de peptídeos de colágeno na melhora da pele e cabelos de forma não invasiva.

Material e Métodos

Após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/SP (CEP/FCFRP nº439 - CAAE nº 65109317.2.0000.5403) foram inscritas 60 participantes saudáveis do sexo feminino, com idades entre 45 e 60 anos, (média de idade $53,4 \pm 4,2$ anos), nível 3 da escala de Glogau e fototipos de Fitzpatrick II-III. A maioria dos participantes do estudo tinha uma porcentagem pequena a média de cabelos brancos, mas usavam procedimentos de coloração. sendo os principais objetivos avaliar o efeito da ingestão de uma suplementação à base de colágeno no microrrelevo cutâneo, redução de rugas e espessura e ecogenicidade da derme, bem como nas propriedades mecânicas do cabelo.

Os produtos do estudo eram compostos de maltodextrina para o grupo placebo e peptídeos de colágeno bovino (Peptan® B, Rousselot, Amparo, Brasil) para o grupo de tratamento. O período de estudo foi de 90 dias, com 3 avaliações; uma feita antes do tratamento (T0) e os demais após 45 e 90 dias de uso dos produtos. As participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes de aceitarem a participação no estudo, o que foi feito após uma reunião para elucidar e esclarecer possíveis dúvidas das participantes interessadas. Além disso, todas as participantes receberam o mesmo protetor solar (FPS 60) para usar e evitar alterações causadas pelo uso de produtos diferentes. Todos os participantes também foram solicitados a parar de usar outros produtos cosméticos por 15 dias antes do início do estudo e durante todo o tratamento.

Após avaliar os critérios de inclusão e exclusão, aceitar participar do estudo e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, as participantes foram divididas em dois grupos: grupo placebo, que ingeriu 5 g/dia de um

maltodextrin-based food, and the treatment group, who consumed 5 g / day of the oral supplementation under study. A template was standardized by the research group to ensure that the same area was analyzed after 90 days of treatment.

Hair samples of the participants of the study were collected before the beginning of the treatment (T0) and at the end (T90) to perform the characterization test. The samples were collected as close as possible to the root to evaluate the region of growth of the hair, where the alterations would be more evident. The control sample (without any treatment, T90) was kept to evaluate the hair compared to those that received the treatment after 90 days.

Biophysical and skin imaging techniques

Skin microrelief

The SELS (Surface Evaluation of the Living Skin) method is based on a graphic created of the living skin picture under special illumination. The microrelief parameters were evaluated using Visioscan® VC98 and software SELS 2000 from Courage & Khazaka Electronic GmbH (Cologne, Germany). The measurement area was $6 \times 8 \text{ mm}^2$ and the skin image was taken by a built-in CCD camera. The electronic processing and evaluation of this image were conducted according to four clinical parameters: a) Skin Smoothness (Sesm) - calculated from the average width and depth of wrinkles, b) Skin roughness (Ser) - the skin roughness parameter, calculated by the gray levels above the threshold in comparison with the entire image (reflects the 'asperity' of the skin.), c) Wrinkles (Sew) - calculated from the proportion of horizontal and vertical wrinkles and d) Wrinkle depth (Rt) (24). All measurements were made in the malar region of the face.

Measurement of the skin by high-resolution photography

The Visioface® digital photography imaging system (Courage and Khazaka, Germany) was utilized to evaluate facial skin. It consists of a cabin attached to a high-resolution digital camera (10 megapixels) and 200 white LED lights. This device is connected to research software that evaluates visible pores and wrinkles (1). The wrinkle analysis was evaluated on a 5 point scale in both the nasolabial and periorbital regions.

alimento à base de maltodextrina e o grupo tratamento que ingeriu 5 g / dia da suplementação oral em estudo. Além disso, um molde padronizado pelo grupo de pesquisa para garantir que a mesma área fosse analisada após 90 dias de tratamento.

Amostras de cabelo dos participantes do estudo foram coletadas antes do início do tratamento (T0) e ao final (T90), para realização do teste de caracterização. As amostras foram coletadas o mais próximo possível da raiz, para avaliar a região de crescimento do cabelo, onde as alterações seriam mais evidentes. A amostra controle (sem nenhum tratamento, T90) foi mantida para avaliar o cabelo em comparação com aquele que recebeu o tratamento após 90 dias.

Técnicas biofísicas e de imagem da pele

Microrrelevo da pele

Esses parâmetros foram avaliados usando Visioscan® VC98 e software SELS 2000 da Courage & Khazaka Electronic GmbH (Colônia, Alemanha). A área de medição foi de $6 \times 8 \text{ mm}^2$ e a imagem da pele foi feita por uma câmera CCD incorporada. O método SELS (*Surface Evaluation of the Living Skin*) é baseado em uma representação gráfica da pele viva sob iluminação especial, e o processamento eletrônico e avaliação desta imagem foi realizado de acordo com quatro parâmetros clínicos: a) Suavidade da pele (Sesm) - calculado a partir da largura e profundidade média das rugas, b) Rugosidade da pele (Ser) - calculado pelos níveis de cinza acima do limiar em comparação com toda a imagem (reflete a 'aspereza' da pele.), c) Rugas (Sew) - calculada a partir da proporção das rugas horizontais e verticais e d) Profundidade das rugas (Rt) (23). Todas as medidas foram feitas na região malar da face.

Medição da pele por fotografia de alta resolução

Para a avaliação da pele facial foi utilizado o sistema de imagem de fotografia digital Visioface® (Courage e Khazaka, Alemanha), composto por uma cabine acoplada a uma câmera digital de alta resolução (10 megapixels) e 200 LEDs brancos. Este aparelho está conectado a um software de pesquisa que permite a avaliação de poros e rugas visíveis (1). A análise das rugas foi feita por meio de um escore de 5 pontos tanto na região nasolabial quanto na periorbital.

Measurement of dermis echogenicity

To evaluate the dermis echogenicity, 20 MHz ultrasound equipment (Dermascan® C, Cortex Technology, Aalborg, Denmark) was chosen. It is based on the principle that the ultrasonic wave (speed of 1,580 m/s) is partially reflected by the skin structure, creating echoes of different amplitudes. To calculate the echogenicity, the number of pixels with low echogenicity is measured utilizing the image analysis software and related to the total number of pixels (1). All measurements were also taken in the malar region of the face.

Hair Characterization Studies

Tensile Test

The hair was evaluated in terms of break force and was performed using the equipment TA.XT Plus Texture Analyzer® (Stable Microsystems, Surrey UK). The analysis was performed in a room at a 20-22°C and 50-60% relative humidity (RH). The wire diameters were measured with a dynamometer, and 20 fibers of similar diameter at least 10 cm long were selected. The 20 wires were submitted individually to the rupture test in the Texturometer equipment at 55 mm distance, 10N load, and a constant rate of 300 mm/min (25).

Statistical analysis

Two-way ANOVA and Bonferroni post-test were used to evaluate the results obtained in this study. Statistical differences between placebo and collagen peptides groups were analyzed by the paired student's T-tests, which as also used for basal and T90 measurements of each parameter (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Differences were accepted as statistically significant at $p < 0.05$.

Results

Biophysical and skin imaging techniques

According to the microrelief analysis, it was possible to observe a difference in the parameters related to skin scaliness (Sesc), roughness (Ser), and smoothness (Sesm) only in the collagen peptides treatment group after 90 days of treatment. The only significant parameter was the Sesc. In the placebo group, no significant difference was noted (Figures 1 and 2). Figures 3 and 4 represent participants in each study group.

Medição da ecogenicidade da derme

Para a avaliação da ecogenicidade da derme, foi utilizado equipamento de ultrassom de 20 MHz (Dermascan® C, Cortex Technology, Aalborg, Dinamarca). A onda ultrassônica (velocidade de 1.580 m/s) é parcialmente refletida pela estrutura da pele, dando origem a ecos de diferentes amplitudes. Para calcular a ecogenicidade, o número de pixels com baixa ecogenicidade é medido por meio do software de análise de imagens e relacionado ao número total de pixels (1). Todas as medidas foram feitas também na região malar da face.

Estudos de caracterização capilar

Teste de tração

O cabelo foi avaliado em termos de força de quebra e foi realizado utilizando o equipamento TA.XT Plus Texture Analyzer® (Stable Microsystems, Surrey UK). A análise foi feita à temperatura de 20-22°C, 50-60% de umidade relativa. Os diâmetros dos fios foram medidos com um dinamômetro e foram selecionadas 20 fibras de diâmetro semelhante com pelo menos 10 cm de comprimento. Os 20 fios foram submetidos individualmente ao ensaio de ruptura no Texturômetro a 55 mm de distância, carga de 10N e taxa constante de 300 mm/min (25).

Análise estatística

Two-way ANOVA e pós-teste de Bonferroni foram usados neste estudo. As diferenças estatísticas entre os grupos placebo e peptídeos de colágeno foram verificadas por testes T de Student pareados para medições basais e T90 para cada parâmetro avaliado (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA). As diferenças foram aceitas como estatisticamente significativas em $p < 0,05$.

Resultados

Técnicas biofísicas e de imagem da pele

De acordo com a análise de microrrelevo, foi possível observar diferença nos parâmetros relacionados à descamação da pele (Sesc), rugosidade (Ser) e suavidade (Sesm) apenas no grupo de tratamento com peptídeos de colágeno após 90 dias de tratamento. O único parâmetro significativo foi o Sesc. No grupo placebo, não foi observada diferença significativa (Figuras 1 e 2). As Figuras 3 e 4 estão representando os participantes de cada grupo de estudo.

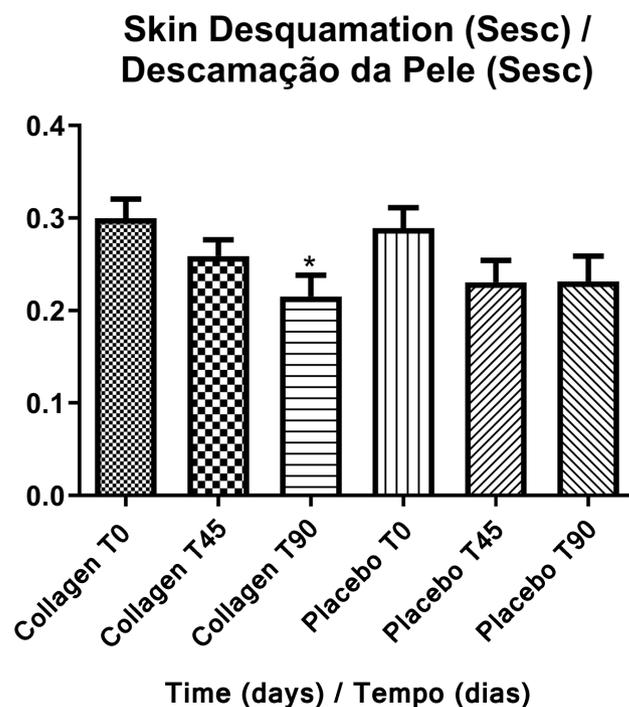


Figure 1 - Skin Scaliness (Sesc) on the malar region of the face in both study groups before (baseline) and after 45 and 90 days of treatment. * Significant difference when compared to the baseline values ($p < 0.05$).

Figura 1 - Descamação da Pele (Sesc) na região malar da face em ambos os grupos de estudo antes (basal) e após 45 e 90 dias de tratamento. * Diferença significativa em relação aos valores basais ($p < 0,05$).

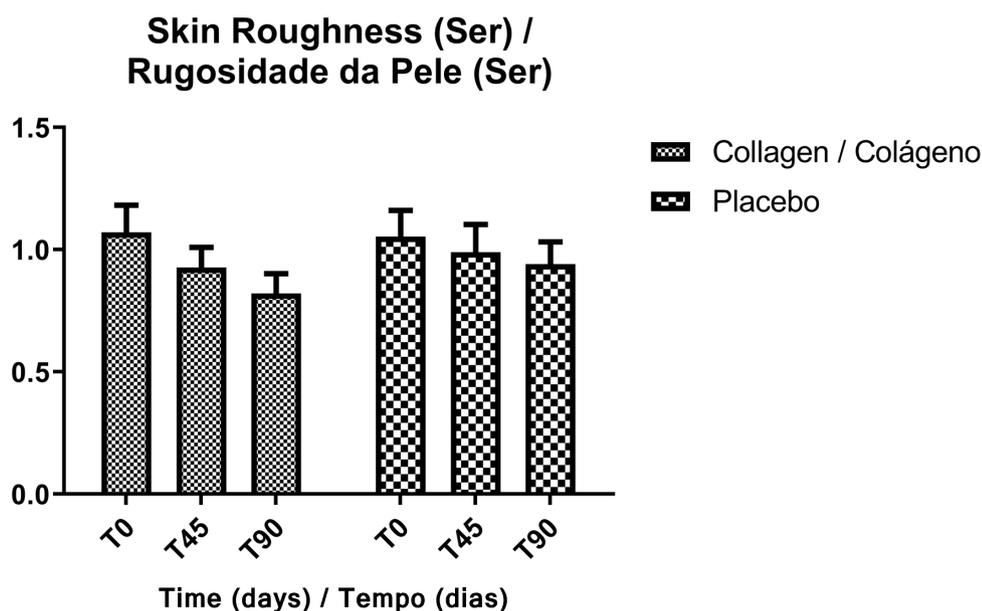


Figure 2 - Skin Roughness (Ser) on the malar region of the face in both study groups before (baseline) and after 45 and 90 days of treatment.

Figura 2 - Rugosidade da pele (Ser) na região malar da face em ambos os grupos de estudo antes (basal) e após 45 e 90 dias de tratamento.

The high-resolution images obtained allowed the analysis through the score method, which presented a significant reduction of skin wrinkles in the periorbital and nasolabial regions of the face in the collagen peptides group only (Figures 5 and 6).

The dermis echogenicity analysis showed a decrease in the dermis echogenicity ratio (number of low echogenic pixels/number of total echogenic pixels - LEP/TEP), in both groups, after the 90 treatment period.. Figure 7 shows the echogenicity difference percentage between T90 and T0. According to these results, there was a reduction in the echogenicity ratio, therefore, an increase in the dermis echogenicity in the collagen peptides group.

As imagens de alta resolução obtidas permitiram a análise pelo método de score, que apresentou redução significativa das rugas da pele nas regiões periorbital e nasolabial da face apenas no grupo que recebeu peptídeos de colágeno (Figuras 5 e 6).

A análise da ecogenicidade da derme mostrou diminuição da razão de ecogenicidade da derme (número de pixels ecogênicos baixos/número de pixels ecogênicos totais - LEP/TEP), em ambos os grupos, após 90 dias de tratamento. A Figura 7 mostra a porcentagem de diferença de ecogenicidade entre T90 e T0. De acordo com esses resultados, houve redução da razão de ecogenicidade, portanto, aumento da ecogenicidade da derme no grupo de peptídeos de colágeno.

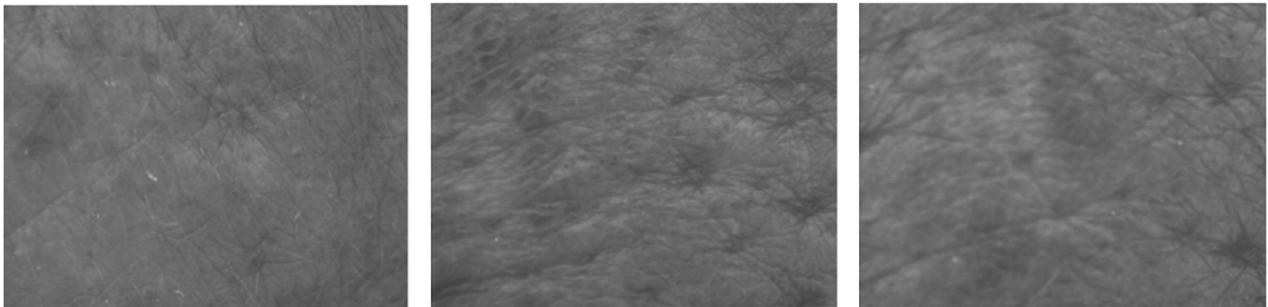


Figure 3 - Microrelief images in the malar region of a participant in the collagen group before and after 45 and 90 days of treatment.

Figura 3 - Imagens de microrrelevo na região malar de uma participante do grupo colágeno antes e após 45 e 90 dias de tratamento.

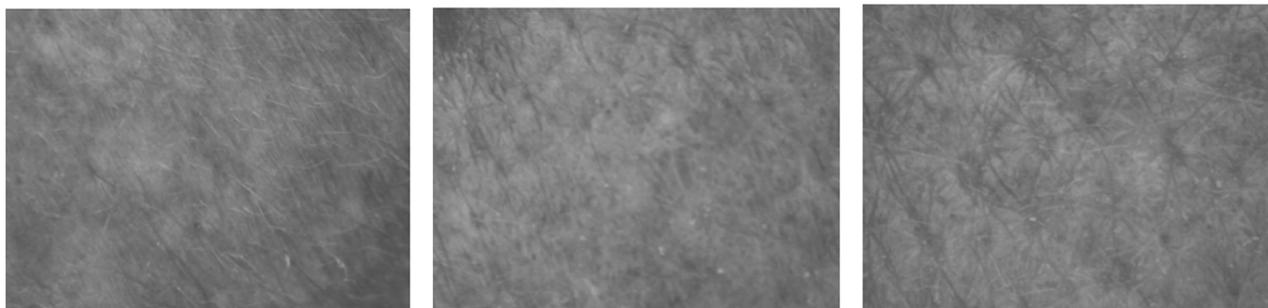


Figure 4 - Microrelief images in the malar region of a participant in the placebo group before and after 45 and 90 days of treatment.

Figura 4 - Imagens de microrrelevo na região malar de uma participante do grupo placebo antes e após 45 e 90 dias de tratamento.

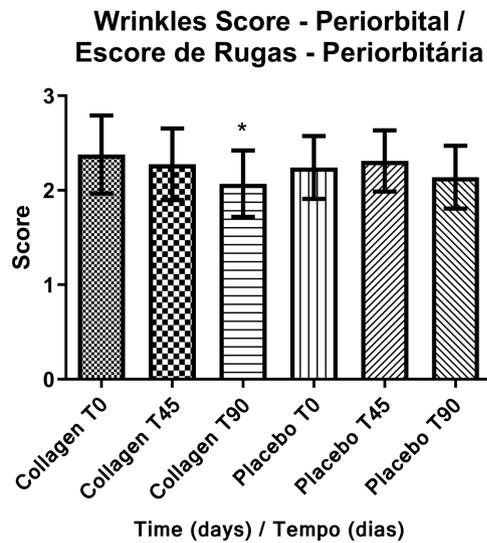


Figure 5 - Wrinkles score on the periorbital region of the face on the Collagen and Placebo groups before (baseline) and after 45 and 90 day-period of treatment. * Significant difference when compared to the baseline values ($p < 0.05$).

Figura 5 - Escore de rugas na região periorbitária da face nos grupos Colágeno e Placebo antes (basal) e após 45 e 90 dias de tratamento. * Diferença significativa em relação aos valores basais ($p < 0,05$).

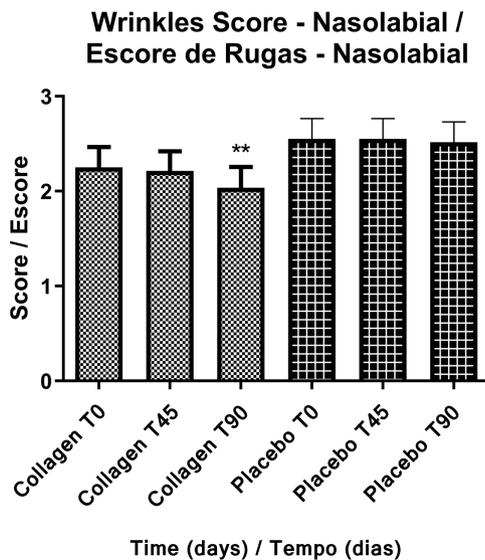


Figure 6 - Wrinkles score on the nasolabial region of the face on the Collagen and Placebo groups before (baseline) and after 45 and 90 day-period of treatment. * Significant difference when compared to the baseline values ($p < 0.05$).

Figura 6 - Escore de rugas na região nasolabial da face nos grupos Colágeno e Placebo antes (basal) e após 45 e 90 dias de tratamento. * Diferença significativa em relação aos valores basais ($p < 0,05$).

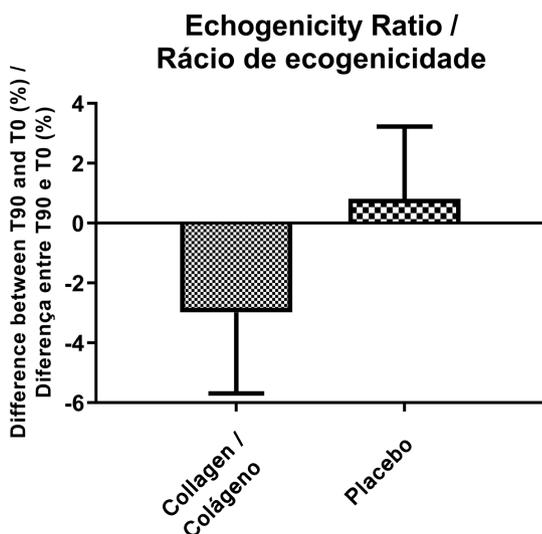


Figure 7 - Difference of dermis echogenicity between T90 and T0 in the malar region of the face of the collagen and placebo groups

Figura 7 - Diferença da ecogenicidade da derme entre T90 e T0 na região malar da face dos grupos colágeno e placebo de tratamento. * Diferença significativa em relação aos valores basais ($p < 0,05$).

Hair Characterization Studies

Tensile Test

The tensile test (Figure 8) results showed that after the treatment with collagen peptides, the break stress values increased significantly. At the same time, the break stress values of the participant’s hair in the control group were unaltered.

Discussion

Collagen is one of the most abundant proteins in the human body. It is known that collagen fibers become damaged with the aging process and consequently lose their strength, causing alterations in different structures, such as the appearance of wrinkles in the skin.

Some diets can influence the skin and hair. For example, malnutrition, like in cases of anorexia nervosa, can lead to skin changes like xerosis, hair effluvium, nail modifications, etc. (26). On the other hand, obesity can also impair skin physiology. Obese people can significantly increase transepidermal water loss, which could alter skin barrier function. It can also affect sebum production, micro and macrocirculation changes, and modify collagen metabolism.

Estudos de caracterização capilar

Teste de tração

Os resultados do teste de tração (Figura 8) mostraram que após o tratamento com peptídeos de colágeno, os valores de *Break stress* aumentaram significativamente. Ao mesmo tempo, os valores de *Break stress* dos cabelos das participantes do grupo controle não apresentaram alterações.

Discussão

O colágeno é uma das proteínas mais abundantes no corpo humano. Sabe-se que com o processo de envelhecimento, as fibras de colágeno começam a ser danificadas e, conseqüentemente, perdem sua força, causando alterações em diferentes estruturas humanas, como o aparecimento de rugas na pele.

Algumas dietas podem influenciar a pele e o cabelo. Por exemplo, a desnutrição, como a observada nos casos de anorexia nervosa, pode levar a alterações cutâneas como xerose, eflúvio capilar, alterações nas unhas, etc. (26). Por outro lado, a obesidade também pode prejudicar a fisiologia da pele. Pessoas obesas podem aumentar significativamente a perda de água transepidérmica, o que pode ser uma alteração da função de barreira da pele. Também pode afetar a produção de sebo, alterações na micro e macrocirculação e modificar o metabolismo do colágeno.

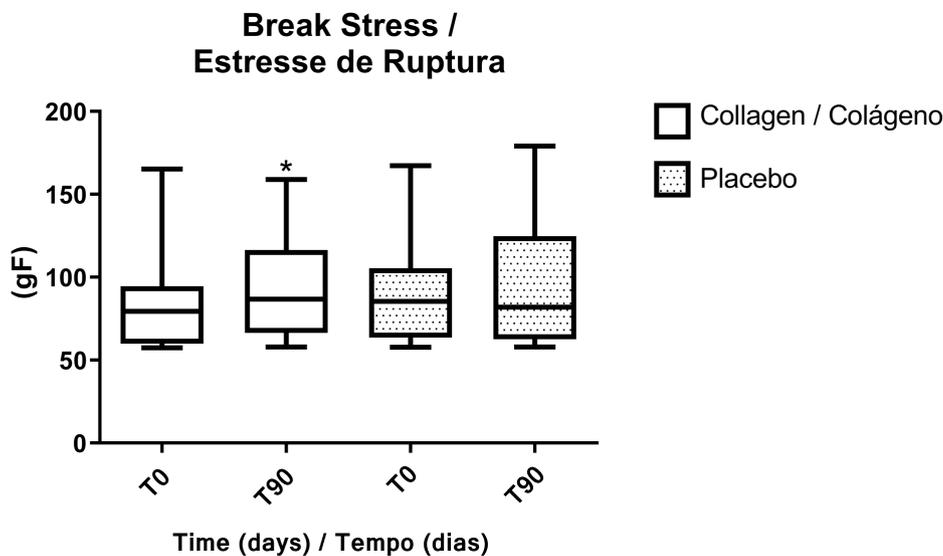


Figure 8 - Break stress of the Collagen and Control groups (***) indicates significant difference $p < 0,005$).

Figura 8 - Estresse de ruptura do cabelo nos grupos Colágeno e Controle (***) diferença significativa $p < 0,005$).

In some studies, a higher acne lesion count was correlated with the increased ratio of saturated to monounsaturated fatty acids of skin triglycerides.

An interesting study by Tanaka et al. has recently evaluated the effect of a vegetarian diet as an alternative therapy for managing Atopic dermatitis. Other studies show that it can also benefit psoriasis (26).

Furthermore, there is an association between sugar and some food processing methods (like grilling, frying, baking, etc.) with skin aging, as there are mechanisms related to advanced skin glycation end products. A high-sugar diet, ultraviolet irradiation, and eating barbecued fried foods can lead to the accumulation of AGEs and acceleration of skin aging (27).

Other studies show that strict control of blood sugar can also be significant for skin health, as four months on this diet can reduce the production of glycosylated collagen by 25%, and low-sugar food prepared by boiling can also reduce the production of AGEs (27).

There are many other effects of food on the skin, but in general reasonable, healthy, and diverse diet with antioxidant-rich foods is essential to maintaining skin health (27).

Most studies utilizing collagen peptides use a dosage of 10 g. However, the efficacy of a lower dose of the same product, without any additives as vitamins and minerals, is still to be reinforced (28). A lower dose with the same efficacy is practical to the consumer, facilitating the ingestion and creating a consumption habit with lower costs. Furthermore, with a lower dose is also easier to introduce the substance in its full dose in other finished products, creating different forms of use.

A recent systematic review and meta-analysis studies utilized a total of 1,125 patients in different studies. A comparative analysis between the placebo and the intervention group showed no difference in the means for elasticity, wrinkles, and transepidermal water loss. There was a significant difference in the dermis density, dermis thickness, and stratum corneum water content (29).

Outro ponto é que uma maior contagem de lesões de acne foi correlacionada em alguns estudos com o aumento na proporção de ácidos graxos saturados para monoinsaturados dos triglicerídeos da pele.

Um interessante estudo de Tanaka et al. recentemente avaliou o efeito de uma dieta vegetariana como terapia alternativa para o manejo da dermatite atópica. Outros estudos mostram que também pode ser benéfico para a psoríase (26).

Além disso, existe uma associação entre o açúcar e alguns métodos de processamento de alimentos (como grelhar, fritar, assar etc.) com o envelhecimento da pele, pois existem mecanismos relacionados aos produtos finais de glicação avançada da pele. Uma dieta rica em açúcar, irradiação ultravioleta e comer frituras grelhadas podem levar ao acúmulo de AGEs e aceleração do envelhecimento da pele (27).

Outros estudos mostram que o controle rigoroso do açúcar no sangue também pode ser significativo para a saúde da pele, pois quatro meses nessa dieta podem reduzir a produção de colágeno glicosilado em 25%, e alimentos com baixo teor de açúcar preparados por fervura também podem reduzir a produção de AGEs (27).

Existem muitos outros efeitos dos alimentos na pele, mas, em geral, uma dieta razoável, saudável e diversificada com alimentos ricos em antioxidantes é essencial para manter a saúde da pele (27).

A maioria dos estudos utilizando peptídeos de colágeno utiliza a dosagem de 10g. No entanto, a eficácia de uma dose menor do mesmo produto, sem quaisquer aditivos como vitaminas e minerais, ainda precisa ser reforçada (28). Uma dose menor com a mesma eficácia é prática para o consumidor, facilitando a ingestão e criando um hábito de consumo com custos menores. Além disso, com uma dose menor também é mais fácil introduzir a substância em sua dose total em outros produtos acabados, criando diferentes formas de uso.

Uma recente revisão sistemática e meta-análise utilizaram um total de 1.125 pacientes em diferentes estudos. Uma análise comparativa entre o grupo placebo e o grupo intervenção não mostrou diferença nas médias de elasticidade, rugas e perda transepidermica de água. Houve uma diferença significativa na densidade da derme, espessura da derme e teor de água do estrato córneo (29).

In our study, using specific imaging techniques, we obtained the same improvement in the dermis density, but, likely due to the different methods used, a difference in skin texture and wrinkles was also observed.

This way, the present study was developed to analyze the clinical effects of the consumption of 5 g of collagen peptides, without adding other components, to skin and hair.

The skin microrelief analysis showed an improvement in skin texture only in the collagen peptides study group. This improvement was explained due to changes in the protein turnover in the dermal layer; increasing the amount of collagen and the enhanced fibrillar network leads to better skin integrity and, consequently, improved skin texture. Previous studies also found this result with higher doses of collagen or products added with other substances (1,30). Similar studies have also noted changes in skin dryness, which is directly related to the skin desquamation parameter. Hydrolyzed Collagen ingestion is also known for improving skin hydration, which is inversely associated with the Sesc. Furthermore, changes in the dermal tissue, which is filled with fibroblasts, are stimulated by collagen peptides, producing new collagen, elastin, and hyaluronic acid (30). This shows that a lower dose of collagen containing no other components is effective in improving skin microrelief parameters. As it is more accessible to consumer ingestion, the food industry might develop products using this dose. The other parameters were not significant, likely because of the differences between participants.

High-resolution images provide many parameters in the study of clinical trials. It was possible to observe an improvement in skin wrinkles (in different regions) with the collagen treatment using score analysis. Beyond the mechanism described above, that also improved the skin microrelief efficiently absorbed collagen and can induce an increase of collagen fibers density and diameter (3). The increase in dermis density leads to a better structuration of the skin, with the improvement of the dermal-epidermal junction. These changes can be seen as fewer and more superficial skin wrinkles and pores (1,14).

Em nosso estudo, usando técnicas de imagem específicas, obtivemos a mesma melhora na densidade da derme, mas provavelmente devido aos diferentes métodos utilizados, também foi observada uma diferença na textura da pele e nas rugas.

Assim, o presente estudo foi desenvolvido para analisar os efeitos clínicos do consumo de 5 g de peptídeos de colágeno, sem adição de outros componentes, à pele e cabelo.

A análise do microrrelevo da pele mostrou melhora da textura da pele apenas no grupo de estudo de peptídeos de colágeno. Esse resultado também foi encontrado em estudos anteriores com maiores doses de colágeno ou em produtos adicionados de outras substâncias (1,30). Estudos semelhantes também observaram alterações no ressecamento da pele, que está diretamente relacionada ao parâmetro de descamação da pele e a ingestão do Colágeno Hidrolisado também é conhecida pela melhora da hidratação da pele, que está inversamente relacionada ao Sesc. Essa melhora pode ser explicada pelas alterações no turnover proteico na camada dérmica, aumentando a quantidade de colágeno e a rede fibrilar aprimorada, o que leva a uma melhor integridade da pele e consequentemente, melhora da textura da pele. Além disso, alterações no tecido dérmico, que é preenchido por fibroblastos, sofrem estimulação por peptídeos de colágeno, produzindo novo colágeno, elastina e ácido hialurônico (30). Isso mostra que uma dose menor de Colágeno sem a adição de outros componentes é eficaz na melhora dos parâmetros de microrrelevo da pele, sendo mais fácil para o consumidor a ingestão e para a indústria alimentícia que irá desenvolver produtos utilizando essa dose. Os outros parâmetros não foram significativos provavelmente devido às diferenças entre os participantes.

Imagens de alta resolução fornecem muitos parâmetros no estudo de ensaios clínicos. Foi possível observar uma melhora das rugas da pele (em diferentes regiões) com o tratamento com colágeno por meio da análise de escore. Além disso, de acordo com o mecanismo descrito acima, uma vez que também houve uma melhora no microrrelevo da pele, podemos entender que a absorção eficiente do colágeno pode induzir um aumento da densidade e do diâmetro das fibras colágenas (3). O aumento da densidade da derme leva a uma melhor estruturação da pele, com melhora da junção dermo-epidérmica, e essas alterações podem ser vistas menos e mais superficiais como rugas e poros da pele (1,14).

This increase in dermis density can be confirmed by the dermis echogenicity parameter, done by a high-frequency ultrasound, which presented an improvement after 90 days of treatment with the study product, showing quantitatively and qualitatively that this increase is present. This way, the dermis echogenicity improvement directly relates to the previous parameters in this study since they were consequences of a better dermis density. A denser dermis repairs the present skin damage from different sources, slowing the chronological aging and photoaging process. In addition, the increase of dermis density found in this study with a consumption of 5 g of collagen peptides without the addition of other components per day is also in accordance with previous studies of our research group (1) and others from the literature (16,30)

Collagen is composed of peptides of several sizes, which are degraded into biologically active di and tri peptides (30) composed of amino acids that, through different types of interactions, resulting in a more complex structure that is present in several tissues in the human body. In this context, considering that the hair fiber is also composed of a majority of proteins, mainly keratin (31), which resulted in the complexation of 20 amino acids that are also common to the collagen amino acids, so the supplementation of collagen peptides can contribute as support of amino acids for the hair fiber development in the hair bulb. After breaking the collagen molecule into less complex structures, these amino acids can contribute to the cellular development of the skin and its appendages as the hair and nails structure. The loss of proteins in the hair fiber can reduce its resistance to mechanical and chemical processes, to which women are exposed frequently (20).

The hair is an appendage from the epidermis and can be divided into two parts, the hair follicle, and the hair shaft. The hair shaft extends from the root or bulb, which is localized in the follicle passing through the epidermis, and stratum corneum and then continuing with stem (31).

Although the hair is considered a dead structure, the region of the bulb localized in the human hair follicle is considered a complex mini-organ which allows the hair to receive nutrients and proteins that are ingested in our diet. Thus, the use of collagen peptides as a dietary supplement or in cosmetic formulations can help the protein restitution on the hair fiber and increase its strength in mechanical processes.

Esse aumento da densidade da derme pode ser confirmado pelo parâmetro de ecogenicidade da derme, feito por ultrassonografia de alta frequência, onde foi notada melhora após 90 dias de tratamento com o produto em estudo, mostrando de forma quantitativa e qualitativa que esse aumento está presente. Assim, a melhora da ecogenicidade da derme mostra uma relação direta com os parâmetros anteriores neste estudo, uma vez que foram consequências de uma melhor densidade da derme. Uma derme mais densa atua reparando os danos presentes da pele de diferentes origens, retardando também o envelhecimento cronológico e o processo de fotoenvelhecimento. Além disso, o aumento da densidade da derme encontrado neste estudo com o consumo de 5 g de peptídeos de colágeno sem a adição de outros componentes por dia também estão de acordo com estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (1) e outros da atual literatura (16, 30).

O colágeno é composto de peptídeos de variados tamanhos que são degradados em di e tri peptídeos ativos biologicamente (30), os quais são compostos de aminoácidos essenciais, que por meio de ligações resultam em uma estrutura mais complexa, tal qual o colágeno, presente em diversos tecidos do corpo humano. Desta forma, considerando que a fibra capilar é composta majoritariamente da proteína queratina, (31), a qual é composta devido a complexação de 20 aminoácidos, dentre estes aminoácidos em comum com os responsáveis pela formação do colágeno, a suplementação oral de peptídeos do colágeno pode contribuir para o suporte adequado de aminoácidos para a formação da fibra capilar na região do bulbo. Após a quebra deste em estruturas mais simples, esses aminoácidos podem contribuir para o desenvolvimento celular da pele e seus apêndices tais quais os cabelos e unhas (20).

O cabelo é um apêndice da epiderme e pode ser dividido em duas partes, o folículo piloso e a haste capilar. A haste capilar se estende desde a raiz ou bulbo, que se localiza no folículo passando pela epiderme, estrato córneo e depois continuando com um vapor (31).

Embora o cabelo seja considerado uma estrutura morta, a região do bulbo localizada no folículo piloso humano, considerada um mini órgão complexo, permite que o cabelo receba nutrientes e proteínas que são ingeridos em nossa dieta. Assim, o uso de peptídeos de colágeno como suplemento alimentar ou em formulações cosméticas pode auxiliar na restituição de proteínas na fibra capilar, aumentando a sua resistência aos processos mecânicos.

The results of our study show that using collagen peptides as a dietary supplement improved hair mechanical resistance since they promoted an increase in hair fiber Break Stress. This parameter evaluates the hair's internal structure and the cortex region's strength. This increase suggests that the use of collagen peptides orally promoted the treatment of the inner region (cortex) of the hair fiber, increasing its strength of the hair fiber (32). This way, collagen oral supplementation is important not only for improving skin conditions but also for hair care once significantly an increase of the mechanical hair resistance evaluated by objective measurements is noted. In addition, considering that the aging process affects the hair's mechanical resistance due to hair fiber thinning, the proposed treatment was effective for aged hair.

In summary, the present study, conducted for the time in Brazilian woman, showed important benefits in relevant skin visual parameters, dermis density, and hair strength with a lower dose of 5 g per day of bovine collagen peptides without the addition of other components.

Finally, oral supplementation with collagen peptides is important not only for the improvement of skin conditions but also for hair care once it significantly increases the mechanical hair resistance evaluated by objective measurements. In addition, considering that the aging process affects the hair's mechanical resistance due to hair fiber thinning, the proposed treatment was effective for aged hair.

Study Limitations

The limitation of the study was the difficulty of controlling and monitoring the study participants' diet, mainly in terms of protein intake. Since the aim of the study was oral supplementation, this could be influenced by the participants' dietary habits. In addition, it was not possible to quantitatively analyze the amount of white hair in the participants.

Os resultados do nosso estudo mostram que o uso de peptídeos de colágeno como suplemento alimentar melhorou a resistência mecânica do cabelo, uma vez que promoveu um aumento do estresse de quebra da fibra capilar. Este parâmetro avalia a estrutura interna do cabelo, a força da região do córtex. Esse aumento sugere que o uso de peptídeos de colágeno por via oral, promoveu um tratamento da região interna (córtex) da fibra capilar, aumentando a resistência da fibra (32). Desta forma, a suplementação oral de colágeno é importante não só para a melhora das condições da pele, mas também para o cuidado do cabelo, uma vez que se notou um aumento significativo da resistência mecânica do cabelo avaliada por medidas objetivas. Além disso, considerando que o processo de envelhecimento afeta a resistência mecânica do cabelo devido ao afinamento da fibra capilar, o tratamento proposto foi também eficaz para cabelos envelhecidos.

Em resumo, o presente estudo mostrou benefícios importantes em parâmetros de imagem relevantes da pele, densidade da derme e força capilar, com uma dose menor de 5 g por dia de peptídeos de colágeno bovino sem a adição de outros componentes, estudado pela primeira vez em mulheres brasileiras.

Por fim, a suplementação oral com peptídeos de colágeno é importante não apenas para a melhora das condições da pele, mas também para o cuidado do cabelo, uma vez que aumenta significativamente a resistência mecânica do cabelo avaliada por medidas objetivas. Além disso, considerando que o processo de envelhecimento afeta a resistência mecânica do cabelo devido ao afinamento da fibra capilar, o tratamento proposto foi eficaz para cabelos envelhecidos.

Limitações Do Estudo

A limitação do estudo foi a dificuldade de controlar e monitorar a dieta dos participantes do estudo, principalmente em termos da ingestão de proteínas. Desde que o objetivo do estudo foi a suplementação oral, isto poderia ser influenciado pelos hábitos alimentares dos participantes. Além disso, não foi possível analisar quantitativamente a quantidade de cabelos brancos das participantes.

Author Contributions

P.M.B.G Maia Campos: Conceptualization, Funding acquisition, Formal analysis, Methods, Project administration, Research Supervision, Validation, Visualization, Writing - review & editing. M.O. Melo: Formal analysis, methods, writing the original draft, review and editing the text. M.M.F. Shirata: Formal analysis, methods, writing the original draft. M.G.Leite: Formal analysis, writing the original draft, methods.

Acknowledgments

We would like to thank FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Grant/Award Number: 2017/19278-0

Conflicts of interests

The Editor involved in the authorship of this manuscript had no participation in the review or decision process.

We confirm that no known conflicts of interest are associated with this publication. Furthermore, there has been no significant financial support for this work that could have influenced its results.

Contribuição Dos Autores

P.M.B.G Maia Campos: Conceituação, Obtenção de financiamento, Análise formal, Métodos, Administração do projeto, Supervisão da pesquisa, Validação, Visualização, Redação - revisão e edição. MO Melo: Análise formal, métodos, redação do projeto original, revisão e edição do texto. M.M.F. Shirata: Análise formal, métodos, redação do rascunho original. M.G.Leite: Análise formal, redação do rascunho original, métodos.

Agradecimentos

Agradecemos à FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Bolsa/Projeto Número: 2017/19278-0

Conflitos De Interesses

A Editora presente na autoria deste manuscrito não participou nos processos de pessoais revisão e/ou decisão.

Desejamos confirmar que não há conflitos de interesse conhecidos associados a esta publicação e não houve apoio financeiro significativo para este trabalho que possa ter seus resultados influenciados.

References / Referências

1. Maia Campos, P.M.B.G., Melo, M.O., Calixto, L. *et al.* (2015). An oral supplementation based on hydrolyzed collagen and vitamins improves skin elasticity and dermis echogenicity: a clinical placebo-controlled study. *Clinical Pharmacology & Biopharmaceutics*, 4(3), 1-6. <https://doi.org/10.4172/2167-065X.1000142>
2. Czajka, A., Kania, E. M., Genovese, L., Corbo, A., Merone, G., Luci, C., & Sibilla, S. (2018). Daily oral supplementation with collagen peptides combined with vitamins and other bioactive compounds improves skin elasticity and has a beneficial effect on joint and general wellbeing. *Nutrition Research*, 57, 97-108. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.06.001>.
3. Sibilla, S., Godfrey, M., Brewer, S., Budh-Raja, A., Genovese, L. (2015). An Overview of the Beneficial Effects of Hydrolysed Collagen as a Nutraceutical on Skin Properties: Scientific Background and Clinical Studies. *The Open Nutraceuticals Journal*, 8, 29-42. <https://doi.org/10.2174/1876396001508010029>
4. Chung, J. H., Seo, J. Y., Choi, H. R., Lee, M. K., Youn, C. S., Rhie, G., Cho, K. H., Kim, K. H., Park, K. C., & Eun, H. C. (2001). Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin in vivo. *The Journal of investigative dermatology*, 117(5), 1218-1224. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.01544.x>.
5. Liu, C., Sugita, K., Nihei, K., Yoneyama, K., & Tanaka, H. (2009). Absorption of hydroxyproline-containing peptides in vascularly perfused rat small intestine in situ. *BioScience, biotechnology, and biochemistry*, 73(8), 1741-1747. <https://doi.org/10.1271/bbb.90050>
6. Aito-Inoue, M., Lackeyram, D., Fan, M. Z., Sato, K., & Mine, Y. (2007). Transport of a tripeptide, Gly-Pro-Hyp, across the porcine intestinal brush-border membrane. *Journal of peptide science : an official publication of the European Peptide Society*, 13(7), 468-474. <https://doi.org/10.1002/psc.870>
7. Shigemura, Y., Kubomura, D., Sato, Y., & Sato, K. (2014). Dose-dependent changes in the levels of free and peptide forms of hydroxyproline in human plasma after collagen hydrolysate ingestion. *Food chemistry*, 159, 328-332. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.091>
8. Kawaguchi, T., Nanbu, P. N., & Kurokawa, M. (2012). Distribution of prolylhydroxyproline and its metabolites after oral administration in rats. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 35(3), 422-427. <https://doi.org/10.1248/bpb.35.422>
9. Watanabe-Kamiyama, M., Shimizu, M., Kamiyama, S., Taguchi, Y., Sone, H., Morimatsu, F., Shirakawa, H., Furukawa, Y., & Komai, M. (2010). Absorption and effectiveness of orally administered low molecular weight collagen hydrolysate in rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(2), 835-841. <https://doi.org/10.1021/jf9031487>.
10. León-López, A., Morales-Peñaloza, A., Martínez-Juárez, V.M., Vargas-Torres, A., Zeugolis, D.I., Aguirre-Álvarez, G. (2019) Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Molecules* 24, 4031. <https://doi.org/10.3390/molecules24224031>
11. Matsumoto, H., Ohara, H., Ito, K., Nakamura, Y., Takahashi, S. (2006) Clinical effects of fish type I collagen hydrolysate on skin properties. *ITE Letters on Batteries, New Technologies, and Medicine*, 7 (4): 386-390
12. Zague, V., do Amaral, J. B., Rezende Teixeira, P., de Oliveira Niero, E. L., Lauand, C., & Machado-Santelli, G. M. (2018). Collagen peptides modulate the metabolism of extracellular matrix by human dermal fibroblasts derived from sun-protected and sun-exposed body sites. *Cell biology international*, 42(1), 95-104. <https://doi.org/10.1002/cbin.10872>
13. Chen, T., Hou, H. (2016). Protective effect of gelatin polypeptides from Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) against UV irradiation-induced damages by inhibiting inflammation and improving transforming growth factor- β /Smad signaling pathway. *Journal of Photochemistry & Photobiology. B: Biology*, 162: 633-640.
14. Maia Campos, P.M.B.G., Franco, R.S.B., Kakuda, L., Cadioli, G.F., Costa, G.M.D., Bouvret, E. (2012). Oral Supplementation with Hydrolyzed Fish Cartilage Improves the Morphological and Structural Characteristics of the Skin: A Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Study. *Molecules*. 26 (16):4880.
15. Ohara, H., Ito, K., Iida, H., Matsumoto, H. (2009). Improvement in the moisture content of the stratum corneum following 4 weeks of collagen hydrolysate ingestion. *Food Science and Technology Research*, 56 (3): 137-145.
16. Asserin, J., Lati, E., Shioya, T., & Prawitt, J. (2015). 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*, 14(4), 291-301. <https://doi.org/10.1111/jocd.12174>
17. Inoue, N., Sugihara, F., & Wang, X. (2016). Ingestion of bioactive collagen hydrolysates enhance facial skin moisture and elasticity and reduce facial ageing signs in a randomised double-blind placebo-controlled clinical study. *Journal of the science of food and agriculture*, 96(12), 4077-4081. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7606>.
18. Proksch, E., Segger, D., Degwert, J., Schunck, M., Zague, V., & Oesser, S. (2014). Oral supplementation of specific collagen peptides has beneficial effects on human skin physiology: a double-blind, placebo-controlled study. *Skin pharmacology and physiology*, 27(1), 47-55. <https://doi.org/10.1159/000351376>
19. Aguirre-Cruz, G., León-López, A., Cruz-Gómez, V., Jiménez-Alvarado, R., & Aguirre-Álvarez, G. (2020). Collagen Hydrolysates for Skin Protection: Oral Administration and Topical Formulation. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(2), 181. <https://doi.org/10.3390/antiox9020181>
20. Avila Rodríguez, M. I., Rodríguez Barroso, L. G., & Sánchez, M. L. (2018). Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *Journal of cosmetic dermatology*, 17(1), 20-26. <https://doi.org/10.1111/jocd.12450>
21. Camacho-Bragado, G. A., Balooch, G., Dixon-Parks, F., Porter, C., & Bryant, H. (2015). Understanding breakage in curly hair. *The British journal of dermatology*, 173 Suppl 2, 10-16. <https://doi.org/10.1111/bjd.13241>
22. Aguirre, A., Gil-Quintana, E., Fenaux, M., Erdozain, S., & Sarria, I. (2017). Beneficial Effects of Oral Supplementation With Ovoderm on Human Skin Physiology: Two Pilot Studies. *Journal of dietary supplements*, 14(6), 706-714. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1310781>
23. Hexsel, D., Zague, V., Schunck, M., Siega, C., Camozzato, F. O., & Oesser, S. (2017). Oral supplementation with specific bioactive collagen peptides improves nail growth and reduces symptoms of brittle nails. *Journal of cosmetic dermatology*, 16(4), 520-526. <https://doi.org/10.1111/jocd.12393>
24. de Melo, M. O., & Maia Campos, P. M. B. G. (2018). Characterization of oily mature skin by biophysical and skin imaging techniques. *Skin research and technology : official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI)*, 24(3), 386-395. <https://doi.org/10.1111/srt.12441>
25. Velasco, M.V.R., Dias, T.C., Freitas, A.Z., Vieira, N.D., Pinto, C.A.S.O., Kaneko, T.M., Baby, A.R. (2009). Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(1): 153-162.
26. Piccardi, N., & Manissier, P. (2009). Nutrition and nutritional supplementation: Impact on skin health and beauty. *Dermato-endocrinology*, 1(5), 271-274. <https://doi.org/10.4161/derm.1.5.9706>
27. Cao, C., Xiao, Z., Wu, Y., Ge, C. (2020). Diet and Skin Aging—From the Perspective of Food Nutrition. *Nutrients*, 12, 870. <https://doi.org/10.3390/nu12030870>
28. Sangsuwan, W., & Asawanonda, P. (2021). Four-weeks daily intake of oral collagen hydrolysate results in improved skin elasticity, especially in sun-exposed areas: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Journal of dermatological treatment*, 32(8), 991-996. <https://doi.org/10.1080/09546634.2020.1725412>
29. de Miranda, R. B., Weimer, P., & Rossi, R. C. (2021). Effects of hydrolyzed collagen supplementation on skin aging: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Dermatology*, 60(12), 1449-1461. <https://doi.org/10.1111/ijd.15518>
30. Borumand, M., Sibilla, S. (2015). Effects of a nutritional supplement containing collagen peptides on skin elasticity, hydration, and wrinkles. *Journal of Medical Nutrition & Nutraceuticals*, 4(1), 47-53. <https://doi.org/10.4103/2278-019X.146161>
31. Miranda-Vilela, A. L., Botelho, A. J., & Muchlmann, L. A. (2014). An overview of chemical straightening of human hair: technical aspects, potential risks to hair fibre and health and legal issues. *International journal of cosmetic science*, 36(1), 2-11. <https://doi.org/10.1111/ics.12093>.
32. Evans, T. (2013). Measuring Hair Strength, Part I: StressStrain Curves. *Cosmetics and Toiletries*, 128(8),1-5.